

通し番号	3865
------	------

分類番号	13・57・22・11
------	-------------

(成果情報名) クローン牛の新たな作出技術の開発	
<p>[要約] 核移植により生産した胚を複数個集合して、1胚あたりの細胞数を増加させることで、形態的に胚の品質向上を図り、受胎率の改善及び正常なクローン家畜の生産が可能であるかを検討した。3つの胚を集合した核移植集合胚(166.3)の細胞総数は、生体由来胚(179.9)とほぼ等しく、体外受精胚(108.3)、核移植胚(122.5)より多く、形態的に良質な胚であると判断された。また、5頭の受胎牛に移植を行った結果、4頭が受胎し(受胎率80%)、2頭のクローン牛を得ることができた。</p>	
(実施機関・部名) 畜産研究所・畜産工学部	連絡先 046-238-4056

[背景・ねらい]

現在の手法で作成された核移植胚からのクローン産子作出効率は極めて低い。これは生体由来胚に比較して受胎率が低く、流産の発生率が高いことが主な原因である。特に受胎率が低い要因として、従来の核移植技術により作成された胚は、同齢の成体由来胚に比較し細胞数が少ない点が挙げられる。そこで、本研究では、クローン胚に細胞集合法を応用することで細胞数を増加させ、受胎率の改善を試みた。

[成果の内容・特徴]

- 1 核移植成績は、核移植胚で64.2%の発生率に対し、集合を行った胚はすべてが発生し、発生率は100%であった。
- 2 核移植集合胚は、生体由来胚と比較しほぼ同等の細胞数の構成であった。核移植集合胚の特徴として、通常の核移植胚に比較し、明瞭な内部細胞塊を有していた
- 3 集合を行わない核移植胚は、3頭に移植し受胎例は得られず、核移植集合胚は、5頭中4頭受胎し、高い受胎率を示した。
- 4 受胎した個体は2頭流産し、2頭分娩に至り、ドナー及び産子間での遺伝的同一性が確認されクローンであることが実証された。

[成果の活用面・留意点]

- 1 集合することで、生体由来胚と同程度の細胞数を持つ核移植胚を作成することができ、また、通常の核移植胚に比較し、飛躍的な受胎率の改善を行うことが出来た。
- 2 胚の発生率の改善により、移植可能な胚生産数の増加が期待できる。
- 3 流産率、正常産子生産率の改善について検討する必要がある。

[具体的データ]

表1 融合率及び分割率

電気融合率 (融合数 ₁ /処理数 ₂)	分割率 (分割数 ₃ /融合数 ₁)
345/526 (65.6%)	233/254 (91.7%)

1: 融合成功胚数 2: 電気融合処理胚数 3: 2分割胚数

表2 発生率

集合の有無	供試胚数 ₄	発生数	発生率
無	67	43	64.2%
有 ₅	32	32	100.0%

4: 分割胚 5: 3胚を集合

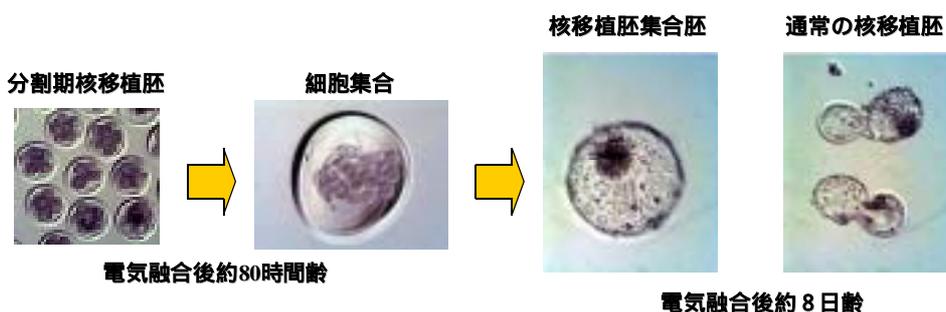


図2 核移植集合胚及び核移植胚の形態

表3 胚の細胞数(構成比)

細胞	生体由来胚	体外受精胚	核移植胚	核移植集合胚
内部細胞塊	59.4±15.6 ^a (33)	239±8.1 ^b (22)	30.8±10.6 ^b (25)	40.0±15.6 ^{a,b} (24)
栄養細胞	120.4±24.3 ^{c,d} (67)	84.4±22.6 ^c (78)	91.7±16.0 ^{c,d} (75)	126.3±29.7 ^d (76)
総数	179.9 ^e	108.3 ^f	122.5 ^{f,g}	166.3 ^{e,g}

n=10 異符号間に有意差あり (TUKEY, p<0.05) ()内は比率を表す

表4 移植成績

集合の有無	移植頭数	受胎頭数	受胎率
無	3 ₂	0	0%
有 ₁	5 ₃	4	80%

1: 3胚集合 2: 1頭2胚, 2頭1胚移植移植
3: 1胚移植



図3 生産されたクローン牛

[資料名] 平成13年度試験研究成績書 (繁殖工学・乳牛・肉牛・飼料作物)

[研究課題名] クローン牛の新たな作出技術の開発

[研究期間] 平成13~14年度

[研究者担当名] 橋村慎二・田中嘉州・仲沢慶紀・岸井誠男