

核移植の現状と将来展望

京都大学農学部 教授
入 谷 明

畜産分野では古くから家畜の改良・増殖・効率生産のための飼養管理など広い分野で、いわゆる生物工学的な基礎研究や技術研究が進められてきている。

バイオテクノロジーを広義に解釈すれば、新技術を使った効率的な動物生産ということになり、数十年も前からスタートしているといえる。狭い意味では、今後に期待される多数のクローン動物や有用な形質転換動物の生産などがあげられる。

本稿では下記の項目に見られるような広い意味での改良・増殖の新技術のうち大動物におけるクローニングについて解説する。

1. 家畜の人工授精
2. 胚移植とその技術の改良について
3. 未受精卵及び胚の凍結保存
4. 産子の性制御
5. 遺伝的同型子の生産
6. 家畜の体外受精
7. 卵細胞の完全成熟培養系の確立
8. 形質転換動物の生産

最近 Smith と Wilmut は、図 1 に示すようにヒツジの胚盤胞の内細胞塊の 1 細胞を、未受精卵体内成熟卵から核物質を除いた細胞質とを空の透明帯に入れて電気融合させた。次いで、一日ヒツジの卵管で桑実胚ないし胚盤胞にまで育てたのち本移植して、すでに妊娠していることが確かめられた。うまくいけば 1 卵性 30~40 子のヒツジやウシが作れる可能性を示したものである。表 1 に示すように、この方法で内細胞塊の 1 細胞から桑実胚ないし胚盤胞への発生率は 56%であったという。

表 1 ヒツジ・ウシにおけるクローニング
(Smith & Wilmut, 1988)

融合に使われた細胞	融合率 (%)	Morula-Blastocyst への発育率 (%)
1/16 cell	90	35
1/ICM	81	56

Bondioli がウシにおける核移植によるクローニングを報告している。

支援細胞として、除核した未受精成熟卵細胞質を使用する。本来エジンバラの Smith & Wilmut のグループがヒツジで開発成功した方法である。グラナダ社の常法は図 1 に示すように体内受精卵を供核胚としている。過排卵、人工授精後 5~6.5 日に非手術的に回収した 16~64 細胞を使った。また支援細胞には体外成熟卵では発生能が低いので、体内成熟過排卵卵子を使っている。割球と細胞質の並列には、交流 600KHZ、6 V を使い、1 回当たり 50 μ sec、直流 15V (750V/cm) 3 回で融合させた。融合後は寒天包埋してヒツジ卵管で 5~6 日間予備培養したのち回収して受胎中に最終移植した。また一部の融合胚は卵管上皮細胞との共培養で桑実胚ないし胚盤胞にもってきた。図 2 に示すように第 II 世代、第 III 世代に使う供核胚は約 30 細胞期でとどめて核移植に使用している。

結果は表 2 に示すとおりである。新鮮胚を

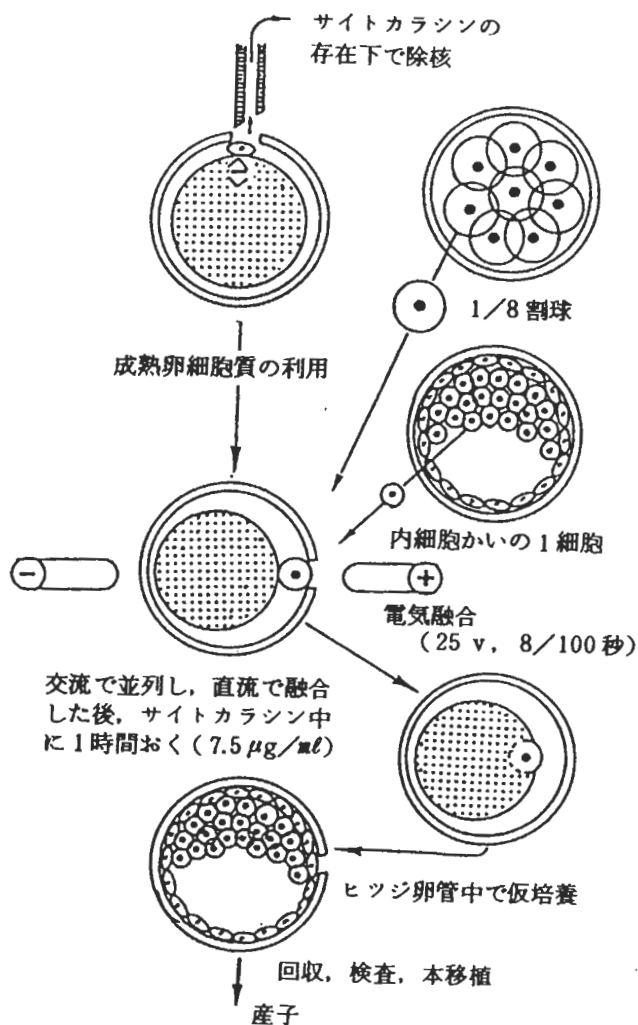


図 1. ヒツジ・ウシでのクローニング

供核胚とした場合、第Ⅰ世代で23%、第Ⅱ～Ⅲでは29%の妊娠率を得ている。凍結胚を供核胚とした場合には、第Ⅰ世代で16%、第Ⅱ世代で13%であって、新鮮胚を供核胚とした方が、ほぼ倍の妊娠率であった。しかし、世代による差はみられていない。核移植胚によって計104頭が妊娠した。

104 妊娠のうち 102頭は妊娠を完了して、うち92頭が生産された。1例では1個の供核胚から8頭が妊娠を完了して、7頭の雄子ウシが生産されている。

これら一連の実験のうちで、いくつかの条件が検討されている。一つは表3に示すように支援細胞として使われる未受精卵体内成熟卵

の hCG 後、採取までの時間と核移植後の胚の発生率との関係をしらべている。表示のように採取時期はほとんど発生率に影響を及ぼしていない。

表 2 ウシにおける異なる処理方法による核移植胚の妊娠成績 (Bondioliら, 1990)

核移植の処理条件	移植胚数	妊娠数 (%)
新鮮供核胚		
第 I 世代	337	79(23.4)
第 II～III 世代	41	12(29.3)
凍結融解供核胚		
第 I 世代	62	10(16.1)
第 II～III 世代	23	3(13.0)
総 計	463	104(22.5)

表 3 受核用の未受精卵の採取時期 (hCG 後の時間) と核移植後の胚の発生 (Bondioliら, 1990)

hCG 後 採取までの 時間	採取 未受精 卵数	融合 胚数	桑実胚～ 胚盤胞の数 (%)*
0～25	9	128	18(14.1)
25～32	1	10	1(10.0)
32～36	73	1,131	181(16.0)
36～40	232	3,431	561(16.4)
40～48	21	249	27(10.8)
>48	9	121	29(24.0)
計	345	5,070	817(16.1)

* 結紮ヒツジ卵管内 6 日間培養

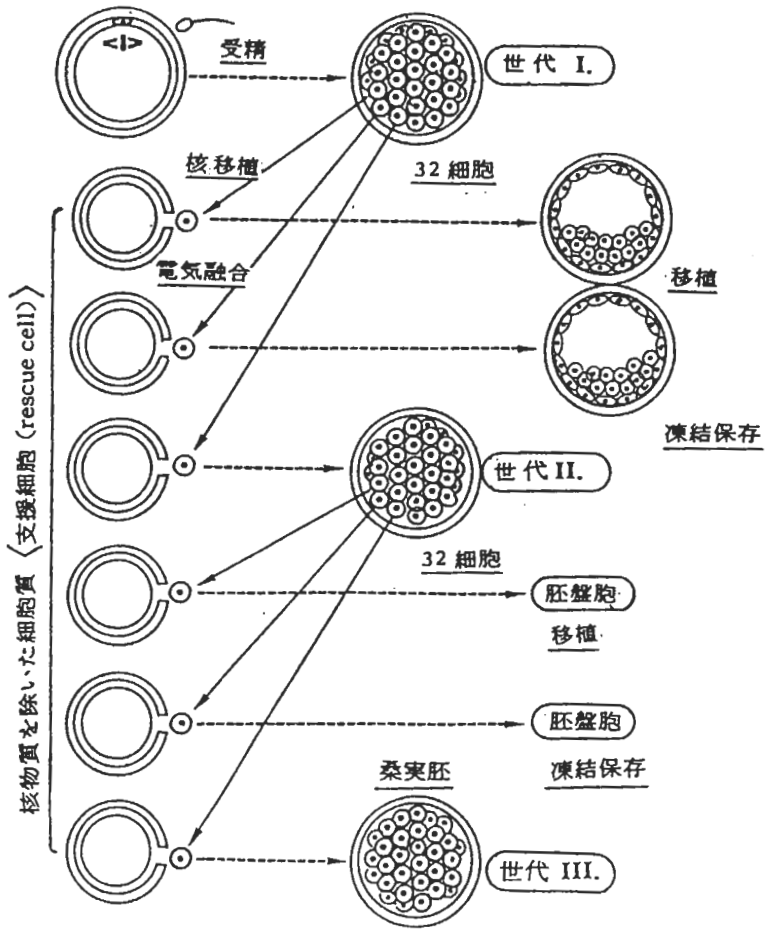


図 2 ヒツジ, ウシにおけるクローニング (入谷原図)