

# クローン家畜の可能性

初期胚から一卵性の個体を多数作る技術はすでにあるが  
優良家畜のコピー個体を生み出す技術は品種改良をさらに加速させるだろう

角田幸雄／加藤容子（近畿大学）

1997年2月27日付の*Nature*誌に英国ロスリン研究所のウィルムート（Ian Wilmut）らが、いわゆるクローンヒツジのドリーを得たことを報告した。成体のヒツジの体細胞の核を別のヒツジの卵細胞に核移植して、発生させた子ヒツジがドリーである。この報告は、2つの観点から大きな話題となった。

1つは、この技術がすぐにでも人間に応用され、クローン人間が作られるのではないかとの危惧からくるもので、世界中で大議論を巻き起こした。もう1つは、「成体の体細胞の核も個体への発生能力（全能性）をもつ」ということを高等動物の哺乳類で証明した点で、この学術的意義はきわめて大きかった。長年にわたるカエルの研究でも成功していなかったからだ。

すぐに米国でウシを用いた追試がされたが、ウィルムートらの報告を再現できず、一時はその成功を疑問視する見方もあった。しかし、1998年7月にウシでの私たちの成功例が報道され、またマウスでの成功例が*Nature*誌に発表されたことから、哺乳類の体細胞核の少なくとも一部は個体への発生能力をもっていることが明らかとなった。

核移植技術は本来クローンヒツジやクローンウシを作ったり、ましてやクローン人間を生み出すために開発された技術ではない。動物における発生や分化の仕組みを解明するための1つの

技術として開発されてきたものだ。一方で、この技術の家畜の育種や改良に応用しようとする実用的研究が始まっている。ここでは、核移植の歴史を振り返りながら、日本における体細胞クローン研究の現状を紹介してみたい。

## 核移植の黎明期

動物での核移植は、1952年にさかのぼる。ブリッグス（R. Briggs）とキング（T. J. King）がヒョウガエルの胞胚（初期胚の1段階）の核を、染色体を取り除いた未受精卵に注入し、オタマジャクシを得たのが最初の報告である。

1962年には英国のガードン（John B. Gurdon）がオタマジャクシの小腸上皮細胞の、またコーベル（H. R. Kobel）らが表皮細胞の核移植によってそれぞれ正常なカエルを得ている。これらの結果から、発生や分化に伴って個体を作り出すために必要な遺伝子セットは、受精卵以降も、基本的には失われていないと考えられるようになった。しかしその一方で、オタマジャクシではなくカエルの肝臓、肺、腎臓、小腸などの細胞からの核移植では、オタマジャクシにはなるが、変態してカエルにはならないことが明らかにされている。

哺乳類では、発生が雌の体内（生殖器官内）で起こる、初期胚の大きさが直径約0.1mmと両生類に比べて小さいなどの理由から、核移植はなかなか成

功しなかった。初期胚の採取、培養、核の移植方法などの関連技術が確立し、これを受けての最初の成功例は1983年まで待たなければならなかった。このときはマウスだった。

マウスでは、受精卵が2回分割しただけの4細胞期胚の核移植でも、移植卵はまったく発生しなかった。これに対してヒツジやウシなどの家畜では、受精卵が3回分裂した8細胞期胚や、その後の桑実期胚の細胞の核移植によって正常な子ヒツジや子ウシが得られることが明らかとなった。この技術を使って、家畜の育種改良や優良家畜の増産を目指した研究が始まった。

日本では、初期胚の細胞をドナー細胞とした核移植によって、1991年に最初の子ウシの誕生が報告された。これまでに400頭近い子ウシが生産されている。1個の胚から得られた一卵性子ウシは日本では最大6頭である。

## 産まれる子の数を増やすために

得られる子ウシなどの数を増やすために、1つの初期胚の細胞をドナー細胞として核移植を数回繰り返す継代核移植、初期胚や胎子あるいは成体由来の培養細胞をドナー細胞として用いる核移植が行われている。

継代核移植は、1回の核移植で得た卵を初期胚まで育て、その細胞をまたドナー細胞にする方法だ。私たちが、

核移植を3回繰り返し、1個の胚から最大43個の胚を複製しているが、雌ウシに移植後、子ウシとして生まれたのは2頭にとどまっている。なお、スタイス(S. L. Stice)らはこの方法を使って10頭の一卵性子ウシを得ており、これが産子数の限界と思われる。

培養細胞をドナー細胞に使う方法では、起源の異なる3タイプの細胞が使われている。1つ目は、初期胚である胚盤胞のうち、将来個体を形成する予定の細胞群であり、ヒツジで確実な成功が報告されている。この報告はドリーの誕生に成功したウィルムートのグループが1996年に発表したもので、生まれた子ヒツジはメーガンとモラッグと名付けられている。その後、別のグループがウシでの成功例を報告している。

2つ目は、オタマジャクシに相当する胎子の体細胞を用いる方法である。これもウィルムートらが、妊娠26日目のヒツジ胎子組織から細胞を採取し、継代培養後に核移植に用いて、3頭の子ヒツジを得ている。

欧米諸国では胎子の体細胞由来のクローン家畜を作って、育種や改良を進めるといふよりもむしろ、医薬品などを生産するトランスジェニック家畜を効率よく作ることを目指した研究が行われている。1998年には、ヒト血液凝固第4因子を生産するトランスジェニック・クローンヒツジや他の外来遺伝子を導入したウシが報告されている。日本でも、胎子体細胞からの培養細胞の核移植によって数例の子ウシが作られているが、これまでのところ分娩直後に死亡する例が相次いでいる。

**クローンウシ** 成体のウシの体細胞由来のクローン子ウシ。クローン胚を石川県畜産総合センターに依頼して雌牛に移植した。向かって右の2頭が1998年7月5日生まれ、左の2頭は8月8日生まれ。

3番目が、成体より採取した培養細胞を用いる方法である。クローンヒツジのドリーはこの手法で生まれた。ほかにもマウスや、後で紹介するように、私たちをはじめとする日本でのウシの成功例がある。

### 同世代のクローンと親子のクローン

初期胚そのものや初期胚由来の培養細胞、胎子の体細胞由来の培養細胞を用いて得られる産子は、複数の個体を得られた場合、核内の遺伝子組成に関する限りすべて同一であり、一卵性の双子や三つ子などに相当する。一方、初期胚や胎子の両親とは、遺伝的には通常の親子関係にある。両親の形質が優れているからといって、子も優れている保証はなく、逆に「トンビが鷹を生む」こともありうる。

これに対して、成体の体細胞の核移植で得られる産子の核内遺伝子の組成は、細胞を採取した個体(ドナー個体)と同一であり、遅れて生まれてきた一卵性の双子と考えられる。遺伝的な形質に限れば、ドナー個体と産子は同じである。

同世代のクローンにしても、世代の

違うクローンにしても、動物の形質は、遺伝子と環境の両方によって決まることから、核内の遺伝子組成が同じだからといって、肉質や乳量などの経済形質が同じになるという保証はない。現在、こうした形質がどの程度似ているかの研究も進められている。

### より経済価値の高いウシで

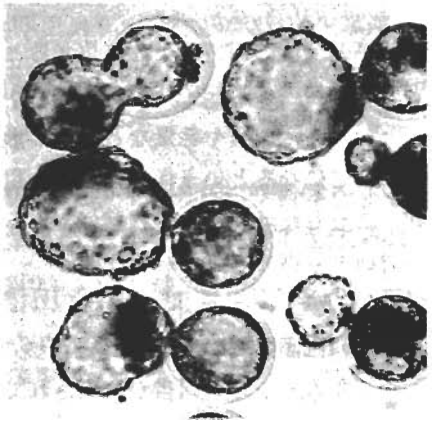
ウィルムートらの報告が発表されて以来、欧米諸国ではより経済価値の高いウシを用いて、体細胞クローン個体作りに関する研究が進められてきた。

私たちは、農水省傘下の生物系特定産業技術研究推進機構の研究費を1997年度より受けて「継代培養細胞を用いた家畜繁殖技術の開発に関する基礎的研究」を実施している。幸い、1998年7月5日に成ウシ体細胞の核移植による最初の子ウシを誕生させることに成功した。日本ではこれまで、私たちやほかのグループにより15頭の成体体細胞由来の子ウシが生まれている(下の写真)

私たちの方法は、まず、と畜場で成ウシの種々の部位から組織を採取し、培養細胞株を樹立する。ついで、培養液に加える血清濃度を通常の10%から



近畿大学農学部畜産学教室



**クローン胚** 成体のウシの体細胞をドナー細胞、ウシの卵子をレシピエント細胞質として核移植した後、培養して、胚盤胞期にまで発生させたもの。これを雌ウシに移植して、体内で順調に育てば、クローンウシの誕生となる。

0.5%に低下させて飢餓状態として、核の細胞周期を休止期に同調させ、これをドナー細胞として使う。

核移植を受ける細胞質（レシピエント卵細胞質）は、と畜場由来の卵巣から採卵した未成熟卵を体外で培養して成熟させておき、染色体をガラス針で

除去したものをを用いる。つぎに、1個のドナー細胞をレシピエント卵子の卵細胞腔へ注入し、直流電流を短時間与えて両者を融合させ、体外で胚盤胞期へ発生させる（左の写真）。

これらの发育した胚を石川県畜産総合センター、栃木県酪農試験場、愛知県畜産研究所、熊本県畜産研究所などへ運んで受胎ウシへの移植を依頼した。その結果、これまでに合計11頭の子ウシの作出に成功している。

**クローンの研究はなぜ必要か**

成ヒツジ体細胞からの子ヒツジが生まれたことが報告された直後から、この技術はクローン人間の誕生につながるのではないかと危惧からその是非をめぐって大きな議論をよんだ。日本でも、科学技術会議や学術審議会に設置された委員会やワーキンググループで討議が重ねられてきた。

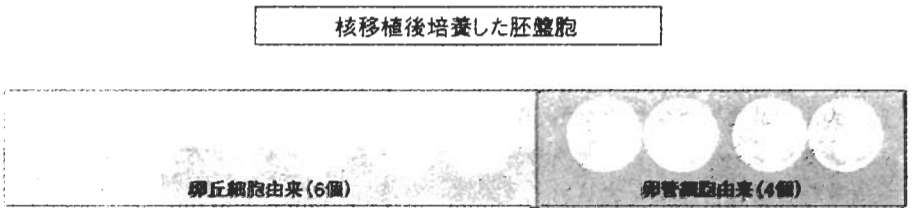
1998年7月3日付で学術会議バイオサイエンス部会から「大学におけるクローン研究について」という報告が出

され、ヒトにおけるクローン個体の作出は行わないこと、動物における研究は新たな規制を設ける必要はなく一層推進することが表明されている。

その報告をうけて、文部省は8月31日付でヒトのクローン個体の誕生を目的とした研究またはヒトのクローン個体の誕生をもたらすおそれのある研究はしないことを明記した告示第129号「大学等におけるヒトのクローン個体の作製についての研究に関する指針」をだしている。また、科学技術会議生命倫理委員会からも同じ趣旨の中間報告が1998年6月15日付で出ている。

クローン動物の作出は、カルス培養を用いるクローン植物の場合とは異なっており、核移植技術が使われる。しかし、前述のように、核移植技術は本来クローン個体を作るために開発された技術ではなく、核の発生能を追求するための技術として開発されてきたものである。カエルとは異なり、成体の体細胞の少なくとも一部は個体への発生能（全能性）をもつこと、いいかえると分化細胞核から全能性を誘導（初期化）できることが明らかとなった。

しかし、分化した細胞核がどのような機構で初期化されるのかは全く不明である。また、得られた個体の寿命、生理的特性や生殖能力の有無についてもまだ不明な点が多い。分化細胞核を操作して個体を作る過程で得られる知見は、分化、老化あるいはガン化機構



核移植後培養した胚盤胞

卵丘細胞由来(6個)

卵管細胞由来(4個)

雌ウシ5頭へ移植(1997年11月13日)

		分娩					
		8頭のクローン子ウシ誕生					
		双子		双子		双子	
		ウシ1	ウシ2	ウシ1	ウシ2	ウシ1	ウシ2
細胞の由来		卵管細胞	卵丘細胞	卵丘細胞	卵丘細胞	卵管細胞	卵管細胞
誕生日		1998.7.5	1998.7.29	1998.7.30	1998.8.8	1998.8.8	1998.8.19
妊娠日齢		242日	266日	267日	276日	276日	287日
生時体重(kg)		18.2	17.3	32.0	17.3 34.8	23.0	27.5 30.1
備考		生存	生存	死亡(3日後)	死亡(当日)	生存	生存 死亡(当日)

**高い成功率のカギはドナー細胞の種類**  
 著者たちは10個の核移植卵を、石川県畜産総合センターの協力を得て5頭の雌ウシに2個ずつ移植した。このうち、8個が子ウシの誕生まで发育し、4頭は元気な子ウシに育っている。死亡した4頭にも先天的な異常はなかった。ウィルムート (Ian Wilmut) のグループのドリーは、29個の核移植卵から得られた唯一の子ヒツジであることを考えると、極めて高い成功率といえる。ドナー細胞に、ウシの体内で卵と接触している卵丘細胞や卵管細胞を使った点が、成功率アップのカギになったと考えられている。

などの生命現象を理解するための基礎研究の推進に大きく貢献するだろう。

一方、哺乳類で核移植が可能になると、この技術を家畜の育種・改良に応用するための研究が始まっている。人間は、これまで長い年月をかけて経験に基づいて試行錯誤を繰り返しながら、食用として、崇拜用として、あるいは愛玩用としての目的に合うように動物の改良を進めてきた。

18世紀後半になって人口が増加するに伴い、育種理論に基づいて生産性の高い品種が作りだされてきた。しかし、生まれてくる子ども数が少なく、妊娠期間の長い、また成熟時期の遅い家畜ではなかなか改良が進まなかった。そこで20世紀に入って、家畜の育種、改良技術として開発されたのが人工授精技術と受精卵移植技術である。

人工授精技術は、雄と雌を交尾させるのではなく、まず、人間が精液を採取し、希釈後凍結保存し、融解して多数の発情中の雌へ注入する技術である。1頭の雄ウシを使って1年間に授精できる雌ウシは2万頭をこえることから、人工授精技術が開発されたことによってウシの育種、改良は大きく進んだ。

人工授精技術は、望ましい雄の子どもを増やすだけだが、雄親も雌親も優れていれば、それに越したことはない。受精卵移植技術は、望ましい両親の子どもを一度に多数得る技術である。優

れた雄と交配または人工授精させた優れた雌から、多数の受精卵を採取し、他の雌に移植する。

この方法の難点は、1頭の雌ウシから1年間に採取できる正常な初期胚は通常20個以下であるため、人工授精と同じように効率的に家畜の改良はできない。そこで、受精卵移植技術の効果を高めるため、一度に2頭の子ウシを生産する技術、一卵性双子を作る技術、体外で受精卵を作る体外受精技術、産子の性をコントロールする技術などの新しい技術が次々と開発されてきた。

成体体細胞の核移植によるクローン個体作出技術もそうした技術の1つである。細胞を採取した個体と同じ核内遺伝子組成をもつ子が生産できることから、家畜の育種、改良のための新しい技術となることが期待されている。また、ヒトの医薬品を生産するためのトランスジェニック動物の作出にも応用できると考えられる（I. ウィルムート「医療を変えるクローン技術」36ページ）。

以上のように、動物のクローン研究は今後一層推進していく必要性が高い。一方、これらの研究に対する一般の関心は高いことから、学術論文として公表されて研究のオリジナリティーが確保された内容は、ホームページなどを通じて広く公開していく必要があると考えられる。

著者 角田幸雄（つのだ・ゆきお）／加藤容子（かとう・ようこ）

角田は近畿大学農学部農学科畜産学教室の教授、加藤は近畿大学動物発生工学研究所の講師で、ともに農学博士。哺乳類細胞の核が、個体に発生する能力について興味をもち、1998年7月に成体の体細胞由来のクローンウシを生み出すことに成功した。

#### 関連図書・文献

EIGHT CALVES CLONED FROM SOMATI CELLS OF A SINGLE ADULT. Yoko Kato et al. in *Science*, Vol. 282, pages 2095-2098; December 11, 1998.

「クローン動物はどのようにして作られるか」角田幸雄、加藤容子。『化学と生物』Vol. 36, pages 572-577; 1998年9月号、学会出版センター

「日本のクローン技術 その現在と未来」角田幸雄、加藤容子。『科学』Vol. 68 pages 679-681; 1998年9月号、岩波書店

著者たちの研究の最新情報や関連記事をインターネットのホームページで公開している。URLは <http://www.nara.kindai.ac.jp/nogaku/chikusan/graduate.htm>

## 平成11年度 科学技術振興調整費 によるゲノムフロンティア開拓研究 推進制度及び 目標達成型脳科学研究推進制度 新規課題募集開始のお知らせ

科学技術庁において、上記制度についての募集を下記のとおり行います。詳しい情報については、科学技術庁ホームページ (<http://www.sta.go.jp>)の最新情報のコーナーに掲載しておりますのでご覧ください。

### 制度の概要

#### 1. 募集対象とする研究

●ゲノムフロンティア開拓研究推進制度  
ゲノム情報科学、遺伝子多型・遺伝子発現プロファイルの体系的解析に係る研究や、ゲノム科学に必要な独創的技術開発であって、複数機関が連携して取り組むべき研究開発課題。

#### ●目標達成型脳科学研究推進制度

脳型情報処理システム・デバイス等の開発を目指す「脳を創る」領域、脳の構造・機能の解明等を目指す「脳を知る」領域及び脳の発達障害・老化制御、精神・神経障害の修復等を目指す「脳を守る」領域の研究であって、複数機関が連携して取り組むべき研究開発課題。

#### 2. 参加可能な研究機関

国立試験研究機関及びこれに準ずる機関、大学、公設試験研究機関並びに民間研究機関等。

#### 3. 予算規模・研究期間

1課題当たり約2億円/年程度。原則として5年間（ただし、研究開始後3年目に中間評価を行い、評価結果によっては研究を打ち切ることがあります）。

#### 4. 課題の選定

書類審査及びヒアリング審査により選定します。

### 公募の予定

募集期間 平成11年2月26日（金）  
17：00時必着

研究課題選定 平成11年3月

### 応募様式

平成11年度新規課題募集要綱にしたがって応募書類を作成の上、提出してください。

#### 問い合わせ先/提出先

科学技術庁 研究開発局 ライフサイエンス課  
担当：森下、祖川、椎葉

TEL.03-3581-5250  
FAX.03-3506-1960  
E-mail : raifu@sta.go.jp

<資料請求番号47>