

NEW TECHNOLOGY

動物用IVF (in vitro fertilization) の近況

桑山 正成

くわやま・まさしげ

1962年、大阪生まれ。85年麻布大学獣医学部卒業。農水省畜産試験場・依頼研究員としてウシ卵子の体外受精を研究。88年より社団法人家畜改良事業団・家畜バイオセンター技師。



中生代ジュラ紀(約2億年前)の恐竜の血を吸った蚊が、琥珀の中に閉じ込められていた。その血液の成分を解析し、DNAがつきとめられたら、ティラノザウルスやブラキオザウルスがこの世に再生される。——これは『ジュラシックパーク』のフィクションだ。

しかしいま、全く同じ遺伝子をもつ複数のクローンガエル、鎌型赤血球貧血症のモデルマウス、インターフェロンや血栓溶解剤をつくる大腸菌、羊毛を増産するトランスジェニックシープなどなど、SFのような話が現実となっているようだ。

それらの中で私達にとって最も身近なのが、水産・畜産における発生工学に関する技術だろう。鮭の人工授精はよく聞か、松坂牛や近江牛、乳牛ホルスタインも99.9%が人工授精だ。優秀な遺伝形質(人間にとって)をいかにして大量に市場に供給するか。極めて合理的に、そして加速度的に技術は革新している。

そこで、今回は(社)家畜改良事業団・家畜バイオセンターの桑山技師に、その具体的なお話をうかがった。

——人工受精だけでなく、近年は体外受精を利用した受精卵移植も増えているそうですね。

桑山：そうです。まず屠殺された牛から卵巣を採ります。卵巣から卵子を吸引し、メディウムで培養すると24時間で成熟します。精子と結合できる状態になったら、凍結精子をとかして卵にかけてやります。受精すると二分割、四分割、八分割と進み、六回分裂した時点で胚盤胞という段階に来ます。細胞数は64個以上で、やがて胎盤になる栄養膜細胞と、

胎児になっていく内部細胞塊との2種類の細胞群に分かれる時です。これは体内で言えば、受精卵が卵管から子宮に降りて来る段階なのです。ここで試験管から出して、牛の子宮に入れてやります。これが体外受精卵の移植です。

——仔牛の父親は、どこにいるのでしょうか。

桑山：遺伝的に選抜された最高に優秀な牡牛が、この家畜事業団でも飼われています。1回の採精で、精液約6cc(精子数約50億)から人工授精用のストローが100本できます。1年間に100回採精すると、10000本の凍結精液ができるわけですね。ですから、牡牛は牝牛の一万分の一頭で足りることになります。厳しい世界ですね(苦笑)。

農家で飼われているホルスタインに黒毛和牛の受精卵を入れて、将来的には何百万円にもなる仔牛を生ませ、かつ牛乳を出してもらおうというわけです。

——未成熟卵子から、最終的に仔牛になる率はどの位ですか。

桑山：1個の卵巣から、だいたい10個の未成熟卵子がとれます。受精率は95%程度ですが、胚盤胞にまでいくのは40%位。このなかには品質の良いものも悪いものも含まれていて、凍結融解後の生存率はAランクで90%、Bランクで70%、Cランクで30%。こうして実際に使えるのは4個に1個です。最終的にはこれを凍結させると半永久的に保存でき、好きな時に欲しいだけお湯に溶かすだけでOKというわけです。東京食肉市場では年間2万頭以上の和牛が屠殺され、1頭の牝牛には卵巣が2個ありますから、2万個以上の卵巣が入手できるので、受精卵がざっ



レーザー頭微鏡

受精卵は液体窒素で凍結される

と2万個とれる計算になります。

この技術ができたのが1985年。今から9年前に農水省・畜産試験場の花田博士が世界で始めて成功されました。それまでは、死んだ牛の卵巣など受精するはずがないというのが世界的な常識だったのです。体外受精は日本の技術です。

ところで88年頃オランダで、生きた牛の卵巣から卵子を吸引するという試みがなされました。優秀な資質をもつ牝牛から反復して卵子を採取し、これを体外受精のラインにのせようというわけです。ドイツの畜産試験場のデータによりますと、吸引後48時間でちゃんと再生するので、2日ごとに1回につき10個ずつ2か月吸い続けても変化はなかったということです。これを単純計算しますと、1頭から年間2000個近い卵子が採れることになります。するといまの技術で仔牛は一年間に約200頭生まれる計算。牛の繁殖期間は10年、一生で多くて10頭の仔牛を生むのが通常ですから、もう殆ど畜産の革命ですね。

——これまで体内で行われていたことが体外で行われるようになると、こんどは卵子に対する人為的な操作が可能になるというわけですね。

桑山：そうですね。例えば今まで繁殖の長年の夢だった雄と雌の生み分けが技術的にクリアできるようになっています。胚盤胞ステージの卵から、マイクロマニピレーターという機械で細胞を採り、染色体検査によりxyを判定する方法。また同様に、採取した卵の細胞の一部をPCR法により性別判別し、残りの卵をレシピエントへ移植して、任意の性の産仔を得る方法。これで100%セックスコントロールできます。更に、精子段階で分ける方法もあります。牛の場合、y染色体のほうがxよりDNA量が少なく、3.9%ほど軽いのです。DNAを蛍光色で染めると、3.9%光りが少ない。フローサイトメーターという機械でだーっと精子を流し、その光りの差を見分けます。1時間に20万～40万匹、確率は90～95%です。その精子を用いて体外受精すると、生まれてくる仔牛のセックスコントロールが容易になって来ます。

現在残されている問題はコスト面です。乳牛が欲しい場合は雌だけ、肉になる和牛が欲しいなら成長の速い雄だけを人工授精すればいいのです。次は遺伝形質の応用または利用。その一つがクローン作成技術というものです。この方法は二種類の卵子を使います。ひとつはドナーと言って優秀な遺伝形質をもっているもの。通常8細胞期胚を透明帯から取り出し、酵素をかけて8つのバラバラにします。こんどはもう一方の未成熟卵子の前核を取り去り、ここに左記の卵をくっつけ膜を融合させて、二分割、四分割させてやるのです。そうすると、一頭1000万円もする牛の1個の卵子から、8頭の遺伝的に全く同じなクローン仔牛が生まれることになります。この技術は86年から成功しています。もっと言いますと、1個の卵から8個に分割させ、それが8細胞期になったらまた8個に分割させ、また……というふうに、理論上無限に増殖させることも可能です。現在は、ICMという胚盤胞段階の胎児になっていく細胞から、何千何万のオーダーでクローン用の細胞を増殖させES細胞の利用技術が中心課題になっています。ここまで来るとちょっと怖いですね（笑い）。

——増殖だけでなく、形質の操作も可能ですか。

桑山：牛もいずれは遺伝子地図を解読するようになるでしょう。でも今はまだそこまでは行きません。例えばスーパーカウという牛がいます。これは1年間に2万キロ以上の乳を出します。通常は6千～7千キロですから、約3倍。そこから受精卵をとるだけで十分ですから、遺伝形質の操作までは必要がないという感じです。

それより、いまインターフェロンを作っている大腸菌の代わりに、トランスジェニックにより牛を使えば、牛乳の中にインターフェロンがどんどん出て来る。1頭2万キロ出せば、それで世界中の需要が足りてしまいます。すでに1992年までに血液凝固因子やインスリン様成長因子など、40種類の方法により作り出され、これらの物質を作り出すトランスジェニックアニマルも豚で2万頭以上、牛や羊で5000頭以上作出されています。