

## 2．体細胞クローン生産技術の確立に関する研究

### （1）体細胞クローン牛の遺伝的相同性調査

Investigation on the genetic homology of the somatic cloned Japanese Black cattle

志賀一穂 久々宮公二 志村英明 梅木英伸 藤田達男

#### 要 旨

体細胞クローン牛とそのドナー牛および体細胞クローン牛間の相似性を調べるため、牛の筋肉組織由来体細胞クローン牛で、種雄牛「糸福」の体細胞クローン牛「第3夢福」と「第4夢福」、肥育去勢牛「勝福」の体細胞クローン牛「福光2」と「福光4」を11か月齢より29か月齢までの18か月間肥育し、それらの肥育期間における発育と屠殺後の産肉成績を調査し相似性を検討した。

「糸福」の体細胞クローン牛である「第3夢福」と「第4夢福」の肥育期間における発育は、体重・体高ともに肥育開始時は発育標準の下限以下であったが、以降良好な発育を示して終了時には上限を越す発育を示し、発育値は2頭が良く相似していた。また、これら2頭は屠殺後の産肉形質も良く相似し、優れた産肉成績を示した。一方、肥育牛由来の体細胞クローン牛「福光2」と「福光4」は、2頭間での肥育中の発育に相似性が見られなかった。これは福光2が生時から前肢の変形が見られたことから、発育に大きく影響したことによるものであり、屠殺後の産肉形質も比較ができなかった。

以上のように、2頭の異なる体細胞由来の体細胞クローン牛間の肥育後の相似性について調べたが、種雄牛由来体細胞（糸福）の体細胞クローン牛は、ドナー種雄牛自身が発育性・産肉性成績で選抜された種雄牛であることから、体細胞クローン牛の発育成績並びに産肉成績も優れており、これらの体細胞クローン牛間の相似性が高かった。しかし、肥育牛由来体細胞のクローン牛は、供試した体細胞クローン牛の1頭に前肢の変形等があったことから相似性の比較はできなかったが産肉性は良好であった。今後、「福光」の体細胞クローン牛の相似性調査のため、体型に異常のない供試牛による調査がさらに必要である。

（キーワード：体細胞クローン牛、相似性、産肉性）

#### 背景及び目的

体細胞クローン牛生産技術は、既に能力の明らかな牛のコピー（クローン）を生産できることから新しい畜産技術として脚光を浴びている。しかしながら、生産した体細胞クローン牛と細胞を採取したドナー牛、また、体細胞クローン牛間の相似性または同一性について検討を要している。これまで、当場で生産した「糸福」の体細胞クローン雄牛の「夢福、第2夢福、夢福3、夢福4、福光2、福光3、福光4」を使い、DNA マーカーによる同一性判定<sup>1)</sup>、育成時の発育の相似性<sup>1)</sup>や「糸福」との直接検定における成績の相似性について調べ<sup>2)</sup>、高い相似性を示すことを明らかにしてきた。また、「糸福」と「夢福」

「第2夢福」の精液は、体外受精に用いた場合、3頭ともに人為的受精能獲得処理法において、カフェインよりテオフィリン処理が胚盤胞発生に適しており相似性を認めた<sup>2)</sup>。

本試験では、肥育における体細胞クローン牛間の発育および屠体の相似性について検討した。

#### 材料及び方法

本試験に用いた試験牛は、既報<sup>3)</sup>の12歳の「糸福」の胸最長筋を培養して増殖させた体細胞（線維芽細胞）をドナー体細胞として作出したクローン牛「第3夢福（生時体重38.0kg）、第4夢福（生時体重

48.0kg）」、そして28か月齢の去勢肥育牛を屠殺後採取した頬筋組織を培養して増殖させた体細胞（線維芽細胞）をドナー体細胞として作出したクローン牛「福光2（生時体重38.0kg）、福光3（生時体重25.0kg）、福光4（生時体重35.5kg）」を供試した。「福光2」、「福光3」は生時から前肢の変形があり、「福光3」は肥育試験7か月ころから歩行に異常が見られ肥育11か月（21か月齢）で試験を中止した。これら試験牛は4か月齢で去勢し、11か月齢より18か月間肥育試験を行った。なお、肥育は、供試牛の生年月日が離れていたため、個別に肥育を行った。

表1 肥育試験における飼料給与方法

肥育期間	1	2	3	4	5	6
濃厚飼料	3.5	4.0	5.0	6.0	7.0	7.5
粗飼料	3.0	7.5	7.0	6.0	4.5	3.5
肥育期間	7	8	9	10	11	12
濃厚飼料	8.5	9.0	9.5	9.5	9.5	9.5
粗飼料	3.5	3.0	1.5	1.5	1.5	1.5
肥育期間	13	14	15	16	17	18
濃厚飼料	9.5	8.5	8.0	8.0	8.0	8.0
粗飼料	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

1-5月:とよのくに(前期) (TDN73%)  
 (濃厚飼料) 5-18月:とよのくに(後期) (TDN74%)  
 10-18月:仕上げ用(TDN76.5%)

1-18月ジャンボリー  
 (粗飼料) 1-7月:ハイキューブ  
 1-18月:種ワラ

肥育における飼料の給与は「とよのくに肥育マニュアル（前倒し法）」により行った（表1）。肥育試験中は毎月1回体重・体高・胸囲の測定を行い、期間中の発育について調査した。肥育試験終了後、屠殺して冷屠体調査を行い、産肉成績を調べた。

結果及び考察

図1には供試した2頭の夢福クローン牛と福光3頭（福光3は除外）の9か月齢までの体重の増加状況を示した。双方のクローン牛で「福光4」の1頭を除き、他の4頭は生時から7か月齢まで発育標準（和牛登録協会編：2004、4か月齢まで雄で5か月～9か月齢は去勢の値）の下限値以下で発育し、「夢福」クローン牛2頭は、8か月齢から急に体重が増加し始めた増加量が大きくなった。しかし、「福光」の2頭は下限値以下が改善されなかった。「福光4」は初期から発育標準の上限値の近くを推移し、「福光」クローン間で約80kgの体重差が観察された。これは、

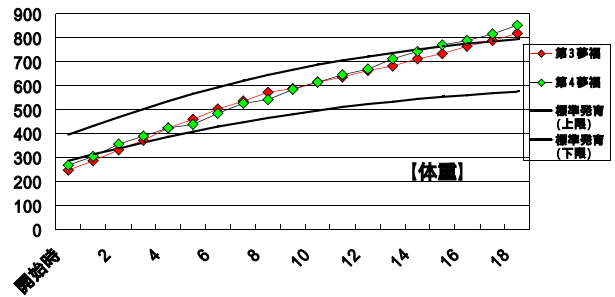


図2 体細胞クローン牛(夢福)の肥育時の発育

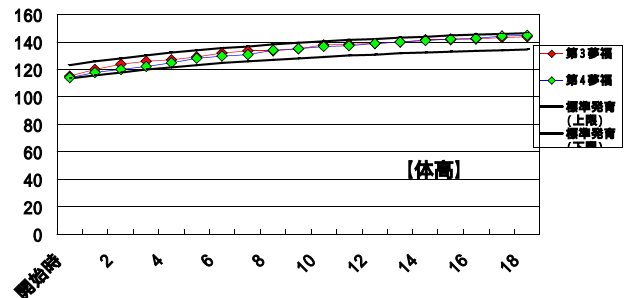


図3 体細胞クローン牛(夢福)の肥育時の発育

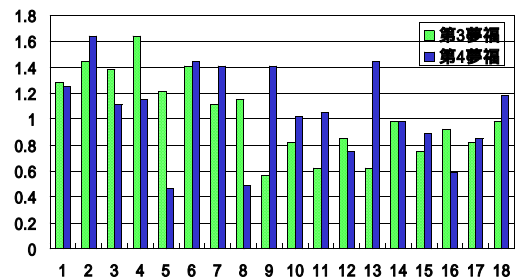


図4 「夢福」クローン牛間のD.G.の推移

「福光2, 3」が、前肢の変形があり、このことが発育に影響したものと考えられた。

図2、図3、図4に肥育期間における「第3夢福」「第4夢福」の発育について示した。体重および体「福光2, 3」が、前肢の変形が有り、このことが発育に影響したものと考えられた。

図2、図3、図4に肥育期間における「第3夢福」「第4夢福」の発育について示した。体重および体高共に良く相似した発育を示し、肥育開始時の発育値は標準発育下限を下回っていたが、肥育10か月前

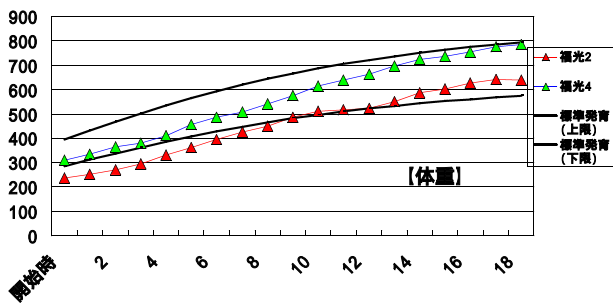


図5 体細胞クローン牛(福光)の肥育時の発育

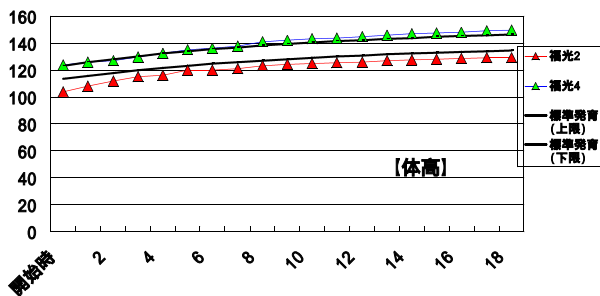


図6 体細胞クローン牛(福光)の肥育時の発育

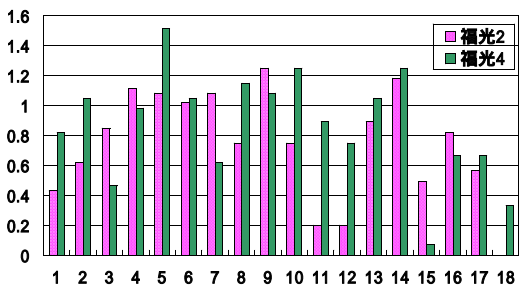


図7 「福光」クローン牛間のD.G.の推移

後で平均値を肥育後期には上限値に近づきて発育した。体重は終了時には上限値を上回っていた。肥育期間中の1日増体量（D.G）の推移は、「第3夢福」と「第4夢福」双方で期間中に違いが見られるが、累積のD.Gはそれぞれ1.04kgと1.06kg増体成績が優れ、良く相似した値が得られた。また、双方共に終了時のD.Gは1kg以上を示しており、まだ更に増体が期待できる状況にあった。

図5、図6、図7には「福光2」「福光4」の肥育期間における発育を示した。双方に開始当初から発育に差があり、体重は「福光4」は、標準発育下限から終了時には上限に近づく発育を示したが、「福光

2」は、開始時標準発育下限値を大きく下回った発育から始まり、徐々に肥育中期の10～11か月で下限値に近づき、終了時にかけて下限値をやや上回る発育を示し「福光4」と違いが見られた。また、体高についても、「福光4」は発育標準の上限前後を、また、「福光2」は開始から終了まで下限値以下で推移し、双方の相似性は見られなかった。肥育期間中のD.Gの推移は、「福光4」が優れており、期間中の累積D.Gは、「福光2」「福光4」それぞれ0.73kgと0.87kgであった。

「第3、第4夢福」の肥育終了時前の体型を図8に示した。背腰がしっかりした体型で、外見上も良く相似した肥育後の体型を示していた。

屠体成績は、表2に示したように双方は良く相似していた。「第3夢福」は試験終了後20目に出荷した。出荷体重は「第3夢福」が840kg、「第4夢福」が850kgであった。バラ厚（7.8cmと8.7cm）と皮

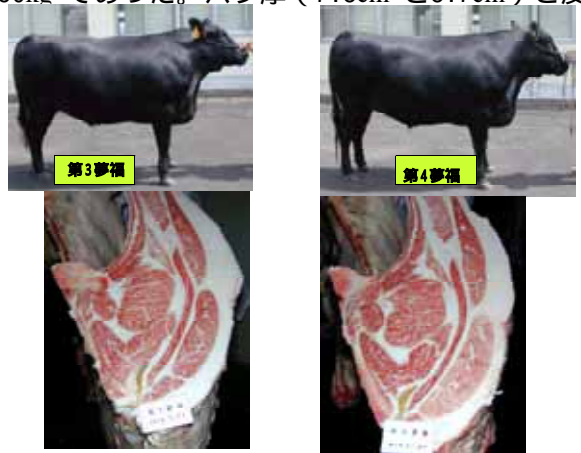


図8 体細胞クローン牛の肥育終了前とその枝肉(1)

表2 体細胞クローン牛の肥育成績(1)

形質	第3夢福	第4夢福
枝肉等級	A-5	A-5
枝肉重量	530.1	525.2
ロース芯面積	63	66
バラ厚	7.8	8.7
皮下脂肪厚	4.1	3.4
歩留基準値	72.6	74.3
BMS.no	11	11
BCS	4	3
締まり	4	4
きめ	4	4
BFC	3	3
D.G	1.04	1.06



図9 体細胞クローン牛の肥育終了前とその枝肉(2)

表3 体細胞クローン牛の肥育成績(2)

形質	福光2	福光4	勝福(ドナー)
枝肉等級	A-5	A-5	A-5
枝肉重量	393.8	501.4	461.5
ロース芯面積	54	55	54
バラ厚	7.9	7.6	8.2
皮下脂肪厚	2.9	4.0	3.3
歩留基準値	74.2	72.9	73.2
BMS.no	10	9	12
BCS	3	4	3
締まり	5	4	5
きめ	5	4	5
BFC	2	2	2
D.G	0.73	0.87	-

下脂肪厚（4.1cm と3.4cm）にやや違いが見られたが、枝肉重量・ロース芯面積・BMSno.などの形質は良く相似していた。

「福光2、福光4」の出荷前の写真と枝肉の写真を図9に掲げた。体型は「福光2」の前肢が変形していたことが原因と思われるが、発育状況も異なるし相似していると言いきれない。出荷時体重が「福光2」で638kg、「福光4」で785kgと約150kg異なっており、従って枝肉重量・皮下脂肪厚・D.Gに違いが見られた（表3）。しかし、ロース芯面積、脂肪交雑（BMSno.）は10と9で、優れた値を示していた。これらのドナー体細胞を採取したドナー肥育牛「勝福」の屠体成績も掲示したが、ロース芯面積、BMSno.はお互いに近い値が見られた。肥育牛由来の「福光2」と「福光4」では、「福光2」が前肢の変形があり、2頭の間での発育に大きな差があり、本試験では相似性の比較が難しかった。この「福

光」クローンは、試験を中止し廃用した「福光3」も肥育途中から前腕部が変形し歩行困難となったことから、ドナー細胞自体に問題があったことも考えられる。このドナー細胞は、現在、他の研究施設で遺伝子の発現状況等について調べられており、今後それらについては明らかにされるものと期待している。本試験ではこの体細胞クローン牛についての相似性調査は供試牛の体型異常でできなかったが、今後さらに同一体細胞クローン牛を使って調査する必要がある。

種雄牛由来の「第3夢福」と「第4夢福」間には発育・肉質に高い相似性が観察された。この体細胞クローンの肥育試験は、ドナー種雄牛自身の枝肉を見ることができることでもある。それゆえ、種雄牛をドナーとした体細胞クローン牛の肥育試験は、種雄牛自身の肉質を調べることでもある。種雄牛の産肉性の評価は、その後代牛の肥育成績を使って推定し、種雄牛としての産肉性評価を行い選抜されている。今後、種雄牛候補の体細胞クローン牛を生産し肥育することにより、候補牛自身の肉質が観察できることから、体細胞クローン検定による産肉評価が種雄牛を選抜するうえでの有効な手段となる。「糸福」クローンである「第3、4夢福」を肥育した本試験からも、肥育時における発育性やその肉質成績は、極めて優れた結果を示しており、クローン牛検定が有効であることを裏付ける成績であり、今後、このクローン検定について検証していく。

#### 引用文献

- 1) 志賀一穂・梅木英伸・志村英明・藤田達男・赤峰正雄 体細胞クローン牛の遺伝的相同性調査(2) 平成12年度大分県畜産試験場試験成績報告書 30:55-61, 2001.
- 2) 渋谷清忠 体細胞クローン牛の遺伝的相同性調査(1) 平成11年度大分県畜産試験場試験成績報告書 29:102-107, 2000.
- 3) 志賀一穂・藤田達男・広瀬啓二 牛の体細胞クローン胚生産技術の確立に関する研究(1) 平成9年度大分県畜産試験場試験成績報告書 27:50-55, 1998.

