

動物園動物由来組織を用いた保存研究 ～動物園・水族館との知の共有に向けて～

安齋 政 幸^{1,2}、東 里 香²、久 保 盛 恵³、野々上 範 之³、
高 見 一 利⁴、宮 下 実⁵、村 井 仁 志⁶、永 井 宏 平^{2,7}、
小 橋 朱 里⁷、折 杉 卓 哉⁷、細 井 美 彦^{1,2,7}

要 旨

現在、自然環境の悪化や乱獲などにより、かつてないスピードで種の絶滅が進んでいる。さらに、国内の動物園や水族館施設では、大小を問わず約 6,000 種を超える動物が飼育されるに至っているが、多くの動物種ではヒトと同様にこれから迎える高齢化と繁殖効率の低下が深刻な問題の一つとされている。我々は、この貴重な動物種の遺伝資源の保存の一つとして、生殖細胞のみならず動物組織を用いた保存方法を検討している。この調査報告では、これまで実施している動物筋肉組織から得られる遺伝資源の保存の可能性について、我々の試みを紹介する。

キーワード：線維芽細胞、配偶子、遺伝資源保存、筋肉組織、プロテオーム解析、体細胞核移植

1. 種の多様性と遺伝資源保存技術

今日、人類と動植物を含めた生息の基盤である地球の環境は、多様な種の進化をもたらし、広域な生態系を構築している。人間はこの恩恵としてこれまで社会的活動や文化的活動などによって生活の質の向上が進む一方で、活動範囲の拡大がもたらす野生動植物の権利に制約と制限がかつてないスピードで進行しており、動植物資源の衰退と地球環境の悪化が懸念されている⁽¹⁾。国際自然保護連合 (IUCN) は、既存の哺乳類では約 5,500 種のうち 1,200 種が絶滅の危機に瀕していると報告した (図 1)。そのため、現存する動物から遺伝形質の変化や繁殖効率の変化を損なわせることなく積極的に遺伝資源を保存することが、将来にわたる生態と環境さらには個体の生理と進化を探索する上で非常に重要であると考えられている⁽²⁾。一方、本邦における動物園 89 園、水族館 62 施設が「(公社) 動物園水族館協会」へ加盟しており、「種の保存」「教育・環境教育」「調査・研究」「レクリエーション」の 4 つの役割を目標として、来場者の期待を支える機関として多くの動物種および個体群が管理されている⁽³⁾。特に 2012 年より新たに導入された JAZA Collection Plan (JCP) では、動物園水族館協会の有機的な連携のもと、動物の繁殖と遺伝資源の保存に日本の動物園と水族館が一丸となって、繁殖の効率化に伴う動物の収集や繁殖スペースの改善、獣医療施設の拡充などの取り組みが開始されている。さらに、適正な施設整備およびその能力を有する動物園等を認定する制度の創設等を環境省は検討しており、「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律 (種の保存法)」の改正が進むと思われる。

原稿受付 2017 年 1 月 12 日

1. 近畿大学先端技術総合研究所 〒642-0017 和歌山県海南市南赤坂 14-1
2. 近畿大学大学院 生物理工学研究科生物工学専攻 〒649-6493 和歌山県紀の川市西三谷 930
3. 広島市安佐動物公園 〒731-3355 広島県広島市安佐北区安佐町大字動物園
4. 大阪市天王寺動物公園事務所 〒543-0063 大阪府大阪市天王寺区茶白山町 1-108
5. (公財) 宇部市常盤動物園協会 宇部市ときわ動物園 〒755-0003 山口県宇部市則貞 3-4-1
6. 富山市ファミリーパーク 〒930-0151 富山県富山市古沢 254
7. 近畿大学生物理工学部遺伝子工学科 〒649-6493 和歌山県紀の川市西三谷 930

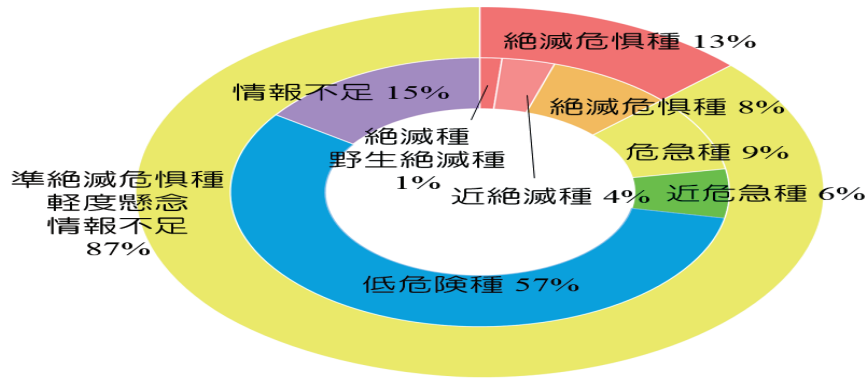


図1. 絶滅危惧種の割合

(IUCN Red List of Threatened Species, Version 2015.2.)

遺伝資源の保存方法としては、元来、野生動物の生息域内での生息数の確保といった域内保全が望ましい (図 2, 3)。しかしながら、本邦においては住民の生活への配慮などの観点から、生息地を指定・保護することが難しいのが現状である⁽⁴⁾。生息地での保存が困難な場合には、動物園や水族館などの飼育下繁殖施設などによる生息域外保全が試みられている⁽⁵⁾。動物園や水族館における遺伝資源の保全として、国内で 150 以上の施設において大小を問わず約 6,000 以上にのぼる動物種が飼育されている⁽⁶⁾。しかしながら、生体による遺伝資源の保存のための研究開発には、個体の飼養や繁殖のための輸送に掛かる莫大な費用および大規模な飼育スペースを要するため特定の機関のみで進められているのが現状であり⁽⁷⁾、上述の通り、JAZA Collection Plan で選定された 305 種の動物が自然繁殖による産仔獲得と繁殖メカニズムに関する遺伝的保全戦略としての有用な知見を得るまでには、さらなる期間を要する。

生息域内保全とは

動植物種や個体群を対象とした要因を、これまでの自然環境や生息地において、必要となる外部環境因子や生息規模を維持・確保することで、種の減少あるいは絶滅を回避する考え方である。これは、国際自然保護連合が「世界環境保全戦略 (1980)」として提唱された。

「生物多様性条約 (1992)」第8条では、生物多様性の保全手法として生態系や自然下の生息地を保全する、「生息域内保全」を基本原則として定めている。

生息域外保全とは

生息地では維持・確保できない動植物種や個体群を含む生物多様性に基づく構成要因を、動物園・植物園など自然の生息地の外において人工的に増殖を図ることで種の絶滅の回避し種内の遺伝的多様性を維持する。

元来、生息地の環境において保全を図る「生息域内保全」が原則となるが、その補完的措置として取られる手段であり、本邦では、「緊急避難、種の保存、科学的知見の集積」も基本方針の目標とされている。

図2. 生物種の保全事業とは

これらの問題を解決するための有効な方法として動物を生体ではなく、配偶子や初期胚を凍結保存 (図 4, 5)、胚移植や人工授精による様々な遺伝資源の保存法が開発されている^(8, 9)。動物園動物においても、国内外の各施設において人工繁殖および生殖工学技術による初期胚の作製が試みられている^(10, 11)。しかしながら、多くの動物種において、実用化の弊害になる要因として、季節繁殖性による成熟した配偶子 (精子・卵子) の回収の難易度の高さや生殖細胞自体の形成不全などが挙げられる^(12, 13)。また、個体の老化により生理的機能が損なわれ、配偶子の形成および成熟した精子・卵子の数が著しく低下することが知られており、その後の受精能や染色体分配能力の低下による胚の発生が困難になると考えられている^(14, 15)。さらに、野生個体や生殖細胞からの遺伝情報の回収は、動物の捕獲自体のリスクや時間と費用を要するという問題も指摘されている⁽¹⁶⁾。



図3. 生息域内調査の一例
写真は、和歌山県に棲む外来種の調査を実施



図4. 液体窒素下で保存されて
いる精子



図5. 体外受精により生まれた
野生マウス

2. 新しい遺伝資源保存技術の取り組みにむけて

動物個体は、形状や大きさなどは多様であるが、哺乳類の原則的な体部の組み立ては動物種間で似ており動物の生存に必要な機能を営む。動物園動物では、個体が死を迎えると獣医疫学的所見による解剖を終え、一部の個体は剥製標本や骨格標本として試料を保存あるいは加工されるが、その殆どは廃棄物として処理される場合が多い。筋肉組織の分化過程は（図6）、筋衛星細胞が活性化されると筋芽細胞から筋細胞へ発生する際にミオシン重鎖と細胞融合に必要な myoseverin や PAX7 の発現により筋管細胞へと分化することで多核化した細胞として遺伝情報を保持している⁽¹⁷⁻¹⁹⁾。高齢化によって生殖細胞の採取が困難になった個体や死後に起こる自己融解された組織においては生殖細胞の採取が不可能になる場合がある。この場合、代替手段としてより多くの組織の回収が可能であり全身に存在する筋肉組織を用いて、直接的な遺伝子検査や筋肉組織から体細胞核を取り出し、個体再生に繋がる詳細な検討が可能となることは、遺伝情報だけでなく生理学的情報も得られることを意味している。

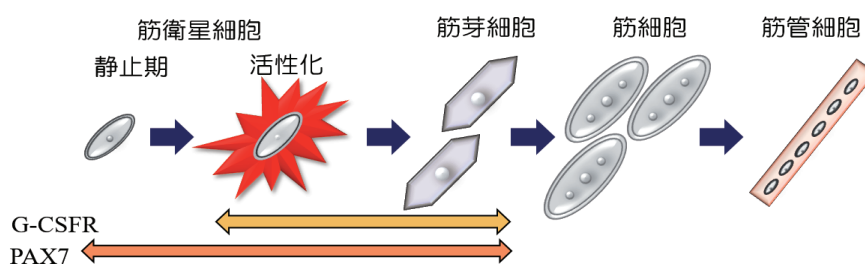


図6. 衛星細胞からの筋形成およびG-CSFR/PAX7の発現 (文献20を改変)

我々は、この新たな遺伝資源を回収する試みとして、筋肉組織を用いた遺伝資源保存の検討を開始している（図7）。まず、筋肉組織から網羅的データの定量的な情報取得を目的に、タンパク質を基盤とした生命科学において、現在タンパク質同定法の主流である Triple TOF LC/MS/MS と配列データベースを利用してタンパク質質量分析を検討した（図8-a）。

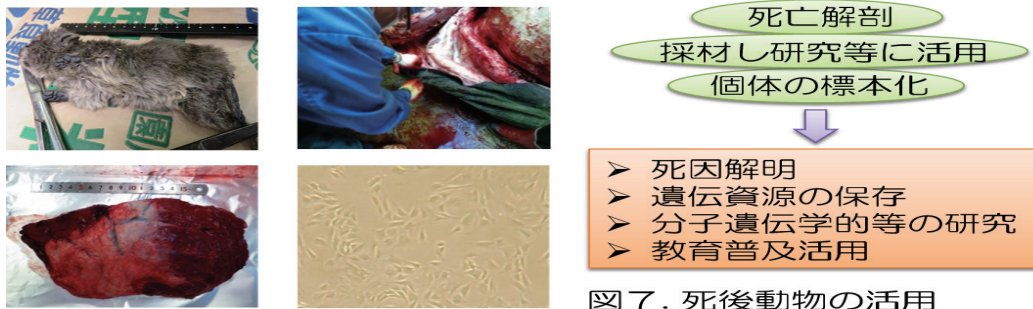
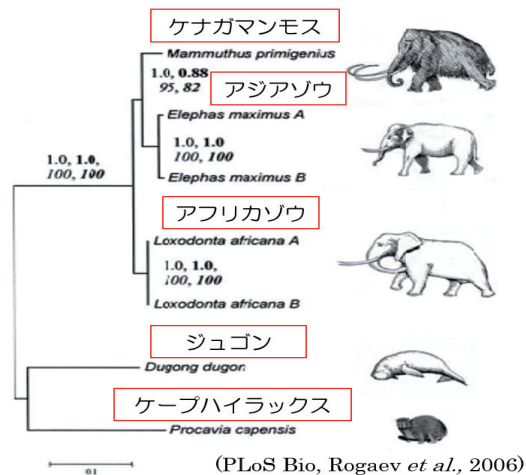


図7. 死後動物の活用

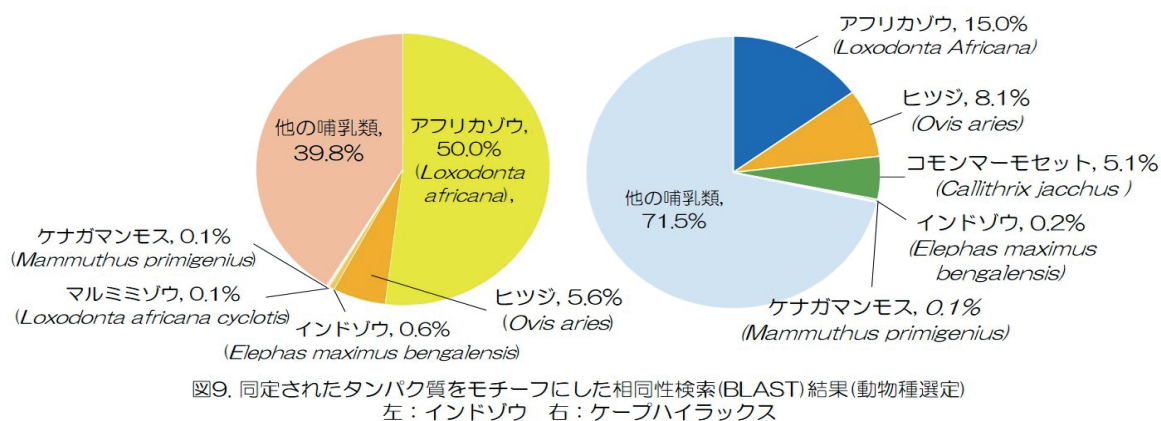


質量分析装置

図8. 質量分析装置(図8-a)と分子系統学的比較(図8-b)



提供組織として、生理的寿命を終えたアジアゾウの一亜種であるインドゾウおよびケープハイラックスの大腿部筋肉組織を用いた。今回、供試された動物個体は、それぞれ体格は異なっているが、形態的に似ているところも多く、全ミトコンドリアゲノム解析⁽²¹⁾から分子系統学的にアフリカ獣上目に位置する近縁種であることが知られている（図8-b）。この各動物の筋肉組織から、質量分析装置（AB Sciex; Triple TOF 5600）を用いて得られたMS/MSスペクトルは、UniProtデータベースから哺乳類タンパク質プロファイルの網羅的な検索により、インドゾウでは600個以上、ケープハイラックスでは800個以上のタンパク質が同定された。また、BLAST（Basic Local Alignment Search Tool）による相同性検索をおこない、これまでに登録されているアミノ酸配列データベース上から、いずれも50種類以上の動物種との類似性を持ち、興味深いことに、インドゾウで50%、ケープハイラックスで15%がアフリカゾウと高い相同性をもつことが示された（図9）。これまでのところ、アジアゾウとそれに類する亜種には、網羅的なタンパク質情報を取得した報告例はほとんど無く、登録されているアフリカ獣上目に属する動物種において、登録数が最も多い動物はアフリカゾウである。しかしながら、アフリカゾウにおいてもタンパク質名が不明なものが多く、動物園動物を含める野生動物においては、このように未だ理解が進んでいないことが現状である。今後、網羅的なタンパク質情報から特定のタンパク質の定量的解析をおこなうことにより、形態学的・分子遺伝学的分類に加えた新たな系統群分類が可能になると考えている。



我々は、筋肉組織の有効利用を目的に、特に生理的寿命を終えた動物個体における組織を用いて、筋肉組織内にある、体細胞核の機能はどのように「個体再生へ結びつくのか。その情報は正しく整っているのか？」を検討している。これまでのところ、筋組織由来体細胞核を用いた産仔の作出の報告例は、未だ発表されてはいない。しかしながら、ウシの胎児由来筋肉組織塊から筋管細胞を取り出して、体細胞核移植(クローン技術)によって作製したクローン胚あるいは筋肉組織から線維芽細胞を樹立して得られた体細胞核を同様に体細胞核移植により発生したクローン胚は、胚盤胞への発生には著しい影響はないことが Green らによって報告されている⁽²²⁾。一方、Wakayama らは、凍結保護剤を用いず -20°C 下にて 16 年間冷凍保存したマウスの脳組織から体細胞核を取り出して、体細胞核移植により作製したクローン胚から ntES 細胞(クローン ES 細胞)を樹立し、再度核移植操作をおこなうことにより産仔の作出を報告した⁽²³⁾。これは、死体動物や絶滅動物からの遺伝情報をもとに個体再生に繋がる突破口となると考えられている。

我々は、動物園や博物館の協力を得て、生理的寿命を終えた動物園動物の個体から筋肉組織の提供を受け、個体再生へ繋がる可能性を探求している。最初に、筋肉組織から極めて小さいサイズ(約 $10\mu\text{m}$ 以下)の体細胞核を取り出すことが可能であるか確認した。最初から貴重なサンプルを用いて実施するのは多くのリスクがあるので、乾燥処理を施している市販の「ビーフジャーキー」をモデルとして検討した。この結果、「凍結・乾燥・脱塩・燻製」と様々な工程によって、極めて脱水された状態であるビーフジャーキーの組織片を用いて、一つ一つに単離した状態で体細胞核の取出しに成功した(図 10)。

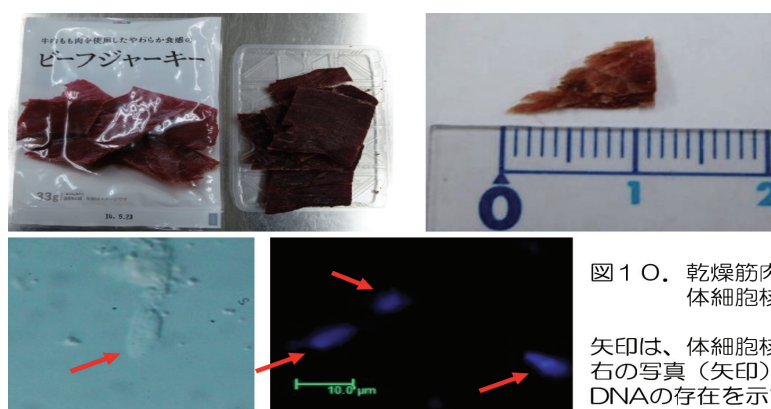


図 10. 乾燥筋肉組織からの体細胞核の回収

矢印は、体細胞核を示す。また、右の写真(矢印)は、体細胞核に DNA の存在を示す。

この結果を踏まえて、動物園から提供された筋肉組織を用いて体細胞核の取出しに挑戦した。体細胞核の分離の方法は、Triton Xを含むTris-EDTA bufferに筋肉組織を浸漬して組織を軟化させた後、ピンセットで細切（MIP法）する方法でおこなったところ（図11）、単一な体細胞核の取出しに成功した。この回収された体細胞核内に備わっている情報が整っているか、蛍光免疫染色操作によって調べたところ、核内の機能の保持と核膜を構成するタンパク質の発現が確認できた。また、マウスおよびケープハイラックス由来筋肉組織を真空乾燥により過度な脱水状態にて -30°C 下で保存した場合においても、体細胞核の回収は可能であることが確認できた⁽²⁴⁾。さらに、本法により回収した単一な体細胞核を用いて室温保存を試みたところ、マウスおよびアヌビスヒビでは少なくとも1週間は安定して保存が可能であることを示唆した⁽²⁵⁾。

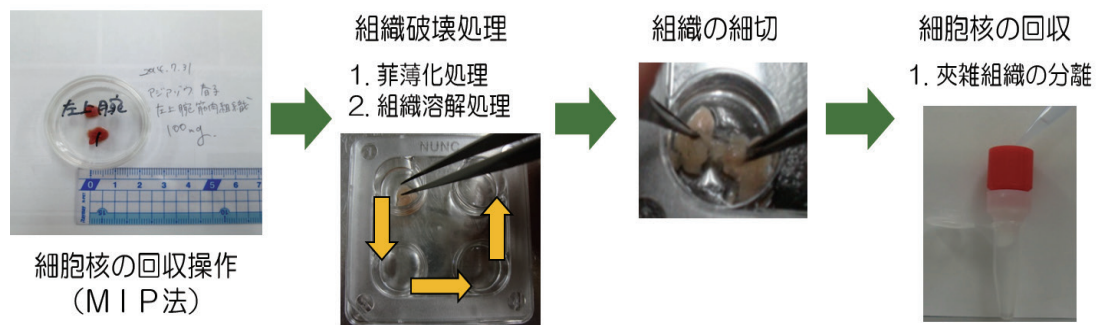


図11.筋肉組織からの体細胞核の回収

回収した体細胞核は実際には個体再生へ繋がるのか。上述したように、実際は筋肉組織から樹立した細胞を使った体細胞核移植操作では、まだ直接的に個体再生へ結びつくことが可能ではない（図12）。しかし、個体再生に繋がる一歩を積み重ねることが一番重要である。我々は回収した体細胞核の機能を調べるため、アジアゾウ筋肉由来体細胞核をマウス卵子へ注入することで異種間体細胞核移植をおこなったところ、前核形成能を有していることを確認した（図13）。また、長期保存された筋肉組織由来体細胞核を用いた体細胞核移植において再構築された卵子の核には、DNAリン酸化の指標となる、 $\gamma\text{H2A.X}$ の発現が認められDNA修復機構がはたらいていることが示唆されている⁽²⁶⁾。

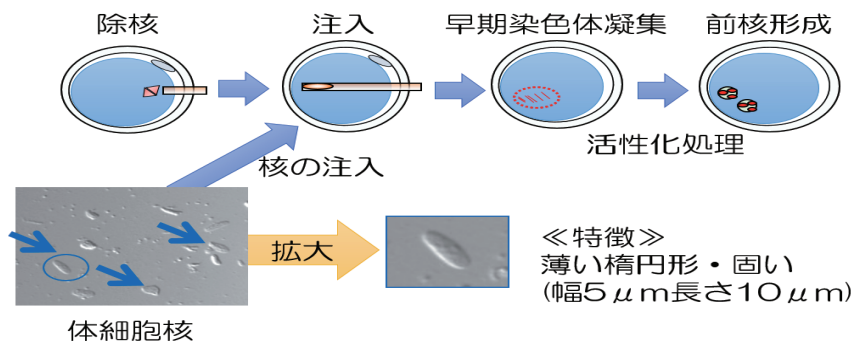


図12.体細胞核移植技術による体細胞核の再構築機能の確認

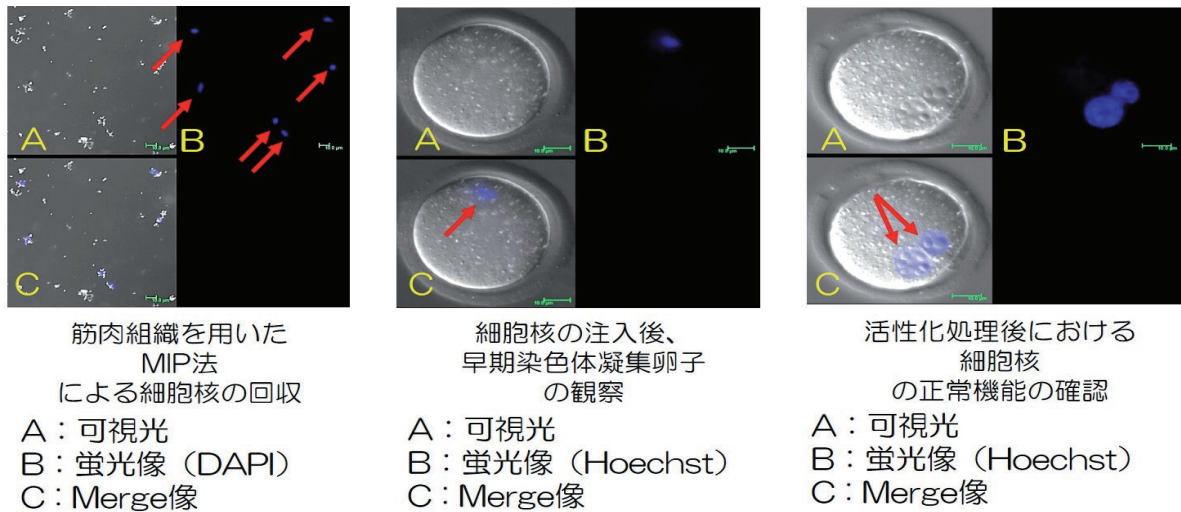


図13. アジアゾウ由来筋肉組織*からMIP法により回収された細胞核の機能性確認
— 一体細胞核移植操作による発生確認検査 —

* アジアゾウの一亜種である、インドゾウから回収した筋組織を使用した。

我々は、これまで野生小型げっ歯類の線維芽細胞の樹立をおこない異属間体細胞核移植によって再構築胚の作製に成功している⁽²⁷⁾。また、マウス体細胞核移植によって得られた再構築胚をガラス化保存し加温後の一部の再構築胚は、胚盤胞期へ発生することが可能であった⁽²⁸⁾。さらに、各機関から提供いただいた組織から順次、線維芽細胞の樹立を検討し、一部の動物種では樹立に成功した線維芽細胞の保存と遺伝形質検査そして新たな分化能力の検証を実施している（未発表）。今後、細胞周期制御機構のはたらきや種特異的な様々なリプログラム因子の特性などを明らかにすることは、獣医再生医療分野において待たれている「iPS細胞」や「細胞シート」の開発⁽²⁹⁾、さらにタンパク質構造解析技術および体細胞核移植技術を駆使した核ドナーの再プログラム化能力の検証、そして各細胞種、系統における分子遺伝学的な解明が実用化に向けて大きく前進することに繋がると考えられる。これらのことにより、今回我々が示した動物筋肉組織を用いた方法は、絶滅危惧種や各動物園で飼育されている動物において、新たな繁殖技術と遺伝資源保存技術の構築として強力なツールとなると思われる。

動物園や水族館の役割の一つとして「種の保存」があり、多くの機関で繁殖技術の構築による生物多様性の保全に貢献している。一方で、国内動物園において飼育されている種は減少していることは疑いない⁽³⁰⁾。また、「よく見かけた動物はどうなった」と問われる日も近い将来に訪れるかもしれない。今回報告した、一生を全うした動物個体の組織を生物多様性研究の一助にすることは、各動物園や水族館間の「知の共有」を進め、様々な研究が有機的に推進されることに繋がると思われる。さらに、容易に研究できない動物園動物からの体細胞回収による、ゲノム情報解析すなわち「遺伝情報の見える化」も迅速に対応が可能であろう。また、我々が進めている、「組織・線維芽細胞・再構築卵子（胚）」による選択的な体細胞の遺伝資源保存操作を体系的に進めることは、「体細胞バンクの構築と供給」および「データベースの構築」など、これまでにない新しい「研究する動物園」が本格化することに繋がると期待したい。

本調査報告は、平成28年度近畿大学生物理工学部公開講座「クローン技術を駆使して動物園動物・絶滅動物を研究する」を修正したものである。

3. 謝 辞

本研究に関してご協力を頂きました、広島市安佐動物公園、大阪市天王寺動物公園事務所、富山市ファミリーパーク、大阪市立自然史博物館、和歌山公園動物園ならびに関係者一同に感謝申し上げます。また、本研究に関して、適切なご助言を賜りました近畿大学医学部高度先端総合医療センター竹原俊幸先生、関西医科大学附属生命研究所西村愛美先生、東京都健康長寿医療センター研究所野田義博先生、和歌山県立医科大学大学院梶本みずき氏に感謝申し上げます。本研究の一部は、近畿大学 学内助成金 21 世紀研究開発奨励金「マンモス研究拠点の形成に向けて：YUKA マンモスのサンプルを用いたマンモスの総合的研究」の助成を受けた。

4. 参考文献

1. Qing J., Yang Z., He K., Zang Z., Gu X., Yang X Zang W., Yang B., Qi D., Dai Q. (2016). The minimum area requirements (MAR) for giant panda: an empirical study. *Scientific Reports*. 6, 37715.
2. 中村隼明、鏡味裕、田上貴寛. (2009). 生殖細胞による動物遺伝資源の保存と個体への再生. *動物遺伝育種研究学会誌*. 37, 41-58.
3. 堀秀正. (2016). 動物園の個体群管理. *どうぶつと動物園*. 68, 12-17.
4. 中瀨直己. (1993). 配偶子および胚凍結保存技術の希少動物への応用. *哺乳類科学*. 33, 33-40.
5. 楠木比呂志、木下こずえ、佐々木春菜、荒蒔祐輔. (2009). 我が国における動物園・水族館での保全繁殖共同研究. *日本野生動物医学会雑誌*. 14, 37-50.
6. 高見一利. (2016). 動物園・水族館による研究の推進～検体の収集、保存の事例より. *野生動物医学会雑誌*. 21, 1-7.
7. 大沼学. (2014). 絶滅危惧種の遺伝資源の保存. *獣医畜産新報*. 67, 35-44.
8. 安齋政幸、細井美彦、松本和也、佐伯和弘、入谷明. (2005). マウス胚・配偶子の凍結保存技術. *日本胚移植学雑誌*. 27, 123-131.
9. H. Kusakabe., R. Yanagimachi., Y. Kamiguchi. (2007). Mouse and human spermatozoa can be freeze-dried without damaging their chromosomes. *Human Reproduction*. 23, 233-239.
10. Masui M., Hiramatu H., Nose N., Nakazato R., Asito K. (1989). Successful artificial insemination in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) at Ueno Zoo. *Zoo Biology*. 8, 17-26.
11. 入谷明. (1996). 動物園動物の人工繁殖の動向. *日本野生動物医学会雑誌*. 1, 13-16.
12. Fukui Y., Kano H., Kobayashi M., Tetsuka M., Ono H. (1985). Response to repeated-superovulation treatment in the ewe. *Journal of Reproduction and Development*. 31, 155-157.
13. 池上啓介、吉村崇. (2010). 脊椎動物の季節繁殖の制御機構. *日本生殖内分泌学会雑誌*. 15, 55.57.
14. Yshizawa M. (1995). Early embryo development in senescent golden hamsters. *Journal of Mammalian Ova Research*. 12, 107-111.
15. Nomura M., Sumantri C., Suzuki T. (1998). The Effects of Sperm Pre-Incubation Times on the Cleavage, Development and Sexing of Bovine Embryos. *Journal of Mammalian Ova Research*. 15, 113-116.
16. 佐藤喜和. (2004). ヘアトラップによる体毛回収と DNA 個体識別を用いたクマ類の個体数推定の現状と課題. *哺乳類科学*. 44, 91-96.
17. Zammit PS., Relaix F., Nagata Y., Ruiz AP., Collons CA., Partudge TA., Beauchamp JR. (2006). Pax7

- and myogenic progression in skeletal muscle satellite cells. *Journal of Cell Science*. 119, 1824-1832.
18. Kim YK., Ha HH., Lee JS., Bi X., Ahn YH., Hajar S., Lee JJ., Chang YT. (2010). Control of muscle differentiation by a mitochondria-targeted fluorophore. *Journal of the American Chemical Society*. 132, 576-579.
 19. Hayashiji N., Yuasa S., Miyagoe-Suzuki Y., Hara M., Ito N., Hashimoto H., Kusumoto D., Seki T., Tohyama S., Kodaira M., Kunitomi A., Kashimura S., Takei M., Saito Y., Okata S., Egashira T., Endo J., Sasaoka T., Takeda S., Fukuda K. (2015). G-CSF supports long-term muscle regeneration in mouse models of muscular dystrophy. *Nature Communication*. 13, 1-14.
 20. PS Zammit., TA Partidoge., ZY Reuveni. (2006). The skeletal muscle cell: The stem cell that came in from the cold. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 54, 1117-1191.
 21. Rogaev EI., Moliaka TK., Malyarchuk BA., Kondrashov FA., Derenko MV., Chumakov I., Grigorenko AP. (2006). Complete mitochondrial genome and phylogeny of pleistocene mammoth *mammuthus primigenius*. *PLoS Biology*. 4, e73, 0403-0410.
 22. A.L. Green., D.N. Wells., B. Oback. (2007). Cattle cloned from increasingly differentiated muscle cells. *Biology of Reproduction*. 77, 395-406.
 23. S. Wakayama., H. Ohta., T. Hikichi., E. Mizutani., T. Iwaki., O. Kanagawa., T. Wakayama. (2008). Production of healthy cloned mice from bodies frozen at -20°C for 16 years. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 105, 17318-17322.
 24. 梶本みずき、東里香、井上達也、久保盛恵、野々上範之、小橋朱里、折杉卓哉、細井美彦、安齋政幸. (2016). 動物筋組織を用いた真空乾燥処理による冷凍保存の試み. 近畿大学先端技術総合研究所紀要. 21, 1-10.
 25. A. Obashi., M. Kajimoto., R. Azuma., M. Kubo., N. Nonoue., T. Orisugi., M. Sugimoto., Y. Hosoi., M. Anzai. (2016). Study of room temperature storage method using the muscle tissue-derived somatic cell nuclei. *Experimental Animals*. 62, S96.
 26. R. Azuma., M. Kajimoto., A. Obashi., T. Orisugi., M. Sugimoto., Y. Hosoi., M. Anzai. (2016). Effect of DNA repair ability of muscle tissue nuclei by somatic cell nuclear transfer. *Experimental Animals*. 62, S109.
 27. 安齋政幸、村井仁志、宮下実、岸昌生、中家雅隆、西村愛美、杉本奈央、松崎ひかる、東里香、三谷匡、加藤博己、細井美彦. (2014). 野生マウス由来線維芽細胞の樹立による遺伝資源保存技術の一例. 近畿大学先端技術総合研究所紀要. 19, 13-24.
 28. 東里香、中家雅隆、井上達也、梶本みずき、加藤博己、三谷匡、細井美彦、安齋政幸. (2015). マウス体細胞核移植由来初期胚を用いたガラス化保存の検討. 近畿大学先端技術総合研究所紀要. 20, 19-30.
 29. Ben-Nun IF., Montague SC., Houck ML., Tran HT., Garitaonandia I., Leonardo TR., Wang YC., Charter SJ., Laurent LC., Ryder OA., Loring JF. (2011). Induced pluripotent stem cells from highly endangered species. *Nature Methods*. 8, 829-831.
 30. 多摩動物公園飼育種数調べグループ. (2013). 「あたりまえ」が変わった? 国内動物園での飼育動物種の変遷を調べる. どうぶつと動物園. 65, 22-27.

英文抄録

Study on preservation of animal tissue provided from zoos :
Toward knowledge sharing with the zoos and aquariums

Masayuki Anzai^{1,2}, Rika Azuma², Moriyoshi Kubo³, Noriyuki Nonoue³,
Kazutoshi Takami⁴, Minoru Miyashita⁵, Hitoshi Murai⁶, Kouhei Nagai^{2,7},
Akari Obashi⁷, Takuya Orisugi⁷, Yoshihiko Hosoi^{1,2,7}

Abstract

Currently, species extinction is progressing at an unprecedented speed by such as deterioration of natural environment and overharvesting wildlife. Approximately 6,000 animal species are reared in zoos and aquariums in Japan. However, in many animal species the aging and the decline of reproductive efficiency will become serious problems in the near future. As the preservation of genetic resources for these valuable animal species, we are studying a preservation method using animal muscle tissues. In this case report, we introduce our approaches to preserve the genetic resources obtained from the animal muscle tissues.

Key words: fibroblast cells, gametes, genetic resource preservation, muscle tissues, proteomics, somatic cell nuclear transfer

1. Institute of Advanced Technology, Kindai University. Kainan, Wakayama, 649-0017, Japan.

2. Division of Biological Science, Graduate School of Biology-Oriented Science and Technology, Kindai University. Kinokawa, Wakayama, 649-6493, Japan.

3. Asa Zoological Park Hiroshima. Hiroshima, Hiroshima, 731-3355, Japan.

4. Tennoji Zoo. Tennouji-ku, Osaka, 543-0063, Japan.

5. Foundation Ube Tokiwa Zoo Association. Norisada, Ube, Yamaguchi, 755-0003, Japan.

6. Toyama Municipal Family Park Zoo. Toyama, Toyama, 550-0002, Japan.

7. Department of Genetic Engineering, Faculty of Biology Oriented Science and Technology, Kindai University. Kinokawa, Wakayama, 649-6493, Japan.