

## 施策の紹介

# 家畜におけるクローン技術の現状と展望

家畜におけるクローン技術は、優良な形質を持つ個体や群を効率的に増殖して生産性を向上させる、あるいは育種選抜のシステムに応用できるものとして期待されています。ここでは、家畜、特にウシにおける体細胞クローン技術について解説するとともに、その展開方向について紹介します。

## はじめに

家畜繁殖における課題は、育種的に選抜された優良な形質を持つ個体の効率的増殖による生産性の向上を目的としています。そのため、約半世紀前に開始された人工授精をはじめとして、胚移植、体外受精、核移植など、次々に新し

い技術が開発されてきました。現在、我が国で飼養されている約二百五十万頭の乳・肉用繁殖牛への凍結精液による人工授精の普及率は九八%以上であり、そのための種雄牛は数百頭にしか過ぎません。また、受精卵移植による産子数は、世界第四位となっています。優秀な雄、雌の交配からより多

くの産子を得るために、最初は受精卵をメスで二分割して一卵性双子を得る方法が行われました。次に二丁四細胞期にある胚をバラバラにして、それぞれの割球細胞から個体にまで発生させる研究が行われ、子牛生産にまでこぎついています。しかし、さらに発生が進んだ受精卵では、それぞれの割球

細胞が個体として発生できる能力はすでに失われています。このことを克服するために、個々の割球細胞の個体発生に不可欠な条件整備を行うために、核をあらかじめ除いておいた除核未受精卵子と細胞融合させる方法、すなわち受精卵クローン法が開発されました。この受精卵クローン技術は一九



## 体細胞クローン技術で誕生したウシ、ヤギ、ブタ



九〇年ごろにはほぼ実用化の域に達し、我が国では、これまでに約五百六十頭の子牛が誕生し、一部は受精卵クローン牛あるいはビーフとして食肉販売されています。

このような状況の中で、体細胞クローン羊「ドリー」の誕生は、いったん分化した体細胞は元に戻ることはできないという生物学の常識を根底から覆す画期的なものであり、我が国ではウシをはじめ

として、ヤギ、ブタ、マウスにおける成功例が相次いで報告されています【写真参照】

### 体細胞クローン牛の 作出法

#### 1 体細胞核移植技術

ドナーとなる体細胞は、培養液を満たしたシャーレの中で、数回培養を繰り返します。その後、細胞の増殖する周期がある一定の状

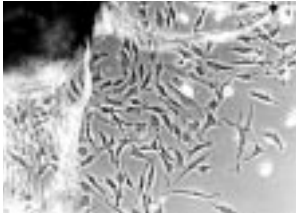
態（G0/G1期）にするために、血清の濃度を下げるか、細胞がシャーレの中でもうこれ以上に増殖するスペースがない状態にもっていきます。体細胞の種類としては、皮膚繊維芽細胞、卵子の周りを取り囲んでいる卵丘細胞、乳腺細胞（にゅうせん）など、活発に増殖できるものであればどのような細胞でも用いることができます。

体細胞と融合させる未受精卵子

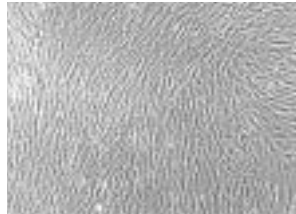
は、不要な卵子の核を取り除きます。その後、核を取り除いた卵子の表面に体細胞を挿入し、卵子と体細胞を一体化させるために微弱な電気パルスをかけます。また、ブタやマウスでは、卵子の細胞質内に体細胞を直接注入する方法も開発されています。その後、発生を開始するための活性化処置を施し、一週間培養器の中で培養すると、移植ができる胚盤胞といわれ

## 体細胞クローン胚の作出法とクローン産子

### 【体細胞の準備】

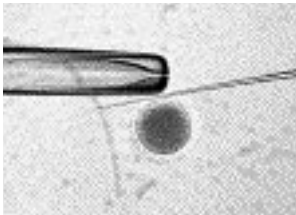


採取直後の細胞

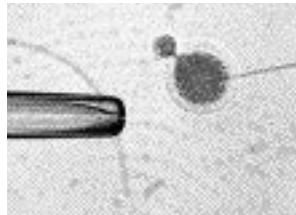


増殖した体細胞

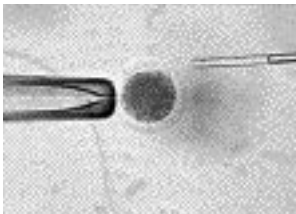
### 【核移植】



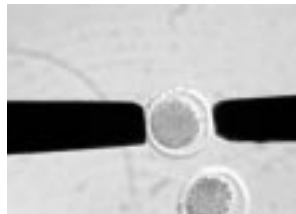
透明帯のカット



除核

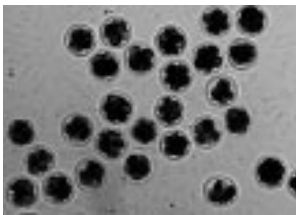


体細胞の導入

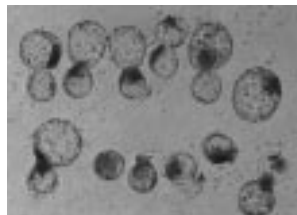


電気融合

### 【体細胞クローン胚の発生と産子】



8細胞期胚



胚盤胞期胚



体細胞クローン子牛



る時期にまで発生します「右ページの写真参照」

この一連の操作で、胚盤胞が発生する率は三〇～五〇％程度であり、この値は体外受精の場合と同じです。

## 2 受胎成績と体細胞クローン牛の発育性と繁殖性

体細胞クローン胚の受胎率は、妊娠四十日目前後では三〇～四〇％程度となっています。しかし、分娩に至るまでの率は一〇～一五％程度に低下し、受精卵クローンの分娩率二五％程度に比べていまだ途中での流死産が多い傾向にあります。また死産、生後直後死も受精卵クローンに比べて多い傾向にあります。適切な分娩監視・介助によって、その発生は少なくなりつつあります。

二〇〇〇年十二月末までに、我が国では百九十六頭の子牛が誕生し、九十二頭がその後の育成・試験に用いられています。これは世

界に例を見ない頭数となっており、全く同じ遺伝子を持つ体細胞クローン子牛ですが、ヒトの指紋に相当する鼻紋のパターンや、ホルスタイン種では白黒の模様には違いが生じます。

また、体細胞クローン牛が最初に誕生してから約一年半が経過し、その発育性や生理機能などが明らかになりつつあります。これまでのところ、発育性に問題点はなく、生理機能についても人工授精で生まれた産子と異なる点は全く認められないなどの情報が蓄積されてきました。また、その繁殖性については雌雄の体細胞クローン牛ともに、その二世が誕生しており、正常に受胎あるいは受精する能力のあることが証明されています。また、その産子は全く正常でした。

## 体細胞クローン子牛生産の問題点

体細胞クローン子牛生産の問題

点は流死産が多いことや、分娩直後死や過大子の発生頻度が高いことなどが挙げられます。流死産の原因については、胎子自身の器官形成の問題と、体細胞クローン妊娠牛の胎盤形成不全にあることが判明してきました。

また、体細胞クローン産子の生時体重は、品種の標準から比べて約十キログラム程度重くなっています。黒毛和種の平均体重は約二十八キログラム程度ですが、子牛の生時体重と生存率を比較してみると、生時体重が三十～三十五キログラムの子牛の生存率は約八〇％でした。しかし、それ以下あるいはそれ以上になると、生存率は約六〇％に低下し、五十キログラム以上の生存率は三〇％に激減することが分かりました。

全国から集められた死亡胎子や産子の病理学的検査では、呼吸循環器系の未発達性、過大子における繊維芽細胞の増殖、骨格筋の変性、免疫不全などが認められています。

ます。しかし、これらの病理結果は通常の死亡例でも観察されます。体細胞由来である特徴的なものとしては、臍帯が異常に太くなり、その血管も太く、出生後の血管の退行収縮がうまくいかないことや、肝臓の繊維芽細胞が増殖していることなどが挙げられています。

体細胞クローン子牛生産をめぐって、このような現象の頻度が高くなることは明らかになってきましたが、根本的な原因の一つとして体細胞クローン胚における体細胞核の初期化、あるいはインプリンテング遺伝子制御の不備が原因になっているのではないかと考えられるようになってきました。

細胞の核には父親由来と母親由来の対の遺伝子が存在しています。通常はどちらの遺伝子が働くかは偶然によって支配されて、正常な生理機能が営まれています。しかし、インプリンテング遺伝子は、父親あるいは母親由来の遺伝



子のどちらかが働くように決まっています。胎子の発育性や胎盤形成などに大きく関与しています。一般的には、父親由来の遺伝子は胎子を大きくさせるように、母親由来の遺伝子は胎子を小さくさせるように働き、相互の遺伝子の駆け引きによって胎子が正常に発育することが知られています。このインプリンテング遺伝子は、卵子あるいは精子の段階で刷り込まれているのですが、体細胞を移植した体細胞クローン胚でこのような再編がきちんと行われているのかどうかは、体細胞クローン産子の生産率を向上させる上で重要だと考えられています。

このように体細胞クローン家畜を実際に作出することには成功しましたが、初期化とは何か、核以外の細胞質、特にミトコンドリアの影響、胎子や胎盤の遺伝子発現、テロメアと関連した寿命、クローン産子の相似性など、残された謎は多く、その制御法も含めて科学

的にメスを入れていくとともに、流死産率の低下等の技術の安定化が当面の課題となっています。

## 体細胞クローン技術の応用性

畜産における応用性としては、育種・改良システムへ適用することにより、育種改良速度や遺伝的正確度の面から改良増殖に果たす役割が大きいとされています。そのため、人工授精や受精卵移植と体細胞クローン技術を複合的に用いるクローン検定システムの構築が提案されています。

また、希少種あるいは在来種の遺伝資源としての保全は、世界的な流れであり、我が国においても、農林水産省において動物遺伝資源事業研究が取り組まれています。保存法には個体・集団として保全する方法と、精子や胚を凍結保存する方法がありますが、個体数が減少したものから多くの精子や胚を採取することには、問題を抱え

ています。しかし、性年齢を問わず多数の個体から採取することができると体細胞は、遺伝的多様性の維持からも重要であり、今後の遺伝資源の保存法として期待されています。

医薬品などの有用物質の生産、疾患モデル動物の作出を目指して、遺伝子組換え家畜の生産が試みられています。しかし、従来の受精卵の核への顕微注入法での効率<sup>はくたい</sup>は極めて低く、莫大な労力と資金が必要です。そこで、体細胞クローン技術の有利性が改めて認識されつつあります。培養体細胞を用いることによって、細胞への遺伝子導入、遺伝子が導入された細胞の選択が培養条件下で可能となり、次に選択された細胞を用いた体細胞核移植によって、遺伝子組換え家畜の効率的生産が可能になると期待されています。

## 最後に

体細胞クローン技術は、今後、

優良家畜の生産のみならず、有用物質生産や医療分野などへの多方面への応用が期待されています。しかし、本研究は開始されたばかりであり、未知の部分が大きいことも事実です。そのため、全国的な連携のもとに、精力的に研究を展開しています。

家畜の体細胞クローン技術は、畜産業への発展に寄与することを第一義として、明確な目的意識をもって、着実な歩みが必要とされています。現在、体細胞クローン家畜の市場への流通は、通達によりなされていませんが、研究の情報開示を進めつつ“安全性”“安心性”を明らかにしていく必要があります。

社会に役立つ技術開発を目指すためには、消費者の理解を得ながら研究を進めることが重要です。と同時に、研究者も決められたガイドラインに従い、節度を持って望むべきだと考えます。

(農林水産省)