

## 二国間交流事業 共同研究報告書

平成 24年 4月 13日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 近畿大学・先端技術総合研究所

職・氏名 <sup>(ふりがな)</sup> 客員教授・ <sup>くわな</sup> 桑 <sup>たかし</sup> 名 貴

1. 事業名 相手国 ( タイ ) との共同研究 振興会対応機関 ( NRCT )
2. 研究課題名 鳥類生殖幹細胞の凍結保存と個体増殖への応用

3. 全採用期間

平成21年4月1日 ~ 平成24年3月31日 ( 3 年      ヶ月 )

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 7500 千円

初年度経費 2500 千円、 2年度経費 2500 千円、 3年度経費 2500 千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 0 千円

## 5. 研究組織

### (1) 日本側参加者

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
くわな たかし 桑名 貴	近畿大学・客員教授	総括及び生殖幹細胞培養及び生殖巣キメラ 個体作製
おおぬま まなぶ 大沼 学	独立行政法人国立環境研究所 研究員	野生鳥類試料の採取に際しての検疫等による 安全確保と除染
ねあがりやすこ 根上泰子	独立行政法人国立環境研究所 ポスドクフェロー	細胞保存技術及び鳥類種間での遺伝的多様性 評価
いまざとひでお 今里栄男	独立行政法人国立環境研究所 アシスタントフェロー	細胞の培養、凍結及び遺伝的多様性評価の国 際標準化

### (2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 カセサート大学・教授・Chanin Tirawattanawanich

### (3) 相手国参加者（代表者の氏名の前に○印を付すこと）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
○Chanin Tirawattanawanich	カセサート大学・准教授（タイ）	キジ目鳥類での生殖幹細胞操作及びその凍 結保存による種保全法の開発・応用
Khongsak Thiangtum	カセサート大学・准教授（タイ）	野生希少鳥類における新興感染症の評価と その防御に関する研究
Kannika Siripattaraprat	カセサート大学・准教授（タイ）	キジ目鳥類での生殖幹細胞の遺伝子発現解 析

## 6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

本共同研究では将来的な個体増殖も視野に入れて野生生殖幹細胞保存を行い、国境を越えた生殖幹細胞保存ネットワークを構築すると共に、国際的な生殖幹細胞保存の危険分散を行う。そのために日本側とタイ側の研究機関との間で共同研究及び生殖幹細胞保存ネットワークを構築して、生殖幹細胞の採取、その後の細胞培養による増殖と、効率的な凍結保存条件に関する国際的な標準化を行う。加えて、保存生殖幹細胞を用いた希少野生鳥類個体増殖法開発に向けた基盤技術開発、将来に向けた持続的利用のために、鳥類細胞を用いたバイオテクノロジー応用分野を含めた国際共同研究開発を行う。

上記の目的達成のために本年度は、以下の通り研究を遂行した。

日本側：日本国内のキジ科（ニホンキジ、コジュケイ、ヤマドリ等）の受精卵から生殖幹細胞を採取すると同時に、これらの胚から線維芽細胞系を樹立して生殖幹細胞との共培養を行って鳥類種毎に生殖幹細胞増殖補助能力を検討・評価して実験鳥類での始原生殖細胞培養を効率的に行うための共培養用 **feeder cells** の選択を行うことができた。これらの線維芽細胞系統を大量に培養して、本研究に必要な量の **feeder** 細胞を確保することができた。これらの研究技術を移転し、タイの研究機関と共有するために日本側研究者1名が8月に3泊4日でカセサート大学を訪問して、生殖幹細胞の採取法、凍結保存法、検疫手法及び生殖巣キメラ個体作成に関する技術の国際標準化を行うと共に、シマハッカカン飼育繁殖施設を訪問して研究目的使用の打合せを行うことができた。加えて、10月には研究者1名がカセサート大学を訪問して細胞の培養、凍結及びキメラ作製技術移転と遺伝的多様性評価の国際標準化を行った。また、採取したキジ科鳥類（最初はシマハッカンを予定）の生殖幹細胞の増殖培養を行う予定であったが、タイ側研究技術の進展が予想を下回っていたために実験鳥類での実験を優先した。その結果、培養条件の誤解がもとで始原生殖細胞培養が進行しないことが判明したためにこれを修正して、タイ王国研究代表者及び若手研究者2名と共同で、ニワトリ始原生殖細胞培養条件を確立することができた。

相手国側：タイ国内のキジ科（ヤケイ属、コシアカキジ属等、及び固有鶏系統）の受精卵を収集し、生殖幹細胞をタイ側で採取した。一部の生殖幹細胞は凍結保存のまま日本側研究機関に移送して細胞培養を試みるために、タイ側研究者1名が日本側研究機関を訪問して、安全性確保のために必須となる検疫、培養法の技術標準化を行う（8月、10月）予定であったが、タイ側での研究環境整備に専念することがより効率的な研究推進に利するとの判断からこれを見送った。これに関しては、他の機会（H23年1月に日本で行われたシンポジウム）にタイ側研究者が招聘された際に詳細な打合せを行うことで当初の計画の目的を達成することができた。

上記に加えて、技術移転した鳥類細胞培養をカセサート大学の若手研究者と共に試行し、その際の問題点を抽出しつつ日本側研究機関と共同研究体制を構築できた。