

2．体細胞クローン牛生産技術の確立に関する研究

（1）体細胞クローン牛の性能調査

Performance investigation of the somatic cloned Japanese Black bull

志賀一穂・久々宮公二・志村英明・梅木英明・藤田達男

要 旨

体細胞クローン雄牛精液の授精によって生産した後代牛が、一般の黒毛和種子牛と同じような発育を示し、この後代牛は、肥育後に体細胞ドナー種雄牛の後代牛と同じ産肉性を示すかどうかについて調査した。まず、当場内で生産した体細胞クローン雄牛「夢福」の後代産子9頭（去勢7頭、雌2頭）、「福光」の後代産子4頭（雌4頭）を育成し、9か月齢までの発育の状況について調査した。次に、「夢福」後代去勢牛と雌牛を11か月齢から29か月齢までの18か月間肥育し産肉成績を調べた。結果は以下のとおりである

- 1．夢福の後代雄子牛（4か月齢で去勢した7頭）の9か月齢までの発育は、体重・体高ともに黒毛和種子牛標準発育の平均値を推移し、場内で生産した「糸福」の産子（ $n=27$ ）とほぼ同じ発育を示した。
- 2．夢福の後代雌子牛（2頭）の9か月齢までの発育は、体重・体高ともに黒毛和種子牛標準発育の上限から上限に近い発育を示し、場内で生産した「糸福」の産子（ $n=13$ ）に比べて発育が良かった。
- 3．福光の後代雌産子（4頭）の9か月齢までの発育は、体重・体高ともに標準発育の平均値をやや下回っていた。
- 4．肥育期間中の体重および体高増加の推移は、後代去勢牛および雌牛ともに肥育前・中期は去勢牛の標準発育の中間を推移したが、肥育後期から終了時までの増加量が優れ、双方とも終了時には上限値に近づく発育を示した。
- 5．歩留まり等級は、A（去勢4頭）、B（去勢3頭、雌2頭）で、双方での A 率は44.4%（4/9）であった。また、肉質等級では、5等級（去勢3頭、雌1頭）、4等級（去勢3頭、雌1頭）、3等級（去勢1頭）で、4・5率は88.9%（8/9）であった。
- 6．枝肉重量・ロース芯面積・バラ厚・皮下脂肪厚および BMS_{no.}は、去勢牛で $515.7 \pm 30.31\text{kg} \cdot 54.3 \pm 6.69\text{cm}^2 \cdot 9.1 \pm 0.82\text{cm} \cdot 4.5 \pm 0.64\text{cm} \cdot 7.0 \pm 2.27$ で、雌牛では、 $488.4\text{kg} \cdot 57.5\text{cm}^2 \cdot 8.0\text{cm} \cdot 4.9\text{cm} \cdot 7.0$ であり、皮下脂肪が厚かったが他の形質は良好な産肉成績が得られた。
- 7．同じような日齢（870～900日）で出荷した体細胞のドナーである種雄牛「糸福」の後代牛と比較すると、去勢牛の BMS_{no.}がドナー糸福後代牛の 6.85 ± 2.24 と夢福後代牛 7.0 ± 2.27 で近い値を示した以外、比較した他の形質また雌後代牛の全形質で、体細胞クローン後代牛が優れていた。

以上のように、体細胞クローン後代牛を育成および肥育した結果、全ての後代牛が正常に発育するとともに、産肉成績は、産肉能力が高い体細胞のドナー（糸福）によるクローン雄牛であることを反映して優れた産肉性を示した。これらの結果は、体細胞クローン雄牛は、細胞を提供した産肉能力の高いドナー種雄牛と同様の遺伝能力を持ち、健康で産肉性の優れた後代を生産できることを示している。

（キーワード：体細胞クローン後代牛、発育性、産肉成績）

背景及び目的

体細胞クローン牛生産技術の特徴は、優れた能力

を持つ牛の複製が可能な技術であり、産肉性の優れた種雄牛の体細胞や屠体成績が明らかとなった肥育

牛の体細胞や不慮の事故で死亡した直後の体細胞などからクローン胚の生産ができ、それらのクローン胚移植によってクローン牛も生産されている¹⁾。体細胞クローン牛生産においては、高い発生率を伴う早期の流産、過大子・虚弱な子牛の発生などの原因追及とそれら原因を取り除いた体細胞クローン胚作成技術の改善等が図られているが、まだそれらを起こす原因が明らかになっていない。しかし、これらをスルーした体細胞クローン牛の発育は一般の牛と何ら変わらなく健康であり、このことは、当场で作出し現在飼育中の体細胞クローン雄牛「夢福・第2夢福・福光」が健康であることから見ても明らかである。体細胞クローン雄牛の繁殖能力の調査においては、精液の性状、体外受精における胚盤胞発生状況、また、雌牛への人工授精を行った場合に受胎し、その後代牛が生産できその生時体重や育成時の発育は一般の子牛と差がないことも明らかにした²⁾。そのような体細胞クローン雄牛により生産された後代牛が正常に発育するとともに、ドナー牛の後代牛と同じように能力を体細胞クローン雄牛の後代牛に遺伝できるかどうか調査することも必要である。本試験では、体細胞クローン雄牛の精液を人工授精し、生産した後代牛の発育性、肥育後の産肉性について調査し、体細胞クローン雄牛の後代牛の発育性、産肉性について調べた。

材料及び方法

体細胞クローン雄牛「夢福」・「福光」の精液（新鮮・凍結）を使い、場内で飼育している黒毛和種経産雌牛に人工授精し、生産した「夢福」の後代牛9頭（雌2頭、雄7頭；2000年10月～2001年3月の間生産）、「福光」の後代牛4頭（雌4頭；2002年2月～6月間生産）の9か月齢までの発育性ならびに10か月齢から29か月齢までの肥育による発育性及び産肉性を調査した。

1．9か月齢までの発育性調査：生産した後代子牛は、自然哺育し雌3か月齢そして雄子牛は2か月齢で離乳した。そして雄子牛は4か月齢で去勢した。給与飼料は、良質乾草は飽食とし、濃厚飼料を1か月齢は人工乳(TDN:77、DCP:21)を0.5kg / 日、2か

表1 育成時の濃厚飼料給与量

月齢	育成用	人工乳
0		0.5
1		0.5
2	0.5	0.5
3	1.5	
4	2.0	
5	2.5	
6	3.0	
7	3.5	
8	4.0	
9	4.5	

注) 人工乳:TDN(77%),DCP(21%) 育成用:TDN(71%),DCP(14.5%)

表2 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%) (粗飼料) 1-7月:ハイキューブ
 10-18月:仕上げ用(TDN76.5%) 1-18月:灌ワラ

月齢では人工乳0.5kg と子牛用育成飼料 (TDN:71、DCP:14.5) を0.5kg の1kg / 日を与え、以降月齢を重ねる毎に育成用飼料を月0.5kg ずつ増やして給与した(表1)。これらの子牛は月に1回体側を行い発育状況を調べ、和牛子牛の標準発育値(去勢子牛の場合、0~4か月齢は雄、5~9か月齢は去勢を適用)および過去に場内で生産されたドナー牛(糸福)後代牛の発育成績と比較した。

2．後代牛の肥育試験：「夢福」後代牛9頭を供試した。これら後代牛は2000年10月から2001年3月の6か月の中で生産されたことから、生年月日が1か月以内の3頭(去勢・雌混合)を1組として3セットに分けて試験開始して肥育を実施した。これらは1か月の予備飼育を行った後、11か月齢から29か月齢までの18か月間実施し、表2に示したように「とよのくに体系(前倒し法)」により飼育して肥育を行った。肥育期間中は月1回体側を行い肥育中の発育

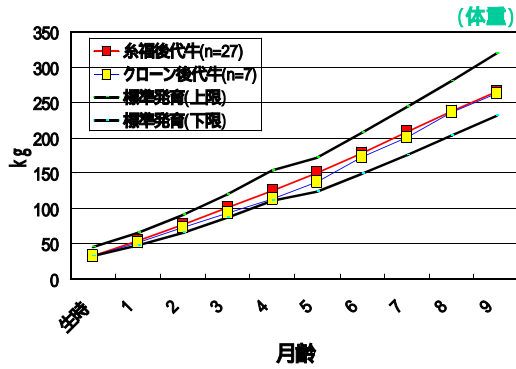


図1 体細胞クローン(夢福)後代(去勢)の发育

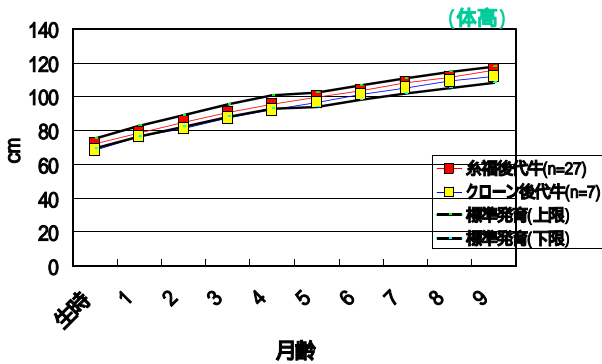


図2 体細胞クローン(夢福)後代(去勢)の发育

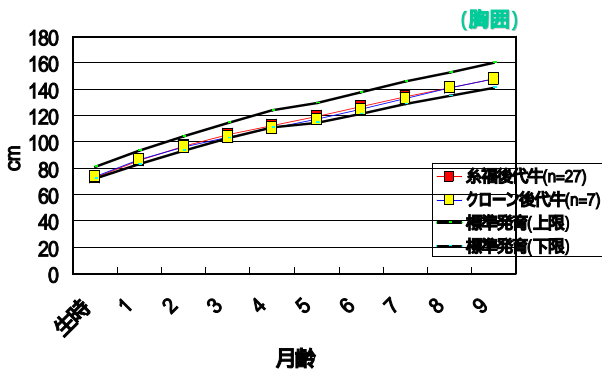


図3 体細胞クローン(夢福)後代(去勢)の发育

について調べた。肥育試験の17か月目の去勢牛1頭が、湿った床で滑り股関節脱臼を生じたので、その時点で屠殺し産肉性を調査した。肥育試験終了区ごとに、と殺後格付けを行った。それらの成績について肥育終了時の年齢が近いドナー牛(糸福)の後代牛の成績と比較した。なお、「福光」後代牛も肥育試験を実施しているが、まだ試験が終了していないことから、本報告では成績をまとめることができ

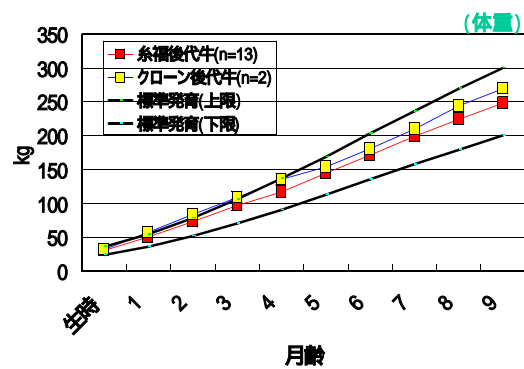


図4 体細胞クローン後代(雌)の发育

なかった。

結果及び考察

体細胞クローン雄牛「夢福」の後代牛9頭の9か月齢までの发育成績を図1～6に、「福光」の後代牛4頭の9か月齢までの发育成績を図7～9に示した。表3に示すように、「夢福」後代牛雄および雌の生時体重は $32.3 \pm 3.78\text{kg}$ 、 32.4kg でドナー種雄牛「糸福」後代牛の生時体重と差がなかった。後代

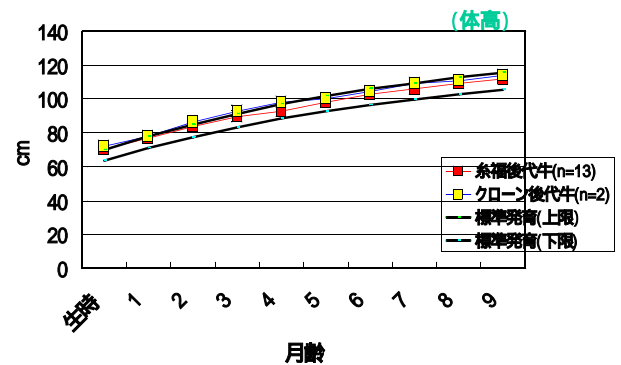


図5 体細胞クローン(夢福)後代(雌)の发育

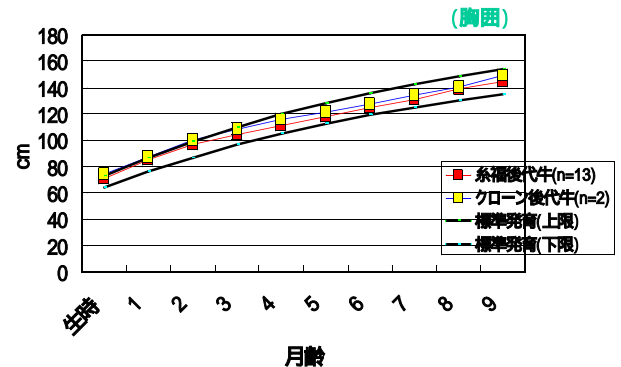


図6 体細胞クローン(夢福)後代(雌)の发育

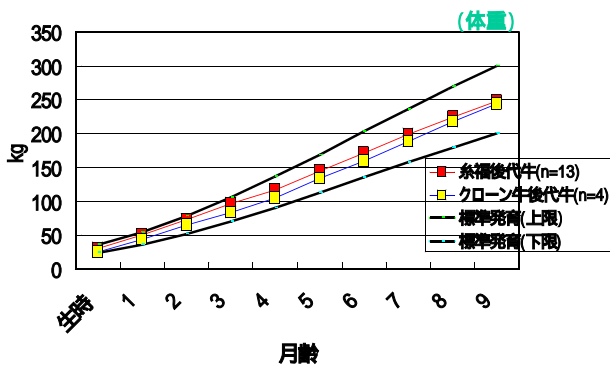


図7 体細胞クローン(福光)後代(雌)の発育

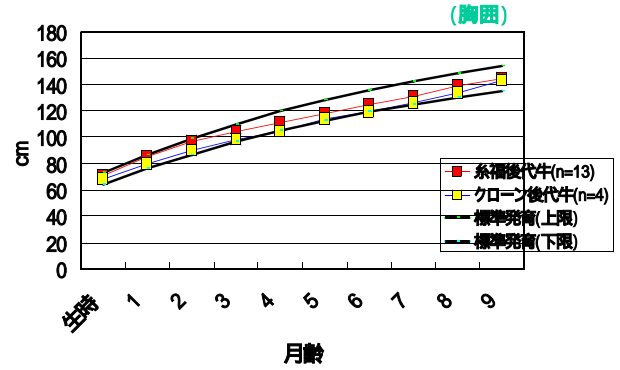


図9 体細胞クローン(福光)後代(雌)の発育

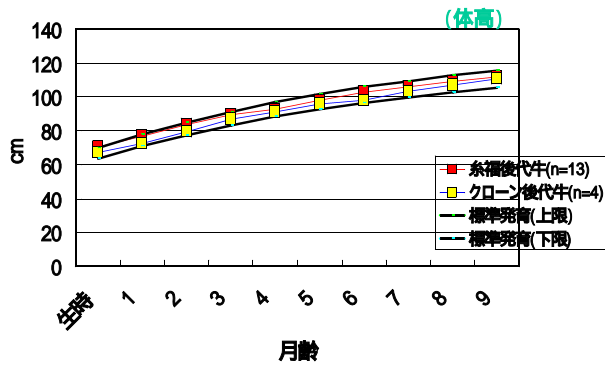


図8 体細胞クローン(福光)後代(雌)の発育

去勢牛の9か月齢までの体重は、標準発育の平均値の前後で増加し、「系福」後代去勢牛よりやや大きかったが、9か月齢では殆ど同じ値を示した（図1）。体高は5か月齢前後まで標準発育の下限値近くを推移したが、それ以降は平均値で推移していた（図2）。系福後代牛の発育値よりやや低かったが、9か月齢時点では両者とも平均値の範囲で発育している。胸囲は双方ともに標準発育下限値近くの発育を示した（図3）。後代雌牛は2頭の成績ではあるが、体重は4か月齢まで標準発育の上限を推移したが、それ以降上限の近くを推移し、系福後代雌に比べ発育が優れていた（図4）。体高・胸囲も体重と同様に標準発育の上限の発育を示した（図5，図6）。体細胞クローン雄牛「夢福」後代牛の9か月齢までの発育は、去勢牛ではドナーである「系福」後代牛の発育とほぼ同じ発育を示したが、雌は「系福」後代牛より発育が良かった。雌は頭数が2頭と少なく一概に比較できないが、クローン後代牛の生時体重がドナーの「系福」後代雌牛より重たかったことから良い発育を示したものと思われる。

「福光」の後代雌牛4頭の発育状況については図7～8に示した。生時体重は「夢福」後代牛とともに表1に示したが、25.8kgと場内で生産された一般牛の雌子牛の生時体重の平均値（28.9kg）よりやや軽い生時体重であった。4頭の中の1頭が分娩予定日より20日早く産れて生時体重が20kgであったこともこれらの後代平均値を下げている原因の一つである。9か月齢までの体重増加の推移は、標準発育の平均また系福後代雌牛よりやや下の発育で推移していた。図8の体高も同様の発育で推移した。図9に示した胸囲では、7か月齢頃まで標準発育に下限値に沿って推移したが、9か月では平均値に近づいた。これら後代の父である「福光」は、平成10年度の県共進会肉畜の部の肉用牛のグランドチャンピオンに輝いた系福を父に持つ去勢肥育牛の頬筋から得た体細胞によって作出した体細胞クローン雄牛である。「福光」は「夢福」と異なり、この体細胞を提供した肥育牛の産肉能力は判明しているが、自身の生時体重から肥育までの発育に関する資料がなく、種雄牛でないことから後代の記録はもちろん持ち合わせていない。体細胞クローン技術を肉用牛に应用する場合、肥育後の屠殺によって産肉形質の評価が明らかにされている体細胞を使い種雄牛の作出することが最も効果的な利用法と考えられる。このようなことからこの「福光」後代牛の発育性と肥育後の産肉性の調査は興味深く有用な調査でもある。「夢福」「福光」2頭の体細胞クローン雄牛後代子牛の生時体重そして9か月齢までの発育においては、双

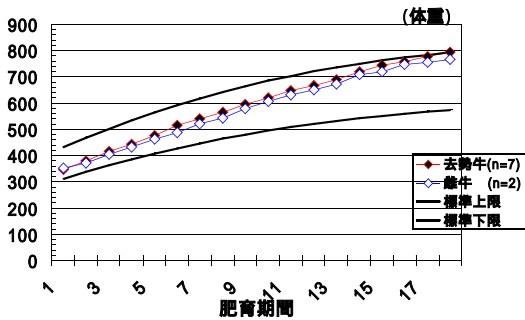


図9 「夢福」後代牛の肥育時の発育

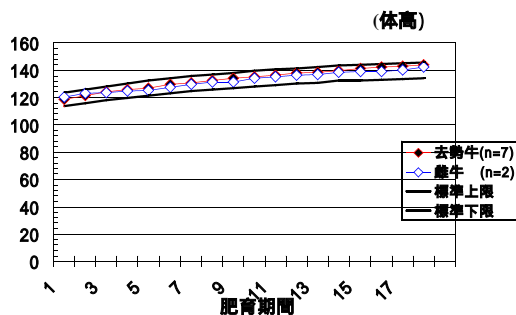


図10 「夢福」後代牛の肥育時の発育

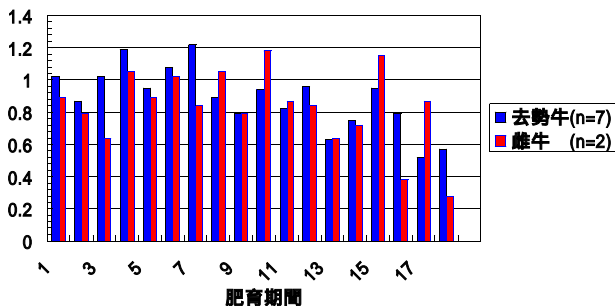


図11 「夢福」後代牛の肥育時の発育

方の発育に違いは見られるが黒毛和種の標準発育の範囲の中で発育していた。また、この9か月齢までの調査の間、事故や病気により大きな治療を要したり、また、死亡した後代牛はなく全て健康に育った。（写真1に「夢福」とその後代牛9頭）

育成を終了した「夢福」後代牛「糸夢1～9」を10か月齢前後での肥育試験の予備飼育を行い、11か月齢から18か月間（終了時29か月齢前後）肥育試験を実施した。飼料は表2に示したように「とよのくにマニュアル（前倒し法）」に準じて給与した。

表4 体細胞クローン牛後代の肥育成績

試験牛No	格付け	出荷体重	枝肉重量	ロース芯	バラ厚	脂肪厚	BMSno	D.G	
去勢	1	B4	790	528.1	51	9.5	4.3	6	0.99
	2	A5	787	490.3	56	8.5	3.7	8	0.81
	3	B3	712	453.9	40	7.3	4.5	3	0.77
	4	A4	847	550.4	59	9.7	4.5	6	0.94
	5	B5	781	532.5	54	9.5	5.2	11	0.86
	6	A4	823	532.5	62	9.7	5.6	7	0.92
	7	A5	840	522.3	58	9.3	3.8	8	0.92
平均			797.1	515.5	54.3	9.1	4.5	7.0	0.89
雌	1	B4	801	506.3	60	7.8	5.0	6	0.87
	2	B5	752	470.4	55	8.2	4.8	8	0.86
平均			776.5	488.4	57.5	8.0	4.9	7.0	0.86

図9～11に肥育期間中の月ごとの体重・体高の増加と日増体量（D.G）の推移を示した。去勢・雌とも黒毛和種去勢の標準発育と比較し、体重・体高は肥育6～7か月まで下限値と平均値の間を推移していたが、肥育10～12か月で平均値を推移し、以降終了まで去勢・雌牛双方とも上限値に近い発育値で推移した。月ごとのD.Gの推移は、開始～8か月で去勢の方が大きかったが、9～15か月の間では、雌の方が大きい値を示すことが多くなっていた。肥育終了後の冷屠体の成績を表3に示した。出荷時の体重は去勢牛797.1kg、雌776.5kgで、2頭ではあるが特に雌の増体が優れていた。歩留まり等級でAには去勢牛3頭（42.9%）で、Bには去勢牛4頭（57.1%）、雌2頭（100%）であった。これは背脂肪が去勢で4.5cm（3.7～5.6cm）、雌で4.9cm（5.0、4.8cm）と厚かったことが最も大きな原因である。肉質等級はBMSnoが去勢牛・雌共に平均7.0と極めて良好であった。去勢牛で5等級が3頭、4等級が3頭、3等級が1頭で4・5率は7頭中6頭で85.7%、雌では2頭中2頭の100%であり、去勢・雌共での肉質等級の4・5率は、88.9%（8/9）と良好な結果が示された。さ

表5 ドナー及びクローン後代牛の肥育成績の比較

形質	去勢		雌	
	糸福(n=1,410)*	夢福(n=7)	糸福(n=142)*	夢福(n=2)
枝肉重量	443.94 ± 44.05	515.7 ± 30.31	489.02 ± 43.22	488.4
ロース芯面積	51.99 ± 7.19	54.3 ± 6.69	48.64 ± 6.64	57.5
バラ厚	7.12 ± 1.08	9.1 ± 0.82	6.64 ± 1.16	8.0
皮下脂肪厚	2.97 ± 1.03	4.5 ± 0.64	3.20 ± 1.05	4.9
BMS.no.	6.85 ± 2.24	7.0 ± 2.27	5.67 ± 2.12	7.0
D.G	0.76 ± 0.13	0.89 ± 0.07	0.66 ± 0.14	0.86

*糸福産子去勢(6,563頭)、雌(618頭)の中の870-900日齢で出荷された成績。

らに、バラの厚さ（去勢：9.0cm、雌：8.0cm）・ロース芯面積（去勢：54.3cm²、雌：57.5cm²）も平均以上の値を示した。写真2に肥育試験終了時前の4頭の後代牛、そして、写真3に雌2頭の枝肉、写真4, 5, 6に去勢7頭の枝肉の写真を掲げた。

表4は「夢福」の後代牛と体細胞ドナー牛である「糸福」の後代牛との産肉成績を比較した表である。示した「糸福」後代牛の成績は、クローン後代牛とほぼ同じ月齢の870日齢（28.5か月齢）～900日齢（29.5か月齢）の間に出荷された去勢牛6, 653頭、雌牛618頭の枝肉成績を抽出して比較した。去勢・雌肥育牛ともに皮下脂肪厚を除き、調査した他の形質でドナー後代牛の成績より勝っていた。BMS_{no.}は「糸福」後代の6.85±2.24、「夢福」後代の7.0±2.27と相似した成績であったが、雌は枝肉重量は「糸福」後代牛の489.02±43.22kgと「夢福」後代牛の488.4kgと近値であったが、他に形質は去勢と同様に背脂肪厚を除いた他の形質で「夢福」後代の成績が優れていた。

以上のように、「夢福」後代牛9頭（去勢7頭、雌2頭）を11か月齢より18か月間肥育して、肥育期間中の発育と産肉成績を調べた。肥育期間中の体重および体高増加は、特に去勢および雌牛ともに肥育後期から終了時までの増加量が優れ、双方とも終了時には上限値に近づく発育を示した。肥育成績では、後代去勢・雌肥育牛の肉質等級4・5率は88.9%であり、「夢福」が産肉成績が優れたドナー（糸福）の体細胞クローン雄牛であり、体細胞クローン雄牛は、ドナー種雄牛と同じように優れた産肉性を後代に伝えることができることが確認された。しかし、後代牛の肥育後の皮下脂肪は去勢・雌肥育牛共に厚かった。これは肥育に与えた飼料の影響によることが考えられ、更に今後の調査検討が必要である。「糸福」後代牛との相似性を更に詳しく検討するには、育種価で比較することが適当と思われるが、体細胞クローン牛の育種価の算出方法については今後の検討を要する課題である。また、今回は「福光」後代雌牛4頭の肥育試験成績について、試験中であり本成績に載せることができなかった。体細胞クローン牛後代牛の健全性を明らかにするためにも、こ

れらの成績とともに更に多くの体細胞クローン雄牛後代牛データを集めて検討することが必要と思われる。

引用文献

- 1) 志賀一穂・藤田達男・広瀬啓二 牛体細胞クローン胚生産技術の確立に関する研究(1) 大分畜試試験成績報告書 27:50-55, 1998
- 2) 志賀一穂・梅木英伸・志村英明・藤田達男 体細胞クローン牛の遺伝的相同性調査 大分畜試試験報告書 30:55-61, 2001



写真1 「夢福」とその後代牛9頭

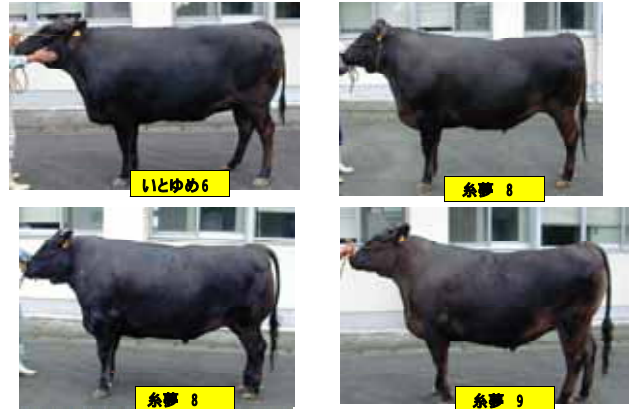
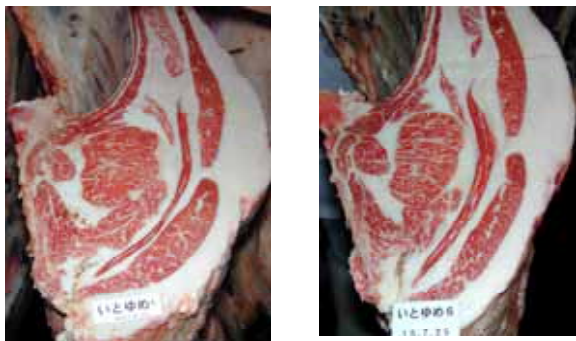


写真2 肥育終了前の後代牛



等級	B4
Π-ス芯面積	60 cm ²
BMSno	6

等級	B5
Π-ス芯面積	55 cm ²
BMSno	8

写真3 「夢福」の後代牛(雌)の枝肉(1)

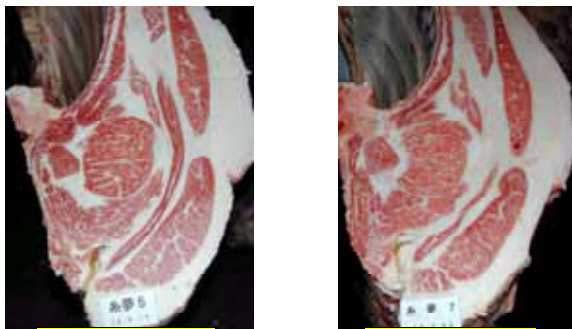


等級	B4
Π-ス芯面積	51 cm ²
BMSno	6

等級	A5
Π-ス芯面積	56 cm ²
BMSno	8

等級	B3
Π-ス芯面積	40 cm ²
BMSno	3

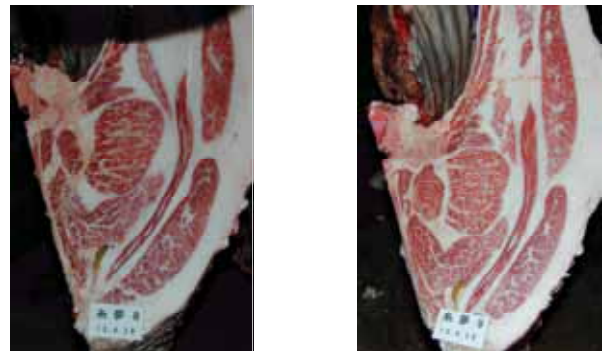
写真4 「夢福」の後代牛(去勢)の枝肉(1)



等級	A4
Π-ス芯面積	59 cm ²
BMSno	6

等級	B5
Π-ス芯面積	54 cm ²
BMSno	11

写真5 「夢福」の後代牛(去勢)の枝肉(2)



等級	A4
Π-ス芯面積	62 cm ²
BMSno	7

等級	A5
Π-ス芯面積	58 cm ²
BMSno	7

写真6 「夢福」の後代牛(去勢)の枝肉(3)

