

クローン牛生産技術開発の現状と今後の展開

今井 裕 (京都大学大学院 農学研究科 生殖生物学研究室)

はじめに

生物の体を構成している体細胞は、細胞としての役割分担が決められている。例えば、心臓のリズミカルな心拍を生み出している心筋細胞は、神経組織で情報の伝達に携わっている神経細胞とは、細胞としての性質は明らかに異なっている。細胞の役割分担が決定してゆく過程を細胞分化とよぶが、自然界でその過程が逆戻りすることも、まして、この細胞から個体ができることはありえない。

20世紀前半、ドイツの発生生物学者シューペーマンは、細胞分化は非可逆的なものか、分化にともない遺伝情報が書き換えられる可逆的なものなのか、について疑問をもった。これを科学的に確かめる手段として、発生初期の胚細胞に分化した細胞を移植する核移植法(クローン技術)を1938年に提唱した¹⁾。この考え方は、その後の発生学進展の中で継承され、1952年には、未受精卵内に、受精後間もない未分化なカエルの細胞を移植することによって²⁾、また1962年には、オタマジャクシの小腸由来の上皮細胞を同様に核移植することによって、成体のカエルを作ることに成功した³⁾。これらのことから、細胞分化の過程は可逆的であり、分化した細胞でも、個体を構成するすべての組織や臓器に再構成しうる能力(全能性)を維持しつづけていることが示された。

哺乳動物では、1986年ウィラードセン⁴⁾による、受精後八つに分裂した細胞からのクローンヒツジの生産初めての成功例となる。同時に、これは、クローン技術を家畜生産に応用する上で一つの重要なマイルストーンとなった。また、ここで用いられた手法が、現在の体細胞クローン技術のベースとなっている。これに対して、1996年キャンベルら⁵⁾によって報告された核移植の方法は、従来の概念をまったく変えるものであった。彼らは、妊娠9日目のヒツジ胎子胚盤に由来し、細胞の形態や細胞分化マーカーによって上皮細胞であることが確認された体細胞から、三頭のクローンヒツジを誕生させた。これが哺乳動物においてはじめての、分化細胞からのクローン動物の誕生である。1997年に同じ研究グループから報告された体細胞クローンヒツジ“ドリー”は⁶⁾、手法上も概念上も上記の報告の延長線上にあるにすぎない。

クローン技術の実際

クローン技術を特徴づけている核移植法について、その流れを図1に示している。ここでは、受精後間もない細胞を核移植する受精卵クローンと分化した体細胞を用いた体細胞クローンを区別して示している。この図で見ると、核移植する細胞の種類が異なることと、体細胞の場合は血清飢餓処理をしていること以外に、両者の手順は基本的に同じである。

核移植において重要な要素の一つは、対象となる細胞が大変小さいことである。体細胞で10 μ m、受精後に分裂した細胞で約30 μ m、受精卵で100 μ mである。これらの細胞を体外で取り扱うためには、特殊な装置を必要とする。まず、核移植の操作は、倒立顕微鏡とマイクロマニピュレーターとよばれる特殊な装置を用いる(図2)。

核移植には、移植の対象となるドナー細胞とその受け皿となるレシピエント細胞が必要である。ドナー細胞は、レシピエント細胞である未受精卵の中で、個体を構成するすべての組織や臓器を形成する能力(全能)を獲得すると考えられている。この過程をリプログラミングとよんでいる。レシピエント細胞は卵細胞としての核をもっているが、核移植によってドナー細胞の核が移植されるので、レシピエントの核は除去(除核)される(図1)。ついで、ドナー細胞をレシピエント細胞に接するようにガラスピペットで導入する。この時点では、ドナー細胞の核はレシピエント細胞内

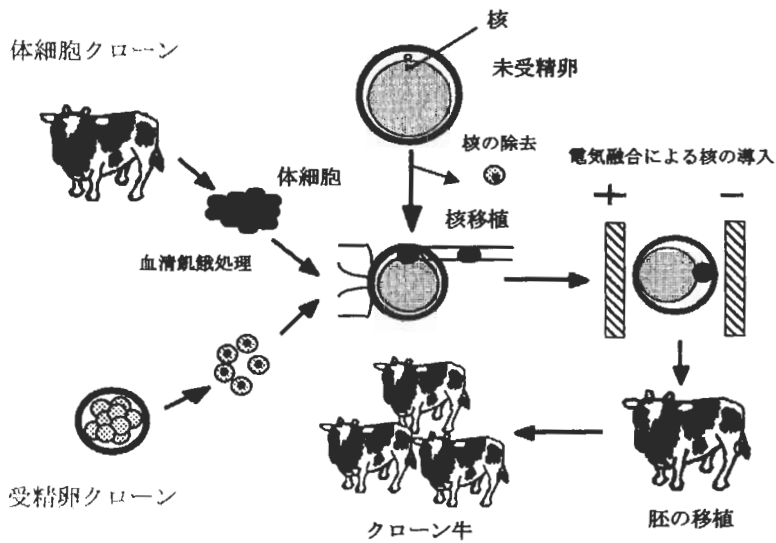


図1 体細胞クローンに用いられる核移植技術

に入っていない。核の移植は、両者の細胞の接触面に対して直流電流を流し、接触面に生じた細胞膜の融合現象を利用する（図1、電気的細胞融合）。両者の融合は15分程度で終了し、ドナー細胞の核がレシピエントの細胞質内に移植される。

通常受精とは異なり、核移植には精子は関与しない。受精の場合には、精子が卵子に侵入する刺激がシグナルとなって、個体発生のプログラムが始動する。核移植の場合には、このシグナルがないため、前述した電気による細胞融合がこのシグナルを代用している。このシグナルは、個体発生の開始に本質的であるので、電気以外にも、エタノール、カルシウム・イオノフォア、ストロン

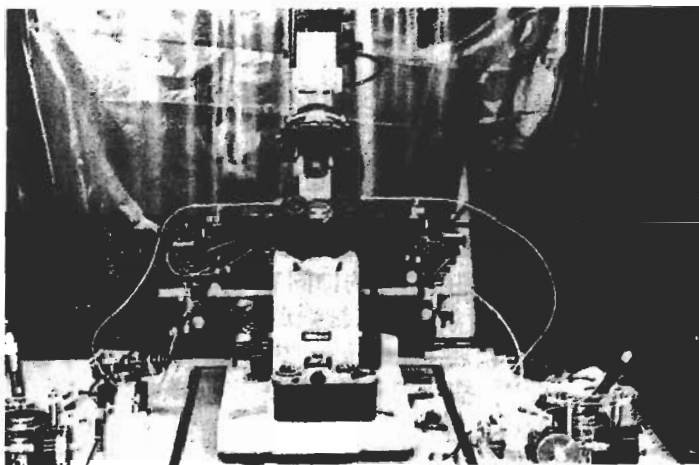


図2 核移植に用いる倒立顕微鏡とマイクロマニピュレーター

チウムなど各種の薬剤を併用して、確実に発生開始の指令を与えるようにする。ここでは受精と区別するために、このシグナルのことを活性化刺激とよぶことにする。

核移植後の胚は（核移植胚あるいはクローン胚）、体外の条件下でその後継続して発生させることはできない。哺乳動物では、妊娠という複雑で、重要な過程があり、クローン胚は母体にもどさないと成長できない。このため、仮親の卵管あるいは子宮に移し、分娩するまで仮親の子宮の中で育つことになる（図1）。

表1に、これまでに成功が報じられている受精卵クローンおよび体細胞クローンの動物種をあげている。これらの動物種は両方で必ずしも一致しておらず、現在では体細胞クローンの成功例が多くなっている。その理由は、体細胞クローンのほうがドナー細胞の調整が容易であることが大きな原因と考えられる。

表1 クローン動物の成功例

受精卵クローン	体細胞クローン
マウス(1983年)	ヒツジ(1996年)
ヒツジ(1986年)	マウス(1998年)
ウシ(1987年)	ウシ(1998年)
ラット(1988年)	ヤギ(1999年)
ウサギ(1988年)	ブタ(2000年)
ブタ(1989年)	ミニブタ(2002年)
ヤギ(1991年)	ウサギ(2002年)
サル(1997年)	ネコ(2002年)
	ラバ(2003年)

体細胞のリプログラミング

これまでに述べてきたように、クローン動物を作製するキーポイントは、様々な分化過程にある細胞（ドナー細胞）を個体形成の出発点である未受精卵（レシピエント細胞）に核移植することにある。ドナー細胞から直接個体を作ることはできないので、ドナー細胞の全能性の再獲得は未受精卵に依存し、未受精卵はリプログラミングを誘導する何らかの因子を有していると考えられることができる。

体細胞クローン技術を開発したイギリスのキース・キャンベルは、体細胞に全能性を与える条件として、全能性細胞である未受精卵と体細胞の同調性を重視して考えた。そのための手段として、一つは体細胞を血清飢餓の条件におくこと（図1）、二つ目はドナー細胞をレシピエント細胞に核移植するタイミングの問題である。

前者の血清飢餓処理は、体細胞を培養する際、通常培養液中に添加している10%の血清を、その二十分の一にあたる0.5%にまで低下させて細胞を培養することである。このことによって、細胞内の遺伝子発現やタンパク質合成能は低下し、細胞はG0期とよばれる細胞周期に誘導される。この状態は、細胞としては休止状態にある未受精卵の状態と似ており、このことがリプログラミングに有効であると予想した。しかし、その後の研究から、血清飢餓処理を行わなくても、クローン動物は生まれることが明らかとなり、この処理が細胞のリプログラミングに絶対的なものではないことがわかった。

後者の核移植のタイミングについては、体細胞クローンの成否に直接関係しており、改めて述べることにしたい。

リプログラミングと細胞周期

体細胞クローンが可能になる以前、受精卵に由来するドナー細胞を用いた受精卵クローンがまず成功していた⁴⁾。今でこそ、受精卵クローンの成功率は牛で約 30%程度と安定したものとなってきたが、この技術の開発当初は、体細胞クローンの成功率に匹敵するほど低かった。受精卵クローン技術が安定した最大の理由は、レシピエント細胞とドナー細胞の細胞周期を一致させることであった。

活発に増殖する細胞は、細胞内の遺伝子発現や染色体の構造などによって四つのステージに大きく分けられる(図3)。染色体が複製される DNA 複製期 (S 期) と複製した染色体を二つの娘細胞に分配する分裂期 (M 期) が二つの間期 (G1 と G2 期) によって分けられている。分裂を終えた細胞は、増殖活動を停止して静止期 (G0 期) に入る場合もある。先に述べた血清飢餓処理によって、細胞を静止期に誘導することもできる。静止期の細胞は、組織の再生など、細胞増殖を促すシグナルによって、再び細胞増殖周期の中に入ってくる。

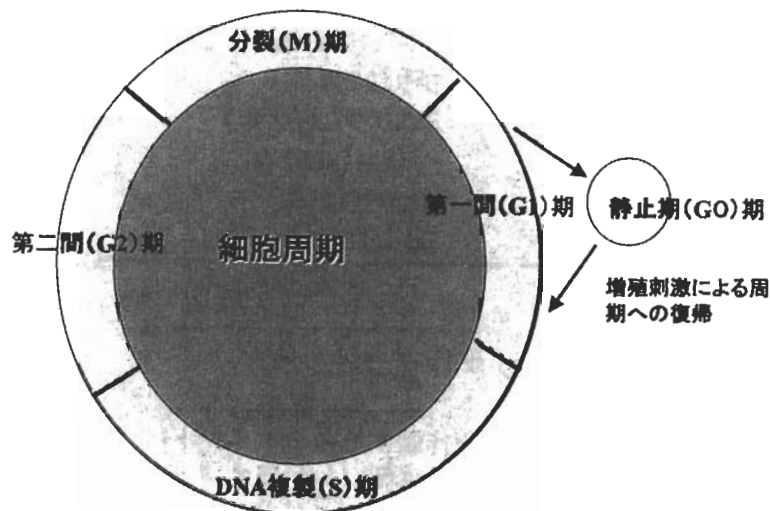


図3 細胞増殖のライフサイクル—細胞周期—

レシピエント細胞である未受精卵は、細胞周期を M 期の途中で停止している極めて特殊な細胞である。精子による刺激を受けて、受精直後に M 期の分裂を再開し、細胞周期が回り始めると同時に、活発に細胞分裂を繰り返す。この時期の細胞の細胞周期を調べてみると、驚くことにその 90% が S 期にある。受精直後の細胞は、M 期と S 期を交互に繰り返す、G1 や G2 期はないか、あってもきわめて短いと推察される。

受精卵クローンにおける核移植を細胞周期の観点から考えると、レシピエント細胞は M 期であり、S 期のドナー細胞を核移植することになる。つまり、ドナー細胞とレシピエント細胞の細胞周期は一致していないことになる。M 期では、細胞核は分裂に備えて凝集し、染色体を形成している。この染色体の凝集を誘導するのが MPF (M-phase promoting factor、M 期促進因子あるいは Maturation promoting factor、卵成熟促進因子) とよばれる物質であり、未受精卵の細胞質内に豊富に存在する。このため、未受精卵内に導入された核は、凝集して染色体形成に向かう。一方、S 期は DNA を複製

する時期であり、染色体構造は G1 期にすでに解かれて、DNA 鎖は複製しやすいように開かれた状態になっている。M 期のレシピエント細胞に S 期のドナー細胞を核移植するとどうなるのだろう。S 期の核は、DNA 複製の途上で染色体を構成するように凝集を受け、DNA 鎖はその物理的な力によって分断されると想像される。たしかに、このようにして核移植した胚はほとんど発生しない。

その後、ドナーとレシピエント細胞の細胞周期の重要性が認識されるようになり、受精卵クローンの場合には、レシピエント細胞にあらかじめ人工的な活性化刺激を与え、その細胞周期を S 期にまで移行させた後に細胞核を移植することによってクローンの生産効率は格段に改善された。

ドナー細胞としての体細胞は、成体から採取して体外で一定期間培養した細胞を用いる。これらの細胞の細胞周期は、活発に増殖している細胞であっても、その 70%程度は静止期 (G0 期) あるいは間期 (G1 期) にある。血清飢餓処理により、体細胞を G0 期に誘導しても、80%程度の細胞群が G0/G1 期に同期化されるにすぎない。つまり、体外で培養した体細胞の細胞周期は、ほとんどが G0 あるいは G1 期にあるとよい。前述の受精卵クローンにおける細胞周期の重要性を考慮すると、体細胞クローンの場合には、レシピエント卵子に核移植し、その直後に活性化刺激をかければ、細胞周期はほぼ一致することになる。受精卵クローンで成功した方法をそのまま体細胞クローンの手法として使うと、胚は全く発生しない (表 2)⁷⁾。皮肉なことに、現在の体細胞クローンで用いられている方法は、受精卵クローンの技術開発の初期に失敗していた方法なのである。

表 2 核移植のタイミングの差と体細胞クローン胚の発生

核移植の方法	核移植胚数	正常分裂胚数 (%)	発生したクローン胚数 (%)
受精卵クローン	181	32 (18)	0
体細胞クローン	101	82 (81)	47 (47)

高橋ら (1998)⁸⁾

リプログラミングの実態

体細胞からの個体形成を考えると、自然界で起こる受精を対比して考えないわけにはいかない。何よりも、体細胞クローンと受精による個体形成の決定的な違いは、前者は無性生殖であり、後者は有性生殖であることである。しかし、核移植の過程と受精の過程は極めて類似している。受精の過程は、高度に分化した体細胞である精子と卵子が融合する現象であると考えれば、それはむしろ当然かもしれない。

受精にともなう初期発生の過程では、卵子の細胞質は精子染色体をコンパクトに凝集していたプロタミンを解離して核を形成させる。染色体構成タンパク質であるリンカーヒストンは、受精卵のゲノムが転写活性を持つようになる時期 (胚ゲノムの活性化; 動物種によって異なるが、2細胞期~8細胞期のいずれかの時期に起こる) に胚型のヒストン (ヒストン B4) から体細胞型のヒストン (ヒストン H1、H1⁰) に変換される。これと同様な現象はウシの体細胞核移植胚においても見られる。受精の過程と同様に、体細胞型のヒストン H1 は核移植後にいったん消失し、胚ゲノムの活性化後にヒストン H1 活性が再出現する。さらに、核移植後にはドナー細胞の転写活性は低下するとともに、胚ゲノムの活性化時期に再び転写活性が高まることが知られている。このように、受精後の

精子核には染色体再構成や遺伝子発現のダイナミックなリプログラミングが起こっており、少なくともそのいくつかの現象は、核移植後にも正常に起こっているように思われる。しかし、ヒストンの置換は核移植の方法によっては、様相が異なってくることが報告されている。つまり、これまでの体細胞クローンの手法ではヒストンの置換はゆっくり起こる⁸⁾。著者らも、核移植後のクローン胚のDNA合成のタイミングについて検討したところ、上記の手法を用いて、G1期の細胞を核移植した時のDNA合成は、6時間後にはほとんどの胚で開始されていたのに対し、血清飢餓処理後のG0/G1期の体細胞のDNA合成時期はさらに遅れて起こっていた⁹⁾。このことは、ヒストンの変換やDNA合成のタイミングは核移植の手法の差によって生じることを示している。しかし、これらのことが体細胞のリプログラミングにどのような意味を持つのかについては、未だに不明である。

受精後の初期胚において無視できない変化の一つに、精子ミトコンドリアの分解がある。受精に関与した精子のミトコンドリアは核形成期に分解され、その結果卵子のミトコンドリアだけが子孫に伝わると考えられている。ミトコンドリアの母系遺伝はこのことによって説明されている。クローン胚においても、ドナー細胞由来のミトコンドリアは核移植直後から急速に消失し始め、クローン個体の大部分はレシピエント卵子のミトコンドリアに置き換わる¹⁰⁾。しかし、例外的に、しかし無視できない確率で、ドナー細胞のミトコンドリアがクローン個体で残る例（ミトコンドリアヘテロプラスミー）を確認している¹¹⁾。少なくともPCRで検出した限り、初期胚にはドナー由来のミトコンドリアは見つからないので、その後の胚発生のいずれかのステージでドナー細胞のミトコンドリアが複製していることになる。筆者らは、マウスにおいて異種系統間でミトコンドリアを置換したミトコンドリアコンジェニックマウスを用いた研究から、これらのマウスでは胚発生や個体における運動性や体成長などの表現型に差が生じることを見出し、その原因の一つとして核とミトコンドリアのミスマッチの可能性を指摘している¹²⁾。

クローン動物は遺伝的に同一の情報をもつ個体といわれている。しかし、ミトコンドリアに由来する遺伝情報を加味すれば、個々のクローン個体は全く異なった個体由来する遺伝情報をもつことになる。この意味で、クローンはそれぞれ別のものである。しかし、このことがリプログラミングやその後の胚発生、個体形成後の表現型にどのように影響を及ぼすのかについては、現時点では不明である。

体細胞クローン技術の問題点

体細胞クローン動物の生産を可能にした大きな理由が、レシピエント細胞とドナー細胞の細胞周期の同調化にあるとしても、現時点での生産効率あまりにも低い(表1)。体細胞クローン技術も今後改善されてゆくと思われるが、そのためには解決すべき問題も多い。前述したように、体細胞クローン動物がどのようなメカニズムで誕生するのかという謎に答える必要がある。いったん分化した体細胞が個体形成に関与するためには、移植された未受精卵の中で全能性が再獲得されていると考えるのが妥当であるが、現在の低い効率から考えると、その過程が必ずしもうまくいっているとはいえない。表3に平成17年11月に農林水産省技術安全課でまとめられたわが国における体細胞クローン牛の生産状況を示している。体細胞クローンの出産率は、受精卵移植や受精卵クローンのそれと比べると、明らかに低い。その原因の詳細については不明であるが、遺伝子のメチル化によって制御されている(ゲノミック・インプリンティング)遺伝子発現機構が機能していないいくつかの実例が報告されている。インプリンティングによる遺伝子発現調節機構は、哺乳動物の受胎と胎児の発育に必須のものであり、この機構に異常が見られるのはむしろ当然のことかもしれない。

一方で我々は、クローンに見られる発生異常は、インプリンティング遺伝子の発現異常の結果を見ているだけでなく、核移植後の初期にすでにもっと多様な異常が起こっているのではないかと考えている。そこで、核移植胚の遺伝子発現プロファイルを網羅的に解析する手法である、ディファレンシャルディスプレイ法やマイクロアレー法を用いて、クローン胚と体外受精、あるいは体内受

精胚の胚盤胞期にいたるまでの遺伝子発現をマウスとウシで検討した。すると、ウシでは、クローン胚と体外受精胚において、8細胞期、桑実胚期および胚盤胞期ですでに遺伝子発現のパターンは異なっており、クローン胚は子宮に着床する以前にすでに問題を抱えていることになる。さらに、胚発生において、胚に由来する遺伝子発現の重要なターニングポイントであり、胚性ゲノムの活性化期における遺伝子発現について、マウスクローン胚で検討した。マウスでは、ゲノムの活性化は2細胞期後期にメジャーな活性化が起こるといわれているが、このときに活性化され、発現が上昇する遺伝子がクローン胚では発現が低下したままであった。限られたデータではあるが、これらのことからクローン胚に見られる発生異常は、すでに胚性ゲノムの活性化以前、おそらくリプログラミングの過程で起こっているものと推測されるのである¹³⁾。

表3 クローン家畜生産の現状

クローン種		
受精卵クローン	出生頭数	700頭
	死産	73頭 (10%)
	生後直死・病死・事故死	151頭 (21%)
体細胞クローン	生産頭数	474頭
	死産	72頭 (15%)
	生後直死・病死・事故死	190頭 (40%)

平成17年11月28日現在、農林水産技術安全課資料より改変

リプログラミングの人為的誘導

すでに述べたように、体細胞クローンに関わる多くの問題は、結局のところ、卵細胞内で起こるリプログラミングの機構をもっとよく理解することにあると思われる。核移植は単一の細胞を単一の卵子内に導入する手法であり、個々の核移植胚で起こっているリプログラミングの現象を生化学的に解析することは質的にも量的にも大変難しい。ここでいう質的とは、ドナー細胞のリプログラミングが個々の細胞で異なる可能性についてであり、量的とは、1個の胚を解析するための生化学的手法は限られていることによる。

最近になって、アフリカツメガエルの卵細胞質から調整した抽出液をもちいて、体細胞のリプログラミングを解析する系が作られている。アフリカツメガエルの体細胞を卵抽出液で処理すると、体細胞核からTBP (TATA binding protein)、ヌクレオリンあるいはヒストンH1などの物質が核外へと放出され、ATP依存的なクロマチンリモデリングファクターであるISWI、ヌクレオプラスミンあるいはヒストンB4などは核内へと取り込まれていくことがわかった¹⁴⁾。ここでISWIを卵抽出液から取り除くと、TBPの核からの放出が阻害された。TBPは、本来卵抽出液中には存在しないので、体細胞は卵抽出液によってリプログラムされ、少なくともリプログラミングの一部にはISWIが関与している可能性を示唆した。我々も、哺乳動物、特に家畜において、体細胞のリプログラミング機構を理解するとともに、試験管内でリプログラムされた細胞を用いて、効率的にクローン家畜を生産するための実験系を模索している。その中で、ブタの体細胞をアフリカツメガエルの卵抽出液で処理すると、卵抽出液中のヒストンB4がブタ細胞の核内に入っていることがわかった。さらに、胚型のラミンであるラミンLIIIの取り込みも認められた¹⁵⁾。ヒストンB4やラミンLIIIは卵抽出液に存在するものであり、染色体の構造や遺伝子発現に影響をあたえるこれらの核構成成分が、種を

越えて細胞核内に取り込まれることは、非常に興味深い。

さらに、我々は、アフリカツメガエル卵抽出液中で処理した細胞を体外で培養した。すると、培養3日目から、未分化細胞のマーカーである OCT4 の発現が見られるようになった。細胞の形態も、OCT4 の発現と呼応するように、ES 細胞様のコロニーを形成した。同様の作用は、ウシの体細胞にも認められ、ウシの OCT4 プロモーターに接続した GFP 遺伝子をウシ繊維芽細胞に導入し、卵抽出液で処理後に培養した細胞は、ES 細胞様のコロニーを形成すると同時に、GFP タンパク質の強い緑色蛍光を発した。OCT4 以外の未分化細胞の性質を維持する作用を持つ SOX2 や NANOG の発現について検討したところ、SOX2 の発現は認められたものの、NANOG の発現は見られなかったことから、体細胞は卵抽出液中でリプログラミングが誘導されていると考えられるが、多能性細胞への脱分化誘導としては、その作用は不十分であるのかもしれない。哺乳動物の体細胞がこのような体外でのリプログラミング誘導系によって、分化—脱分化—再分化の道筋をコントロールできれば、基礎・応用の両面で多様な研究分野が開かれ、今後の研究の進展が期待される。

クローン技術の産業応用と将来展望

過去 10 年は、体細胞クローン羊“ドリー”が誕生し、クローン技術が基礎・応用の様々な角度から検討が進められた時期に相当する。この間に農林水産技術研究に対する世間の見方、関係者の考え方はずいぶんと変わった。また、その変化をまともに受けている典型的な例をクローン研究の中に見ることができる。食品の安全性とリスク、実用的研究と出口が見えない基礎研究、という対峙の中で、性急にどちらかに仕分けしようとする傾向である。一昔前まで、農林水産研究を代表する究極のバイオテクノロジーとして、予算採りの花形であった技術がみるみるしぼんでゆくのは、今後の畜産研究の将来を暗示しているようにも思える。国際学会などで、海外におけるクローン研究の学術発表数が、依然として群を抜いて多いのとは対照的である。

クローン技術が将来の遺伝子組換え技術に決定的に貢献しうることを、前述のような超現実的な考え方を前にして改めて述べることはむなし。クローン牛の生産物が市場に流通することが規制されている現在、優良な経済動物のコピーや増産に寄与するといっても、これまたむなしに聞こえる。しかし、将来を考えた時に、この技術が恐らく有用なものになりうると考えられるいくつかの視点について、いくつか紹介して稿を閉じたいと思う。

まず、家畜を対象とした動物実験というのは、マウスなどのクローン化した純系を使った精密な研究ではなくて、雑種を用いた研究であることを肝に銘じるべきである。当然のことながら、得られたデータは大きなバラツキをもち、正確なデータを得るためには多数の動物を必要とする。これまでに、わが国で生まれたクローン牛間で、生理的なデータを比較した実験から類推すると、環境の要因が体重や脂肪交雑などの経済形質に大きな影響を及ぼしていることがみてとれる。逆に言えば、クローン動物を畜産の研究にもっと活用すれば、少ない動物数で正確な個体レベルのデータが得られると期待できる。なぜ、このような気運が起らないのか不思議である。

これまでの和牛生産は、輸入牛肉との格差を明瞭化するために“霜降り”牛の生産に重点が置かれてきた。それは間違いではないのであるが、今後、飼料価格の高騰、資源循環型農業への転換、環境負荷の低減など、これまでの家畜生産形態は大きな変化が生じる可能性がある。家畜の繁殖性、特に牛の近年の人工授精による受胎率は低下の一途をたどり、平均受胎率は 30%代にまで落ち込んでいる。これは、近年の急速な家畜改良による生産能力の飛躍的な高まりと反比例する。育種改良の方向性を急に変更することは難しく、繁殖性の高い動物の選抜、耐病性のある家畜の選抜など、改良方向の急速な転換にはクローン技術は極めて重要な基幹技術となりうる。

一方、クローン技術をはじめ動物バイオテクノロジーに対する期待は、農学分野よりむしろ医学領域で顕著である。臓器移植・臓器再生医療を目指すうえで、患者の体細胞をクローン技術を使ってリプログラムし、ES 細胞を介して様々な細胞に分化させる構想がある。しかし、クローン胚を作

る過程で、ヒトの未受精卵の提供者が必要であったり、クローン胚をES細胞を樹立するために本来の形態を壊してしまうこと、またクローン胚やES細胞はクローン人間を生み出す可能性を内在していることから、このような構想を進めるにあたって倫理的な問題点が指摘されていた。しかし、本稿でも紹介したように、クローン技術を用いなくても体外で体細胞を誘導しようとする研究が行われるようになり、将来的にはこのような系からES細胞が樹立される可能性がある。しかし、たとえES細胞が樹立されたからといって、たちまち再生医療に直結してゆくとは考えにくい。長期間の細胞培養は、確実に細胞の染色体異常やエピジェネティックな変異を蓄積することは様々な証拠がある。これを移植すればレシピエントに異常が起こる可能性は否定できない。安全性をチェックするためには、マウスやブタなどの実験動物を用いた十分な研究が必要であり、この場合のブタはもはや食べるための家畜ではない。実験動物としての役割をもっているのである。家畜は必ずしも畜産物としての利用するだけではない、とする考え方に到達するのはもう少し時間がかかるのかもしれない。しかし、この場合にも、正確なデータを取るためには、クローン技術は有効に利用できるのである。

おわりに

多くの不確定要素はあるものの、21世紀の畜産業、医学領域まで含めた幅広い産業応用技術として、クローン技術への期待は大きい。一方、消費者の側から見るとクローン技術は単に技術者の押し付けにすぎないのかもしれない。21世紀はバイオテクノロジーと情報産業の時代といわれる、この中で消費者の意識も大きく変わってゆくに違いない。少なくとも、社会に開かれたバイオテクノロジー技術として、情報公開を十分に行いながら、技術開発を進めていく必要があるのは、これまでと変わりはない。体細胞クローン技術は科学的なブレークスルーとなっただけではなく、科学技術と社会とのつながりを再考する機会を与えた意味は大きい。

クローン技術に関してもっと詳しく知りたい読者は、以下の書籍を参考にさせていただきたい^{16, 17, 18, 19)}。また、本年7月以降、農学が21世紀に取り組むべき方向性について、京都大学を中心とする各分野の専門家が執筆した本が京都大学出版会よりシリーズで出版される。先頭を切って、本年7月には家畜生産領域の本が出版されるので、興味のある方はご覧いただきたい²⁰⁾。

参 考 文 献

- 1) Spemann H. In: "Embryonic Development and Induction", 1938; pp. 371-372, New Haven, Yale University Press.
- 2) Briggs R. and King T.J. Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs eggs. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1952; 38: 455-463.
- 3) Gurdon J.B. Developmental capability of nuclei taken from interstitial epithelium cells of feeding tadpoles. J. Embryol. Exp. Morphol., 1962; 10: 622-640.
- 4) Willadsen S.M. Nuclear transplantation in sheep embryos. Nature, 1986; 320: 63-65.
- 5) Campbell K.H., McWhir J., Ritchie W.A. and Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. Nature, 1996; 380: 64-66.
- 6) Wilmut I., Schnieke A.E., McWhir J., Kind A.J. and Campbell K.H. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature, 1997; 385: 810-813.
- 7) Takahashi S., Kubota C., Nakahara H., Shimizu M., Tokunaga T., Yamaguchi M. and Imai H. Importance of cytoplasmic factor after oocyte activation on development of somatic cell-nuclear transferred bovine embryos. In: "Gametes Development and Function" Lauria A., Gandolfi F., Enne G., Gianaroli L. (eds.), 1998; pp. 607, Milan, Serono Symposia.
- 8) Bordonon V., Clarke H.J. and Smith L.C. Factors controlling the loss of immunoreactive somatic histone H1 from blastomere nuclei in oocyte cytoplasm: a potential marker of nuclear reprogramming. Dev.

- Biol., 2001; 233: 192-203.
- 9) Kurosaka S, Nagao Y, Minami N, Yamada M, Imai H. Dependence of DNA synthesis and in vitro development of bovine nuclear transfer embryos on the stage of the cell cycle of donor cells and recipient cytoplasts. Biol. Reprod., 2002; 67: 643-647.
 - 10) Takeda K, Takahashi S, Onishi A, Goto Y, Miyazawa A and Imai H. Dominant distribution of mitochondrial DNA from recipient oocytes in bovine embryos and offspring after nuclear transfer. J. Reprod. Fertil., 1999; 116: 253-259.
 - 11) Takeda K, Akagi S, Kaneyama K, Kojima T, Takahashi S, Imai H, Yamanaka M, Onishi A and Hanada H. Proliferation of donor mitochondrial DNA in nuclear transfer calves (*Bos taurus*) derived from cumulus cells. Mol. Reprod. Dev., 2003; 64: 429-437.
 - 12) Nagao Y, Totsuka Y, Atomi Y, Kaneda H, Lindahl KF, Imai H and Yonekawa H. Decreased physical performance of congenic mice with mismatch between the nuclear and the mitochondrial genome. Genes Genet. Syst., 1998; 73: 21-27.
 - 13) Suzuki T, Minami N, Kono T. and Imai H. Zygotically activated genes are suppressed in mouse nuclear transferred embryos. Cloning Stem Cells. 2006; 8: 295-304.
 - 14) Tamada H and Kikyo N. Nuclear reprogramming in mammalian somatic cell nuclear cloning. Cytogenet Genome Res., 2004;105: 285-291.
 - 15) Miyamoto K, Furusawa T, Ohnuki M, Goel S, Tokunaga T, Minami N, Yamada M, Ohsumi K. and Imai H. Reprogramming events of mammalian somatic cells induced by *Xenopus laevis* egg extracts. Mol. Reprod. Dev., 2007; in press.
 - 16) ジーナ・コラータ: “クローン羊ドリー”、1998; アスキー出版、東京
 - 17) 今井 裕、「クローン動物はいかにして創られるのか」、1998、岩波科学ライブラリー、岩波書店、東京
 - 18) ウィルマット、キャンベル、タッジ:「第二の創造」牧野俊一訳、2002、岩波書店、東京
 - 19) 大澤勝次・今井 裕、「食の未来を考える」、2003、岩波書店、東京
 - 20) 今井 裕 (編)、「21 世紀の農学」—家畜生産の新たな挑戦—、2007、京都大学出版会