

クローン家畜—現状と未来—

澤井 健

北海道立新得畜産試験場, 上川郡新得町 081-0038

Clone Animals — Now and Future

Ken SAWAI

Hokkaido Prefectural Shintoku Animal Husbandry Experiment Station, Shintoku 081-0038

キーワード：ウシ, クローン, 核移植, 体細胞, 初期胚, 遺伝子導入

Key words : Cattle, Clone, Nuclear Transfer, Somatic Cell, Embryo, Transgenic

1. はじめに

1996年7月5日, イギリスはスコットランドにあるロスリン研究所で体細胞クローンヒツジ『ドリー』が誕生した (WILMUT *et al.*, 1997). その後, 世界的規模でクローンフィーバーが巻き起こったことは周知の事実である。

『ドリー』誕生がもたらしたものは何だったのか。我々, 発生学を専門とする者の立場で考えた場合, それは定説を覆すものであった。一度分化し始めた細胞は全能性を失う, 細胞の分化は不可逆的なものであるというのが発生学の定説であった。しかしながら, 6歳の雌ヒツジの乳線細胞から作出された『ドリー』の誕生は, 分化した細胞でも個体発生のための遺伝子が完全に機能する状態で保存されており, 全能性を持つことを証明した。細胞の分化は可逆的だったのである。この新しい説はウシおよびマウスの体細胞クローンによって再度証明され, 確定されたといっても過言ではない。

世界で初めての体細胞クローンウシは我が国において誕生したが, その背景には世界でもトップクラスにある初期胚(受精卵)を用いたクローン作出技術(核移植技術)の集積があったとされている。体細胞クローン作出に成功した現在, 初期胚クローンはどのような意義を持ち, 今後どのように応用されていくのか, 体細胞クローンの今後とともに大変興味深い課題である。本講座において, 初期胚および体細胞クローンそれぞれの技術的背景および現状を記していく中でクローン作出技術がもたらす未来を少しでも浮び上がらせることができればと考えている。

2. クローン

1) クローンとは

ギリシャ語の『小枝』を語源とするクローン (Clone) は, 遺伝子の組成が完全に等しく, 無性生殖的に生じる細胞または生物の集団と定義されている。この定義にそって解釈すれば, 初期胚(桑実期から胚盤胞期胚)を鋭利な刃によって分割する技術を用いて作出した一卵性双子もクローンである。また, 植物の分野では根の成長点を採取し培養した細胞塊から完全な個体を作成する技術がはやくから確立されており, クローン技術によって生産された野菜も広く流通している。このように, クローンを作成する試みは以前からなされ, 植物の様に生産増殖の技術として普及しているものもある。

2) 初期胚クローン

体細胞クローンが誕生するまでは, 家畜におけるクローンとは初期胚に由来するクローンのことを指していた。初期胚クローンは16細胞期から32細胞期(桑実期)にある胚の割球を核移植に用いることによって得られる個体のことであり, 端的に言えば一卵性の16~32子のことであり, 理論的には, 初期胚核移植では一つの胚から得られた細胞の数だけ同一の遺伝子をもつ個体の作出が可能となる。核移植により得られた胚をさらに反復して核移植に用いることで倍数的に核移植胚を作る技術(継代核移植)も開発されており, 3回の継代核移植を行ってきたウシクローン胚から産子が得られている (TAKANO *et al.*, 1997)。継代核移植を繰り返せばクローン胚を無限に作出することも可能となるが, 核移植を繰り返すことによって核の染色体が損傷を受け胚の発生が阻害される可能性が高い

ことから、実際に得られるクローンの数は制限されるであろう。現在、ウシにおいて一つの胚から得られるクローンは3から5頭という水準にある。

3) 体細胞クローン

体細胞クローンは成体もしくは胎子から得られた体細胞に由来するクローンであり、細胞を採取した個体と同一の遺伝子組成を持つ。当然、同じ個体から得た細胞から作出した産子全てが同一のクローンである。体細胞クローンが初期胚クローンと異なる点は、初期胚クローンが両親の遺伝形質を受け継いだ胚のコピー、すなわち子供のコピーであるのに対し、体細胞クローンは、個体そのもののコピーであることにある。また、初期胚クローンは細胞の数的制限から作出できる個体数に限界があるが、体細胞クローンは組織培養によって無限に増殖する体細胞を用いるので、作出できる個体数に制限はない。

3. 核移植技術

クローンは核移植という方法を用いて作出するが、核移植とは遺伝情報の保管場所である細胞核を別の細胞に移植する技術である。核を移植される側の細胞に存在する遺伝情報（細胞核）は予め除去される。家畜など哺乳動物の核移植では、移植する側の核を含む細胞を供核細胞（ドナー細胞）、移植を受ける細胞は未受精卵子を用いるので受核卵子（レシピエント卵子）と呼ぶ。核移植における一連の行程を図1に示したが、その作業は直径が約0.15 mmの卵子を対象とするため、細かな操作を制御できるマイクロマニピュレーターを用いて顕微鏡下で行われる。

初期胚クローンは1986年にヒツジにおいて16細胞期胚の割球をドナー細胞として産子を得たのが最初の成功例であり(WILLADSEN, 1986)、ウシではその1年後に初期胚クローンが誕生している(PRATHER *et al.*, 1987)。家畜における核移植技術は体外受精など他の生殖制御技術に比べてその歴史は浅く、10年余りで急速に発展した技術といえる。初期胚核移植と体細胞核移植の違いは、ドナー細胞の種類の違いのみであり、核移植に関する技術的な違いはほとんどない。従って、初期胚核移植技術の進歩なしに体細胞クローンの誕生はなかったといえる。

1) ドナー細胞

ウシの初期胚核移植には通常32細胞期から桑実期の胚をドナー細胞とするが、最近、さらに発生段階が進んだ胚盤胞を培養した細胞からもクローンウシが誕生している(ITO *et al.*, 1998)。これらの胚は成体から回収するか、もしくは体外受精によって作出したものをを用いる。胚の細胞は透明帯を切開し、ピペッティング処理することにより容易に分散することができ

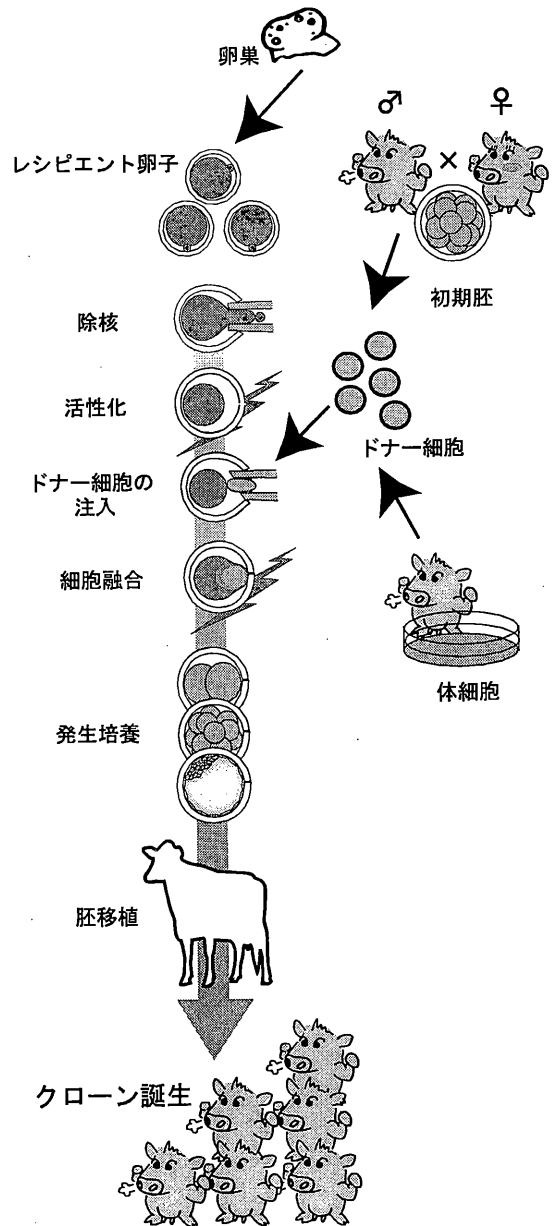


図1 核移植技術の概略

る。一方、体細胞核移植のドナー細胞は成体および胎子の組織から採取し培養した細胞を使用する。核移植によって個体の作出もしくは受胎が報告されている体細胞には線維芽細胞、乳腺細胞、子宮および卵管上皮細胞、筋肉由来細胞などがある。様々な組織から採取した細胞が使用されているが、細胞の形質から上皮細胞系と線維芽細胞系に大別される。現在、体細胞の種類によるクローン胚の作出効率の違いなどの研究が進められているが、本技術の応用を視野に入れた場合、細胞採取の簡便さなども細胞選択の重要な基準となる。体細胞は継代培養を繰り返すことによって無限に増殖し、凍結保存も容易である。しかし細胞の分裂回数が増えるにしたがって染色体異常の出現頻度も高まるので、通常は初代培養から2, 3回継代培養した細胞を凍結保存し、核移植の日程に合わせて融解培養し

たものを核移植に用いる。

2) レシピエント卵子

レシピエント卵子は食肉処理場より採取した卵巣から吸引採取した卵子を体外で成熟させて用いる。卵巣から採取した卵子を成熟培地で20から22時間培養後、透明帯を切開し、第1極体付近の細胞質を第1極体を含め4分の1ほど取り除く。この処理を除核処理といい、レシピエント卵子から固有の核（遺伝情報）を除去するための処理である。除核の成否は、除去した細胞質を蛍光染色し核の存在を視認することにより確認する。除核処理が不完全でレシピエント卵子内に核が残存した場合、残った核とドナー細胞の核が融合し異数体を形成する可能性がある。異数体を形成した胚は体外発生、移植後の着床、胎子発生が阻害され産子の作出を望めない。

3) 細胞周期の同調

細胞は細胞周期と呼ばれる周期にしたがって分裂増殖を繰り返している(図2)。細胞周期には間期(G1, G2)をはさんで細胞分裂期(M)、DNA合成期(S)の4つのステージがあり、1周期はほぼ24時間である。レシピエント卵子は減数分裂を完了していないためM期で静止している。レシピエント卵子をM期で静止させている物質は卵子成熟促進因子(MPF)とよばれ、通常、精子の侵入など活性化刺激によって急速に分解される。MPFの消失した卵子は細胞周期の次の段階(G1期)へと進み、分裂を開始する。MPFは強い染色体凝集作用を持ち、MPF活性の残る卵子にドナー細胞を移植すると核内の染色体の凝集が起こる(CAMPBELL *et al.*, 1996)。このような不意に起こる物理的な作用は染色体にダメージを与え、核移植後の胚発生を阻害するため(CAMPBELL *et al.*, 1996)、核移植を行う前にレシピエント卵子をカルシウムイオンフォア(CaI)、エタノール、電気刺激などを用いて活性化し卵子内のMPF濃度を低下させる必要がある。

ドナー細胞となる初期胚の細胞はそのほとんどがS

期にある(CAMPBELL *et al.*, 1994)。レシピエント卵子との細胞周期の同調性からドナー細胞もG1期にあることが望ましいとされている。しかしながら、初期胚の細胞をG1期に同調させることは技術的に困難であり、現状ではS期の状態で移植を行っている。体細胞は初期胚細胞と異なり、比較的容易に細胞周期を同調することができる。通常、体細胞の培養には血清(ウシ胎児血清、仔ウシ血清など)を10~20%濃度で添加した培養液を用いるが、血清の添加濃度を0.5%にまで低下させた培養液で細胞を培養すると、細胞は静止期(G0期)と呼ばれる状態に入る(図3)。G0期はG1期に類似したステージであり、G0期の細胞は休眠状態にあるため、分裂して増殖することはない。このように血清濃度を低下させて細胞の培養を行うことを血清飢餓処理といい、酵母菌などを使った細胞周期の研究では一般的に用いられる細胞周期同調法であり、『ドリー』および体細胞クローンウシのドナー細胞にもこの血清飢餓処理が行われている。血清飢餓処理を行った細胞は生存するために必要な最低限の遺伝子のみが発現し、それまで形作っていた器官を特徴づけるような遺伝子の発現を抑制することで遺伝子の初期化が容易となった可能性がある。そのためドナー細胞の血清飢餓処理が体細胞クローン作出の成功要因の一つと考えられている。体細胞核移植では初期胚核移植とは対照的にレシピエント卵子の活性化処理を行わず

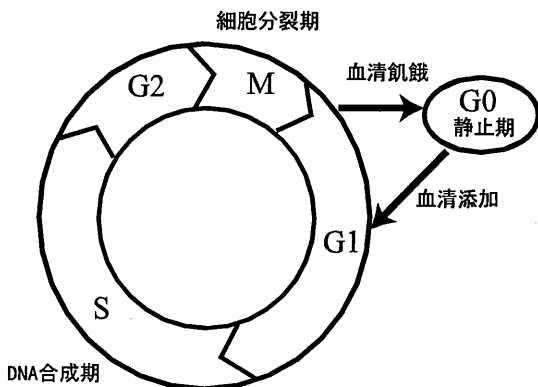
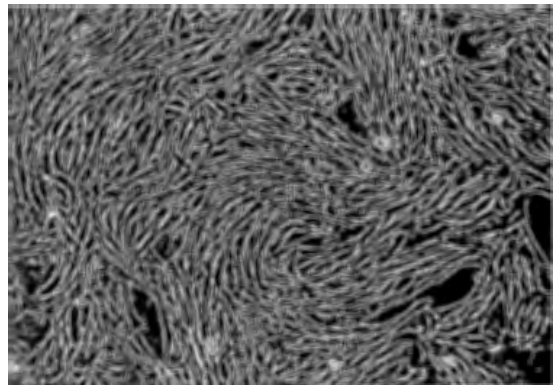
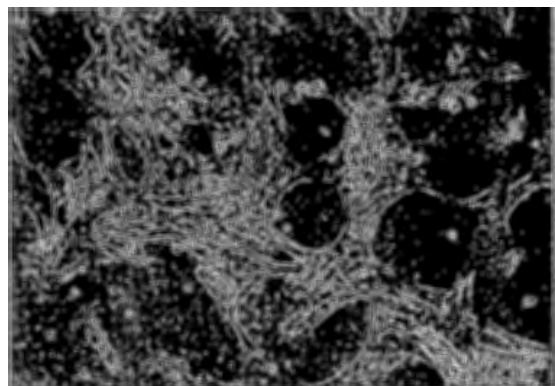


図2 細胞周期



通常培養 (10%血清添加) (×100)



血清飢餓培養 (0.5%血清添加) (×100)

図3 ウシ胎子線維芽細胞

MPF 活性が維持されている状態でドナー細胞を移植した場合にクローン胚の発生が促進されることから(高橋ら, 1998), 初期胚細胞などの未分化細胞と分化した細胞とでは遺伝子の初期化機構が異なることを示している。

4) ドナー細胞の移植と細胞融合

初期胚核移植では, CaI などでの活性化刺激を与えたレシピエント卵子をさらにシクロヘキシミド(タンパク質合成阻害剤)を添加した培地で数時間追加培養して, 活性化刺激を補強し, ドナー細胞の移植を行う。除核処理を行った切開部に注入用のピペットを差し込み, ドナー細胞を卵胞腔に注入する。体細胞がドナー細胞の場合, レシピエント卵子の活性化処理は行わず除核後すぐに細胞の注入を行う。

ドナー細胞とレシピエント卵子の融合には電気パルスを用いる。ドナー細胞を注入したレシピエント卵子を2本の電極の間に置き, 極短時間通電させる。通電によりドナー細胞とレシピエント卵子の接着部分の細胞膜に微細な穴が開き, その穴が修復される過程で細胞膜が混ざり合い細胞が融合する。細胞の融合は通電後15~30分程度で完了する。ドナー細胞とレシピエント卵子の融合率は初期胚細胞で90%以上, 体細胞では50~80%である。

胚の発生開始にはその引き金となる刺激が必要であるが, 通常の胚発生では受精時に精子が卵子内に侵入することが発生開始のシグナルとなる。精子の侵入直後, 卵子内では受精に特異的なカルシウムイオンの動きがみられる。それに類似したカルシウムイオンの動きを電気刺激によって引き起こすことができ, 核移植胚においては細胞融合時の電気パルスが発生開始のシグナルを兼ねていることになる。

5) 体外培養と移植

作出したクローン胚は移植可能な時期(桑実胚から胚盤胞期)まで体外で発生させる必要がある。ヒツジでは外科的手法を用いて比較的容易に胚を卵管に移植できるので, 発生率を高めるためにクローン胚を体内培養し, 再移植することが多い。ウシでは体外受精胚の体外培養に関する研究成果により, 胚を体外で効率的に発生させるための培養条件が確立されており, クローン胚の培養は体外で行う。体外培養したクローン胚の80%が分割し, 30%の胚が胚盤胞期まで発生する。ドナー細胞が初期胚細胞の場合と体細胞の場合とは分割率, 胚盤胞期までの発生率にあまり差異はない。

クローン胚の移植は, 通常の受精卵移植と同様の方法によって行う。すなわち, 桑実期から胚盤胞期にまで発生したクローン胚をホルモン処理により発情同期化したもしくは自然発情がみられた受胎ウシの発情開

始7(±1)日目の子宮に移植する。

4. クローンの問題点

核移植技術は新しい技術であり, マイクロマニピュレーターや細胞融合装置などの特殊な機器類を必要とするため実施できる施設も限られている。そのため, クローン産子の数はまだまだ少なく, クローン家畜に関して得られた事象が学術的に裏付けられる状況には至っていない。しかしながら, クローン産子の数は年々増加してきており, クローン技術が抱える問題についても明らかになりつつある。

1) クローン個体の表現形質の斉一性

当試験場において作出された1組4頭の黒毛和種クローン子牛からゲノムDNAを採取し, 12種類の個体識別用マーカー(3.2×10⁷頭の個体識別が可能)を用いてマイクロサテライトDNA多型領域を解析した。その結果, すべてのマーカーにおいて対立遺伝子型が完全に一致し, 4頭の子牛は同一の遺伝子をもつことが証明された(森安ら, 1998)。しかし, 肉質, 乳量などの表現形質に飼料の種類, 給与量など環境要因がどのような影響をおよぼすのか明らかでないため, この4頭の子牛を同一環境で育成肥育した場合, 同一の表現形質を示すかどうかは不明である。

核移植はレシピエント卵子に複数の個体から採取した卵子を用いる。卵子は細胞質内に核のDNAとミトコンドリアDNAという2種類のゲノムをもつ。細胞小器官の一種であるミトコンドリアは細胞のエネルギー生産に重要な役割をもつが, ミトコンドリアDNAは個体ごとに異なる遺伝子配列を示す。個体にとって重要な遺伝情報は核内のDNAに含まれており除核の際に完全に除去されるが, 細胞質に散在するミトコンドリアDNAの除去は技術的に不可能である。しかも, クローン個体のミトコンドリアDNAはドナー細胞ではなくレシピエント卵子に由来することが解っている(武田ら, 1997)。このミトコンドリアDNAが個体の遺伝形質におよぼす影響については不明であるが, 肉質など一部の遺伝形質に影響をおよぼすとの報告がある(万年, 1997)。これらクローン個体の表現形質の斉一性に関する問題は, クローンの個体数が増えそれらの育成成績や肉質, 乳量の検定結果が数多く積み上げられることにより, しだいに明らかになってくるものと思われる。

2) テロメアの形状

真核細胞のDNAは複製時にDNA分子の末端部分を完全には複製できない。そのため, 染色体末端にグアニン(G)を連続して含む短い配列が何度も反復している部分(テロメア)をもち, その部分をテロメラーゼという酵素によって複製しDNA末端が短くなるの

を防いでいる。しかし、テロメラーゼの作用は正確でなく、DNA複製毎のテロメア配列の反復回数は一定ではない。しかも、細胞が分裂する度にテロメア配列の反復数は減少し、テロメアは徐々に短くなっていく。テロメアが一定の長さを維持できず短くなると細胞分裂が停止するため、細胞の分裂回数には限界がある。この細胞分裂の限界と個体の老化は密接に関係するといわれている。相当数の細胞分裂を繰り返してきた体細胞から作出されたクローン個体のテロメアがどのような状態にあるのかは明らかでない。レシピエント卵子の細胞質内でテロメア配列が付加されその長さを回復していることも考えられるが、回復していない場合、テロメアの形態によってはクローン個体の寿命が普通の個体よりも短い可能性もある。

3) 低い受胎率, 高い流産率

核移植胚の体外発生率は体外受精卵のそれと遜色ない成績が得られているのに対し、移植後の受胎率は低く、流産の発生頻度も高い。現段階ではクローン胚の受胎率および流産発生率に関して正確な数値は示されていないが、当試験場の成績を例にとると、初期胚核移植によって作出したクローン胚の受胎率はおよそ20%、流産率は30%にのぼる。当試験場では凍結保存したクローン胚の移植は今のところ行っておらず、すべて新鮮胚移植によるものであり、凍結胚を移植した時の受胎率は当然さらに低下することが予想される。クローン胚の移植は通常の胚移植と同様の方法で行われており、胚の移植法が低受胎の原因であるとは考えにくく、クローン胚自体になんらかの原因がある可能性は否定できない。インターフェロン α に代表される胚の受胎シグナルを指標としたクローン胚の着床能力の検討など分子レベルでのアプローチが原因解明の突破口になるのではと考えている。

高頻度の流産発生に関してもその原因は不明であるが、クローン胚の染色体異常がその一因として挙げられる。細胞融合後、ドナー細胞の染色体はレシピエント卵子内で物理的な負荷を受ける。負荷を最小限にするため活性化処理を行いMPFの活性を抑制させるが、ある程度の負荷が染色体に加わることは回避できず、それに起因して染色体異常が起こることが考えられる。染色体に異常をもつ胚は着床しても妊娠を維持することは困難である。クローン胚の流産は妊娠100日以内に多発する。そのため、胎子を含め受胎産物の回収は困難であるが、これら流産胎子の染色体検査および胎盤などの形態を調べることにより、流産に至る原因の特定が進むものと思われる。受胎率を上げ、流産の発生を抑制することはクローン個体の作出効率を高めることにつながるため、この点を視野に入れた技術改良も忘れてはならない。

4) 過大子

クローン産子の生時体重は通常の産子と比較して1割から2割大きい傾向にある(WILSON *et al.*, 1995)。すべての産子が過大子ではないが、当試験場においても黒毛和種で生時体重が64 kgを記録した産子もあった。体外受精由来産子においても過大化傾向にあり、これら過大子の発生要因として体外培養液に添加されている血清の影響が指摘されているが(WILSON *et al.*, 1995)、胚を体外で培養する行為自体の影響も否定できない。産子の過大化は、難産および要介助分娩の原因ともなり、クローン個体を損耗する危険性を高める。過大子の発生要因が特定できない現状では、ホルスタインなどの大型種もしくは経産牛に限定して胚を移植するなど受胎牛を選定し、分娩予定日数を大きく越えた場合には早めに分娩を誘起するなど、難産で産子を損耗しないための対策をとる必要がある。

5. 核移植技術の応用

核移植技術の進歩は目覚ましいものがあり、優良家畜の大量作出はもはや机上の空論ではない。また、核移植技術およびクローンは畜産分野のみならず医学分野においても注目され、応用されようとしている。

1) 畜産分野

核移植技術が畜産分野でもっとも有用性を持つ領域の一つに家畜の育種改良がある。家畜の改良は、現存する家畜の中から優れた個体同士を交配させることによって両親より能力の優れた個体を作成するという選抜育種を用いて行われてきた。選抜される集団のなかに能力の高い個体が数多くいるほど、多種多数の組み合わせが可能であり、家畜の改良は促進される。優れた個体の交配によってできた一つの胚から1頭の子牛を生産するよりも、初期胚核移植を用いて一つの胚から複数の子牛を生産する方が、次世代の選抜集団における選抜対象となる個体数を増加させる。この育種モデルは、優れた両親から作出された胚がその両親を上回る能力を持つことが前提となるが、作出された胚の全てが両親の能力を越えるとはかぎらず、胚の段階でその能力を見極めることは不可能である。結果的に両親より能力の劣る子供を複製した場合、それらは選抜の対象とはならない。体細胞核移植は個体そのものの複製を作り出すことが可能であるので、選抜対象となる子供が両親より優れた能力をもっていることが確かめられた段階でその子供を複製すれば、育種改良に貢献することが可能である。しかしながら、子牛の能力が確定し、さらにその個体のクローン胚が妊娠、分娩されるまでの期間はほぼ1世代の更新期間にあたるため、改良がその分停滞する。

核移植技術は種雄牛造成における能力検定などにも真価を発揮する。すなわち、胚移植を利用した能力検

定では全兄弟検定が一般的であるが、初期胚核移植によって作出されたクローンウシで検定を行えば、直接自分（と全く同じ能力を持つ個体）の産肉能力を検定することが可能であり、理論的にその正確度は兄弟検定を凌ぎ、検定期間も短縮できる。また、体細胞核移植によって高能力の雌畜を多数生産すれば、今まで雄側からの改良が中心であった育種改良を雌側からも押し進めることが可能となる。

家畜の抗病性は重要な育種対象項目であるが、抗病性の改良は膨大な選抜集団内で交配を繰り返し行われるため長い期間と労力を必要とする。しかし、病気の抵抗性に関連する遺伝子を特定し、単離することができればその遺伝子を直接家畜に導入することで、その病気に抵抗力をもった家畜を短期間のうちに作出できる。体細胞核移植技術は遺伝子導入（トランスジェニック）家畜の作出効率を飛躍的に高めることが可能なので、抗病性を持つ家畜の作出を選抜育種法よりも容易でしかも短期間で行う技術として期待されている。

家畜の飼養試験において、ある飼料を給与した場合の増体成績を検討する上で試験対象個体の遺伝的能力のばらつきは試験結果に少なからず影響をおよぼす。遺伝的能力の統一されたクローン個体を試験に用いることで、これらの要因を排除することができ、増体に対する飼料の影響がよりクリアーに現れることになる。肉質、乳量などの表現形質に飼料の種類、給与量など環境要因がどのような影響をおよぼすのか明らかでないことは先に述べたが、クローンを用いた試験によりこれらの要因の解明が進むものと思われる。

現在のところ、核移植技術は効率的な育種改良により家畜の生産性を上げることで生産現場に貢献するものであるが、将来、核移植技術が生産現場に直結した技術となった場合、飼養する家畜集団の遺伝的能力の統一や高能力集団の飼養を可能とし、家畜管理労力の低減、生産コストの削減に大きく寄与する。しかしながら、核移植技術を用いた無計画な遺伝的能力の均一化は結果的に遺伝子の多様性の幅を狭め、育種改良の素材を不足させることにもつながる。近親交配による各種能力の退化にも注意が必要である。

作出可能なクローンの数は制限されるが、両親よりも優れた個体を複製できる初期胚クローンと優れた個体の大量複製が可能な体細胞クローンを育種改良および飼養目的によって適切に使い分けることによって、畜産分野でのクローン技術の有用性がさらに高まることと思われる。

2) 医学分野

トランスジェニック技術は本来その個体が持たない遺伝子を外部から導入する技術であり、哺乳動物においては1980年代から盛んに研究が進められてきている。人工的に大量精製が困難である医薬品や有用タン

パク質などをトランスジェニック技術によって大腸菌や酵母に生産させる技術はある程度確立されており、産業的な発展をみせている。しかしながら、哺乳動物に特有の構造を持ち、その部分がタンパク質の生理活性を有している物質を大腸菌や酵母などで生産することは不可能であり、その場合トランスジェニックの対象は哺乳動物となる。トランスジェニックによって産生された物質が体内で循環し、個体の生命活動に影響を与えては意味をもたないので、家畜の乳汁に遺伝子産物を排出させる方法が注目され、ウシ、ヤギ、ヒツジなどのトランスジェニックが試みられてきた。哺乳動物のトランスジェニックは前核期受精卵の雌雄どちらかの前核に遺伝子を注入するマイクロインジェクション法が用いられるが、本法は遺伝子導入効率が1%以下と低く、1頭のトランスジェニック個体を作成するために膨大な数の受胎雌を必要とする。培養細胞に遺伝子を導入し、薬剤耐性マーカーによって実際に遺伝子が導入された細胞を選別する技術は確立されており、体細胞核移植によって遺伝子導入が確認された細胞から個体を作成すればトランスジェニックの作出効率は飛躍的に高まる。すでに体細胞核移植によってヒト血液凝固因子を産生するトランスジェニックヒツジが誕生している(SCHNEIKE *et. Al.*, 1997)。今後、さらにこの技術が進歩すれば、一部の人間には有害なアレルゲンとなるラクトグロブリンが除去された牛乳や、免疫増強に効果のあるラクトフェリンの入った牛乳の生産が可能となり、薬用牛乳なるものが市場にすることも十分にあり得る。

トランスジェニックは医薬品ばかりでなく、ヒトの疾患モデル動物の作製やヒトへの臓器移植用ブタの作出にも応用されようとしている。ブタの臓器は生理機能や大きさがヒトに類似しており、ヒトのドナーが見つかるまでの代用臓器の提供源として有力な候補である。臓器移植後の拒絶反応が起きないように免疫反応を抑制する遺伝子を組み込んだブタの開発に体細胞核移植技術の利用が検討されている。しかし、ブタでは体外受精や胚の体外培養法が様々な理由(NIWA, 1993)により確立されておらず、ブタにおける核移植技術はウシと比較してかなり遅れている。今後、ブタにおける核移植技術は利用目的の重要性からかなりの勢いで進展すると思われる。

6. 結 語

核移植技術によって作りだされるクローンの現状と応用に関して述べてきたが、特にクローンの応用に関しては理論がかなり先行しており、その実証が待たれる項目をかなり含んでいる。しかし、それはクローン家畜に対する各分野からの期待の表れでもある。それらを実証するためには核移植の技術改良がまだまだ必要である。とかくセンセーショナルに扱われる感のあ

る核移植技術であるが、地道な技術改良とデーターの積み上げによって発展普及していくという点では、人工授精や体外受精など他の生殖制御技術となら変わる技術ではない。また、本文にはあえて記さなかったが、核移植技術の利用が生命倫理の承認とともになされる必要があることは言うまでもない。

農林水産省技術会議の発表によれば平成10年8月現在、我が国において誕生、生育している体細胞クローンウシは5頭であり、その他71頭が分娩を控えている。今後、これらのクローンを用いてどのような研究を行うのか、また、これからどのような目的でクローンを作成するのか、しっかりとした目的をもつことが、クローンのもたらす恩恵を最大限受けるために重要である。

文 献

- CAMPBELL, K. H. S., W. A. RITCHIE and I. WILMUT (1994) Improved development to blastocyst of ovine nuclear transfer embryos reconstructed during the presumptive S-phase of enucleated activated oocytes. *Biol. Reprod.*, **50**: 1385-1393.
- CAMPBELL, K. H. S., L. PASQUALINO, P. J. OTAEGUI and I. WILMUT (1996) Cell cycle co-ordination in embryo cloning by nuclear transfer. *Rev. Reprod.*, **1**: 40-46.
- ITO, H., Y. AOYAGI, M. KONISHI, H. ITAKURA, T. TAKEDOMI, S. YAZAWA and K. AKANE (1998) Nuclear transfer of bovine embryonic disc cells. *Theriogenology*, **49**: 322.
- 万年英之 (1997) 黒毛和種牛のミトコンドリア DNA D-loop 領域の多型と枝肉成績との関係. 全国和牛登録協会会誌, **200**: 39-49.
- 森安 悟・澤井 健・陰山聡一・南橋 昭・芦野正城・北野則泰・藤川 朗・山本裕介 (1998) 胚細胞由来クローン牛の複数頭生産と DNA マーカーによる同一性の検討. 北海道牛受精卵移植研究会会報, **17**: 29-32.
- NIWA, K (1993) Effectiveness of in vitro maturation and in vitro fertilization techniques in pigs. *J. Reprod. Fertil.*, **48**(Suppl): 49-59.
- PRATHER, R. S., F. L. BARNES, M. M. SIMS, J. M. ROBL, W. H. EYESTONE and N. L. FIRST (1987) Nuclear transplantation in the bovine embryo: assessment of donor nuclei and recipient oocyte. *Biol. Reprod.*, **37**: 859-866.
- SCHNEIKE, A. E., A. J. KIND, W. A. RITCHIE, K. MYCOCK, A. R. SCOTT, M. RITCHIE, I. WILMUT, A. COLMAN and K. H. S. CAMPBELL (1997) Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from fetal fibroblasts. *Science*, **278**: 2130-2133.
- 高橋清也・窪田 力・中原 仁・志水 学・徳永智之・山口 学・今井 裕 (1998) 牛胎児線維芽細胞を用いた核移植胚の体外発生能. 第94回日本畜産学会大会講演要旨, 176.
- TAKANO, H., C. KOZAI, Y. KATO and Y. TSUNODA (1997) Cloning of bovine embryos by multiple nuclear transfer. *Theriogenology*, **47**: 1365-1373.
- 武田久美子・高橋清也・大西 彰・後藤裕司・宮澤 彰・今井 裕 (1997) 牛核移植産子のミトコンドリア DNA の由来. 第92回日本畜産学会大会講演要旨, 208.
- WILLADSEN, S. M. (1986) Nuclear transplantation in sheep embryos. *Nature*, **320**: 63-65.
- WILMUT, I., A. E. SCHNEIKE, J. MCWHIR, A. J. KIND and K. H. CAMPBELL (1997) Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, **385**: 810-813.
- WILSON J. M., J. D. WILLIAMS, K. R. BONDIOLI, C. R. LOONEY, M. E. WESTHUSIN and D. F. MCCALLA (1995) Comparison of birth weight and growth characteristics of bovine calves produced by nuclear transfer (cloning), embryo transfer and natural mating. *Anim. Reprod. Sci.*, **38**: 73-83.