

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：17701  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2020～2022  
課題番号：20K06472  
研究課題名(和文) 体細胞クローン胚への改変処理に基づく遺伝子ノックアウトマイクロミニピッグの作出  
  
研究課題名(英文) Generation of gene knockout microminipigs based on the modification process to somatic cell nuclear transfer embryos  
  
研究代表者  
三好 和睦 (Miyoshi, Kazuchika)  
  
鹿児島大学・農水産獣医学域農学系・教授  
  
研究者番号：70363611  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：エレクトロポレーション法を用いてマイクロミニピッグ体細胞クローン胚へCRISPR/Cas9関連成分を導入することにより、標的遺伝子の両アレルが破壊されている胚盤胞を効率的に作出し得ることを明らかにした。また、トランスポザーゼmRNAとトランスポゾンDNAをブタ単為発生卵の細胞質に注入することにより、遺伝子導入胚盤胞を作出し得ることを示した。さらに、新規凍害保護剤を用いたブタ生殖細胞の凍結保存技術を確立することに成功した。以上の成果は、遺伝子改変マイクロミニピッグの生産に貢献すると思われる。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

ブタは、解剖学的・生理学的にヒトとの類似点が多いので、目的に応じて遺伝子を改変すればヒト疾患モデル動物として有用である。しかし、食用ブタやミニブタの飼育管理には広いスペースや多大な労力・コストが必要となるので、利用できる施設は限られてしまう。一方、マイクロミニピッグであれば、成体重が10kg以下なので多くの施設で利用できる。本研究の成果は、標的遺伝子を破壊あるいは外来遺伝子を導入したマイクロミニピッグの作出につながる。その結果、多くの施設で利用可能なヒト疾患モデル動物を生産できるようになり、それを用いて医薬品の開発や病気治療法の確立が進むので、我が国の医学の発展に大きく寄与すると思われる。

研究成果の概要(英文)：We have shown that introducing CRISPR/Cas9-based genome editing components into microminipig somatic cell nuclear transfer embryos using electroporation can efficiently produce blastocysts in which both alleles of the target gene have been disrupted. It was also shown that transgenic blastocysts can be produced by injecting transposase mRNA and transposon DNA into the cytoplasm of porcine parthenogenetically activated oocytes. Furthermore, we succeeded in establishing a technique for cryopreservation of porcine germ cells using a novel cryoprotectant. These results will contribute to the production of genetically modified microminipigs.

研究分野：発生工学

キーワード：体細胞核移植 エレクトロポレーション マイクロミニピッグ 凍結保存 生殖細胞

## 1. 研究開始当初の背景

現在、医学の研究に最も多く利用されている実験動物はマウスである。これまでに、特定の遺伝子をノックアウト (KO) することにより種々のヒト疾患モデルマウスが作出されてきた。これらのモデル動物は病気の発症メカニズムを解明するような研究には有用であったが、マウスとヒトは解剖学的・生理学的に違いが大きいため、医薬品の開発や病気治療法の確立を目指した研究への利用には限界があった。そのため、解剖学的・生理学的にヒトに近い豚に、食用家畜なので実験動物として使用することへの抵抗性も低いブタの利用が注目されるようになった。しかし、一般的な食用ブタの成体重は 200~300kg に達する。また、種々のミニブタが開発されているものの、それらでも成体重は 50~100kg 程度になる。よって、飼育管理に広いスペースや多大な労力・コストが必要となるので、これまでマウスを用いていた研究室がブタを導入することは極めて困難であった。しかし近年、富士マイクラ株式会社によって、成体重が 10kg 程度である世界最小サイズのミニブタ (マイクロミニピッグ: MMpig) が開発された。このサイズであればマウス用の飼育室で飼うことも可能なため、ヒト疾患モデル MMpig を作出すれば、多くの研究室で医薬品の開発や病気治療法の確立に利用できるようになるとと思われる。

ヒト疾患モデル動物として利用するためには、MMpig の遺伝子を目的に応じて KO する技術が不可欠となる。現時点で遺伝子 KO MMpig を得る最も現実的な方法は、標的遺伝子を KO した体細胞の核を除核した成熟卵に移植してクローン動物を作出することである。一方、最近になって食用ブタ体外受精卵にエレクトロポレーション (EP) 法を用いて直接 CRISPR/Cas9 関連成分を導入することにより、遺伝子 KO 動物の作出に成功したことが報告された。同法を遺伝子 KO MMpig の作出に応用できれば極めて有用であるが、MMpig においては、食用ブタのように食肉センター由来卵巣から回収した卵子を体外受精に供して、材料として必要な多数の受精卵を準備することができない。そこで研究代表者らは、体細胞クローニング技術を用いれば食肉センター由来卵巣から回収した食用ブタ卵子から多数の MMpig 胚を作出し得るので、この問題を解決できるのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

多くの研究室で飼育可能なサイズのブタである MMpig を用いてヒト疾患モデル動物を作出すれば、医薬品や病気治療法の開発を通して我が国の医学の発展に大きく寄与すると考えられる。そこで研究代表者らは、遺伝子 KO MMpig を作出し得る技術の確立を目指した研究を開始した。標的遺伝子の KO は相同遺伝子組換えによって誘導されるが、当該現象が起こる確率は極めて低いため、直接受精卵に処理を施すことは不可能であった。よって、体外で増殖するので大量に取得できる体細胞に相同遺伝子組換え処理を施し、その中から遺伝子 KO された体細胞を選んで再度増殖させた後、除核した成熟卵に移植してクローン動物を作出する方法が用いられてきた。そのような背景から、研究代表者らはまず MMpig における体細胞クローニング技術の確立に取り組んだ結果、体細胞クローン MMpig を作出することに世界で初めて成功した。そこで、この技術に応用して遺伝子 KO MMpig を作出するために遺伝子 KO 体細胞株の樹立に取り組んだが、体細胞クローン MMpig の作出に成功した胎児線維芽細胞株では標的遺伝子を KO することができなかつたため、研究が停滞した。そのような状況の時に、「CRISPR/Cas9 関連成分を体外受精卵に EP 法を用いて直接導入することによる遺伝子 KO 食用ブタの作出」が報告された。同法を遺伝子 KO MMpig 作出に応用するには、「受精卵の確保」が最大の課題となる。MMpig では、食用ブタのように食肉センター由来卵巣から回収した卵子を利用できないので、体内受精卵を採取して実験に供するしかない。しかし、MMpig の排卵数は少ないため、1 頭から多数の受精卵を得ることは難しい。実際に研究代表者らが試みたところ、4 頭の MMpig から採取できた受精卵はわずか 19 個であった。MMpig が 1 頭約 20 万円もすることを考えると、大量の受精卵を安定的に供給し得る他の手段の導入が必要不可欠である。食肉センター由来卵巣から回収した食用ブタ卵子に体細胞クローニング技術を適用すれば、多数の MMpig 胚を作出することが可能となる。そこで本研究では、それらの体細胞クローン胚に EP 法を用いて直接 CRISPR/Cas9 関連成分を導入することにより、遺伝子 KO MMpig の作出を試みた。

## 3. 研究の方法

### (1) 体細胞クローン胚の作出

食肉センター由来の食用ブタ卵巣から卵丘卵子複合体を吸引採取し、40~41 時間成熟培養した。成熟培養後、ヒアルロニダーゼ溶液中で卵丘細胞を除去し、第 1 極体の放出が確認された形態的に正常な卵子のみを選抜した。それらの卵子を吸引除去法により除核後、囲卵腔に MMpig 胎児線維芽細胞を挿入し、電気刺激による融合処理を行った。融合処理 2 時間後に、直流パルスを加えることによって融合胚を活性化処理した。活性化処理後の融合胚は、第 2 極体様構造物の放出を抑制するために、サイトカラシン B で 2 時間処理した。

### (2) 単為発生卵の作出

前述のように採取した卵丘卵子複合体を 48 時間成熟培養後、周囲の卵丘細胞を除去した。第 1 極体を放出した卵子のみを選抜し、直流パルスを印加することによって活性化処理した。活性化処理後の卵子は、第 2 極体の放出を抑制するために、サイトカラシン B で 2 時間処理した。

### (3) 体外受精卵の作出

前述のように採取した卵丘卵子複合体を 36~38 時間成熟培養後、周囲の卵丘細胞を除去した卵子を受精用培地に移した。凍結保存精子を融解して受精用培地に懸濁後、一部を卵子が入った培地に移すことにより媒精した(最終精子濃度:  $7.0 \times 10^6$  匹/ml)。媒精 12 時間後に受精用培地から卵子を取り出し、周囲に付着した精子を除去した。一部の卵子は固定・染色し、精子の侵入状況および前核の形成状況について確認した。

### (4) 体外培養

体細胞クローン胚、単為発生卵および体外受精卵を発生用培地に移し、培養を継続した。2 日後に卵割状況、7 日後に胚盤胞形成状況について確認した。得られた胚盤胞をヘキスト 33342 で染色し、質的評価の指標となる細胞数を測定した。

### (5) 精子の凍結および融解

採取したブタ精液を 2~4 倍に希釈し、25℃ の条件下で研究室に運んだ。遠心処理後に上清を除去し、精子をモテナ液に懸濁して 15℃ まで冷却した。精子を一次希釈液に再懸濁してさらに 5℃ まで冷却した後、二次希釈液を等量添加した(最終精子濃度は  $10.0 \times 10^8$  匹/ml)。グリセリン平衡後の希釈液を 0.5ml ずつ保存用ストローに充填し、液体窒素中に移して保存した。

### (6) 胚盤胞、体外受精卵および体細胞クローン胚の凍結および融解

各胚を第 1 平衡液および第 2 平衡液でそれぞれ 5 分間平衡後、凍結液で 1 分間処理した。処理後の胚をクライオトップの先端に並べた後、液体窒素に浸漬して保存した。保存後、液体窒素から取り出したクライオトップの先端を融解液に浸漬し、離脱した胚を融解液および発生用培地でそれぞれ 3 分間平衡した。

なお、当初は一部の体細胞クローン胚を発情同期化した MMpig 仮親の卵管に外科的移植することにより、体内発生能についても調べる予定であった。しかし、平成 30 年に国内で 26 年ぶりに発生した豚熱の影響により、仮親として使用する MMpig を購入することが不可能となったため、断念した。

### (7) 各実験の概要

#### 実験 1: MMpig 体細胞クローン胚の発生能力の改善

本研究の成功には、高い発生能力を持つ MMpig 体細胞クローン胚を作出する技術が不可欠である。これまでに、種々の動物種においてヒストン脱アセチル化酵素阻害剤による体細胞クローン胚の発生改善が報告されており、研究代表者らもそのような阻害剤の一つであるバルプロ酸が MMpig 体細胞クローン胚の発生を改善することを明らかにしている。最近、ヒストン H3K4 および H3K9 のメチル化が体細胞クローニング効率を引き下げる一因となっていることが報告された。よって、それを阻止することによりさらなる発生の改善を試みるため、ヒストン H3K4 および H3K9 のメチル化阻害剤である MM-102 および BIX01294 による処理が、体細胞クローン胚の発生に及ぼす影響について調べた。活性化処理後の体細胞クローン胚を種々の濃度の MM-102 あるいは BIX01294 を添加した発生用培地で 24 時間培養後、メチル化阻害剤無添加の培地に移して培養を継続した。

#### 実験 2: CRISPR/Cas9 関連成分を導入した MMpig 体細胞クローン胚の遺伝子変異状況

体細胞クローン胚に EP 法を用いて直接 CRISPR/Cas9 関連成分を導入することにより遺伝子 KO 動物を作出する際には、得られる動物において標的遺伝子の両アレルが破壊されている (bi-allelic KO) か否かが重要となる。もし一方のアレルしか破壊されていなければ、そのような動物同士を交配させて bi-allelic KO 動物を作出しなければならないため、多大な時間、費用および労力が必要となる。そこで、ブタ単為発生卵に EP 法を用いて  $\beta$ -ガラクトシルトランスフェラーゼ遺伝子 ( $\beta$ -GalT) に対応する CRISPR/Cas9 関連成分を導入し、それらに由来する胚盤胞における  $\beta$ -GalT の変異状況を調べた。さらに、MMpig 体細胞クローン胚に EP 法を用いて低比重リポタンパク質レセプター遺伝子 (LDLR) に対応する CRISPR/Cas9 関連成分を導入し、それらに由来する胚盤胞における LDLR の変異状況を調べた。

#### 実験 3: piggyBac システムによるブタ遺伝子導入 (TG) 胚盤胞の作出

実験 2 の結果から、MMpig 体細胞クローン胚に EP 法を用いて CRISPR/Cas9 関連成分を導入することにより、効率的に bi-allelic KO 胚盤胞を作出し得ることが示されたが、前述したようにそれらを仮親に移植することはできなかった。代わりに TG ブタを効率的に生産するシステムを確立するために、piggyBac システムの有効性について検討した。TG 動物の多くはプラスミド DNA

を受精卵の前核に注入することにより作出されてきたが、ブタの受精卵は多くの脂質を含んでいるため前核を目視できない。よって、トランスポザーゼ mRNA とトランスポゾン DNA を細胞質に注入することにより、TG 胚盤胞を作出し得るか検討した。

#### 実験 4：新規凍害保護剤を用いたブタ精子の凍結保存

前述したように、豚熱の影響により作製した体細胞クローン胚をすぐには仮親に移植できない状況が続いた。この問題を解決する方法の一つは、体細胞クローン胚を凍結保存しておき、仮親が準備できた時に融解して移植することであるが、ブタ生殖細胞の凍結保存技術は未だに確立されていない。そこで、新規凍害保護剤である carboxylated poly-L-lysine (CPLL) や 3,3-dimethylglutaric anhydride poly-L-lysine (DMGA-PLL) を用いたブタ生殖細胞凍結保存技術の確立を試みた。本実験では、入手が容易であるブタ精子を用いて CPLL および DMGA-PLL の影響を調べた。

#### 実験 5：新規凍害保護剤を用いたブタ胚盤胞の凍結保存

実験 4 の結果から、ブタ精子の凍結保存における CPLL および DMGA-PLL の有用性が示された。そこで本実験では、胚の中では比較的耐凍性が高いとされている胚盤胞を用いて CPLL および DMGA-PLL の影響を調べた。体外受精卵を 6 日間体外培養することにより得られた初期胚盤胞および拡張胚盤胞を凍結し、融解後の生存性を比較した。

#### 実験 6：新規凍害保護剤を用いたブタ体外受精卵および MMpig 体細胞クローン胚の凍結保存

実験 5 の結果から、CPLL および DMGA-PLL はどちらもブタ胚盤胞の耐凍性を改善するが、前者より後者の方がより優れた凍害保護作用を有することが示された。そこで本実験では、ブタ体外受精卵および MMpig 体細胞クローン胚の凍結保存に及ぼす DMGA-PLL の影響について調べた。体外受精卵においては、遠心処理により細胞質に含まれる脂質を偏在させて前核を可視化した後、2 つの前核を有するものを選出し、実験に供した。

## 4. 研究成果

(1) 実験 1：体細胞クローン胚を 0、50、75、100 および 150 $\mu$ M の MM-102 で処理した結果、異なった濃度間で卵割率、胚盤胞形成率および胚盤胞細胞数に有意な差は見られなかった。同様に、0、1、5、25、50 および 500nM の BIX01294 で処理した場合にも、異なった濃度間で卵割率、胚盤胞形成率および胚盤胞細胞数に有意な差は見られなかった。

以上の結果から、メチル化阻害剤による処理は MMpig 体細胞クローン胚の発生能力を改善しないことが示唆された。

(2) 実験 2：-GalT に対応する CRISPR/Cas9 関連成分を含む Opti-MEM 中に活性化処理 6 時間後の単為発生卵を移し、1msec ON/99msec OFF (1msec の間印加した後に 99msec の印加しない時間を設ける) の条件下で 30V/mm の電気パルスを 4 あるいは 7 回印加した場合、30~38% の卵子が胚盤胞にまで発生した。それらの胚盤胞における -GalT の変異状況を調べた結果、66% が bi-allelic KO であることが示された。さらに、活性化処理 6 あるいは 12 時間後の体細胞クローン胚を LDLR に対応する CRISPR/Cas9 関連成分を含む Opti-MEM 中に移し、0.5msec ON/99.5msec OFF あるいは 1msec ON/99msec OFF の条件下で 30V/mm の電気パルスを 7 回印加した場合、8.3~16.7% の胚が胚盤胞にまで発生した。得られた胚盤胞における LDLR の変異状況を調べた結果、82% が bi-allelic KO であった。

以上の結果から、体細胞クローン胚に EP 法を用いて CRISPR/Cas9 関連成分を導入することにより、bi-allelic KO MMpig を効率的に作出し得ることが示唆された。

(3) 実験 3：活性化処理 6 時間後の単為発生卵の細胞質にトランスポザーゼ mRNA と緑色蛍光タンパク質の cDNA を挿入したトランスポゾン DNA を含む 2 $\mu$ l の Opti-MEM を注入した結果、15.7% の卵子が培養 7 日後に桑実期胚 / 胚盤胞に発生した。緑色蛍光を発する 4 個の胚盤胞のゲノム DNA を解析した結果、2 個 (50%) において染色体への外来遺伝子の組み込みが認められた。

以上の結果から、トランスポザーゼ mRNA とトランスポゾン DNA をブタ単為発生卵の細胞質に注入することにより、TG 胚盤胞を作出し得ることを明らかにした。

(4) 実験 4：希釈液に 0.25% の CPLL を添加することにより、無添加区と比較して融解 6~12 時間後の精子運動性が向上した。同処理は精子の体外受精能には影響を及ぼさなかったが、凍結融解精子を用いて作出した体外受精卵の胚盤胞形成率を改善した。しかし、0.25% の CPLL を添加した希釈液中で凍結保存した精子を人工授精した雌ブタの一腹産子数は、冷蔵保存した精子を用いた場合と比較して低下した。一方、希釈液に 0.25% の DMGA-PLL を添加した場合も、無添加区と比較して融解 12 時間後の精子運動性が向上した。同処理は精子の体外受精能には影響を及ぼさなかったが、凍結融解精子を用いて作出した体外受精卵の胚盤胞形成率を改善した。さらに、希釈液に 0.25% の DMGA-PLL を添加することにより、凍結保存精子を人工授精した雌ブタの一腹産子数が冷蔵保存精子を用いた場合と同等にまで改善された。

以上の結果から、希釈液に DMGA-PLL を添加することにより、ブタ精子の耐凍性を改善し得る

ことが示された。

(5) 実験5：凍結液に10%のCPLLを添加した区では、初期胚盤胞における2日後および拡張胚盤胞における1日後の生存率が無添加区より高くなった。10%のDMGA-PLLを添加した場合にも、拡張胚盤胞における2日後の生存率が無添加区と比較して高くなった。10%のCPLLおよびDMGA-PLLの影響を比較した結果、いずれの区においても初期胚盤胞および拡張胚盤胞における1日後の生存率は無添加区より高くなったが、2日後の生存率は10%のDMGA-PLLを添加した場合にのみ改善された。

以上の結果から、CPLLおよびDMGA-PLLはブタ胚盤胞の耐凍性を改善し得ることが明らかになった。

(6) 実験6：体外受精卵の場合、凍結液に10あるいは20%のDMGA-PLLを添加しても融解後の生存率に影響は見られなかった。しかし、10%のDMGA-PLLを添加した区では、融解後の卵割率および胚盤胞形成率が無添加区より高くなった。一方、体細胞クローン胚の場合は、凍結液への10%DMGA-PLLの添加は、融解後の生存率、卵割率、胚盤胞形成率および胚盤胞細胞数に影響を及ぼさなかった。

以上の結果から、DMGA-PLLはブタ体外受精卵の耐凍性を改善し得ることが明らかになった。また、DMGA-PLLはMMpig体細胞クローン胚の耐凍性には影響を及ぼさないことが示唆された。

本研究では、豚熱の影響で仮親への移植を断念したため、当初の目的であった遺伝子KO MMpigの作出を達成することはできなかったが、MMpig体細胞クローン胚にEP法を用いて直接CRISPR/Cas9関連成分を導入することにより、bi-allelic KO胚盤胞を効率的に作出し得ることが明らかにされた。今後、豚熱が収束すれば、本研究で確立された方法を用いて標的遺伝子をKOした体細胞クローン胚を仮親に移植することにより、遺伝子KO MMpigを作出できるようになると思われる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Miyagasako Rico, Jin Hansol, Watanabe Satoshi, Miyoshi Kazuchika, Inada Emi, Sato Masahiro	4. 巻 6
2. 論文標題 Cytoplasmic microinjection of piggyBac transposase mRNA and transposon vectors for efficient in vitro production of transgenic porcine parthenotes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 OBM Genetics	6. 最初と最後の頁 166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21926/obm.genet.2203166	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Jin Hansol, Choi Wooyoon, Matsumura Kazuaki, Hyon Suong-hyu, Gen Yuki, Hayashi Masakazu, Kawabata Tadahiro, Ijiri Moe, Miyoshi Kazuchika	4. 巻 68
2. 論文標題 Cryopreservation of pig spermatozoa using carboxylated poly-L-lysine as cryoprotectant	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Reproduction and Development	6. 最初と最後の頁 312 - 317
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1262/jrd.2022-058	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Jin Hansol, Choi Wooyoon, Matsumura Kazuaki, Hyon Suong-hyu, Gen Yuki, Hayashi Masakazu, Kawabata Tadahiro, Ijiri Moe, Miyoshi Kazuchika	4. 巻 94
2. 論文標題 Improved fertility of frozen-thawed porcine spermatozoa with 3,3-dimethylglutaric anhydride poly-L-lysine as a novel cryoprotectant	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 e13821
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/asj.13821	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sato Masahiro, Jin Hansol, Akasaka Eri, Miyoshi Kazuchika	4. 巻 5
2. 論文標題 In vitro electroporation in the presence of CRISPR/Cas9 reagents as a safe and effective method for producing biallelic knock-out porcine embryos	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 OBM Genetics	6. 最初と最後の頁 123
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21926/obm.genet.2101123	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hansol Jin, 井尻萌, 三好和睦
2. 発表標題 Carboxylated poly-L-lysineおよび3,3-Dimethylglutaric anhydride poly-L-lysineがブタ胚盤胞の耐凍性に及ぼす影響
3. 学会等名 第15回日本暖地畜産学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ブタ生殖細胞の凍結保存液及び凍結保存方法	発明者 三好和睦, 井尻萌, 玄丞然, 玄優基	権利者 株式会社バイオ ベルデ
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-082490	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

鹿児島大学農学部農業生産科学科畜産科学コース家畜繁殖学研究室ホームページ <a href="http://ace1.agri.kagoshima-u.ac.jp/agri0015/">http://ace1.agri.kagoshima-u.ac.jp/agri0015/</a>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐藤 正宏  (SATO Masahiro)  (30287099)	鹿児島大学・総合科学域総合研究学系・教授   (17701)	
研究分担者	川口 博明  (KAWAGUCHI Hiroaki)  (60325777)	鹿児島大学・医歯学域医学系・准教授   (17701)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	井尻 萌  (IJIRI Moe)  (20836233)	鹿児島大学・農水産獣医学域獣医学系・助教     (17701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関