

# ホルスタイン種体細胞クローン牛 1 頭の発育・泌乳状況調査

笠井 裕明・福見 善之・後藤 充宏\*\*・渡辺 裕恭・片山 正敏

## 要 約

体細胞クローン牛の生産能力を把握するため、育成状況及び初産時泌乳成績を同居中の育成牛またはドナー牛及びその全姉妹 2 頭と比較した。供試牛はホルスタイン種育成雌牛の皮膚組織由来細胞をドナー細胞として誕生したクローン牛 1 頭で、他の同居中の育成牛（人工授精産子）11 頭と同様に生後 3～12 ヶ月齢時まで日本飼養標準に基づいた同一成分の飼料を給与し、体重・体格を毎月定期的に測定、その値を比較した。分娩後は牛群検定事業に登録し、得られた成績と補正値をドナー牛及びその全姉妹 2 頭と比較するとともに、体型審査を行い一般外貌の相似性をドナー牛と比較した。その結果、クローン牛の育成期間中の体重は、同居中の育成牛の平均値と同様に標準発育値の上限より高い値で、体高は標準発育値付近で推移した。試験期間中の DG（1 日増体量）はクローン牛、同居育成牛平均値ともに 1.0kg / 日を上回った。分娩後泌乳開始から 305 日間の乳量の検定数値（補正値）、乳脂率、乳蛋白率、無脂固形分率はドナー牛 7,731kg（8,913）、4.3%、3.6%、9.1%、クローン牛 8,757（10,722）、4.3、3.4、8.8。体型審査の結果、決定得点はドナー牛及びクローン牛ともに 81 点であり、当研究所で誕生した体細胞クローン牛 1 頭は正常に発育し、生産能力及び一般外貌も共にドナー牛と同程度の能力を有することが解った。

## 1 目 的

牛体細胞クローン胚の移植では流死産率が高く、また、正常妊娠期間で分娩に至っても、過大子であったり、主要臓器に異常が認められ生後直死する場合もあり<sup>1)</sup>、通常の体内受精由来胚の移植に比べ産子の生産率は低いのが現状である<sup>2,6)</sup>が、一定の割合で生存産子を誕生させることも可能である。しかし、生存して誕生したクローン牛についてもその遺伝的能力が、細胞提供牛であるドナー牛と同じであるかどうか不明な部分も多く、生産能力に対する細胞質等の影響についても検討する必要がある。

今回、我々はクローン牛の生産能力を明らかにする目的で、ホルスタイン種体細胞クローン牛 1 頭について、育成状況及び初産時泌乳成績を同居中の育成牛またはドナー細胞提供牛及びその全姉妹 2 頭と比較し若干の知見を得たので報告する。

---

\* 徳島県畜産課

## 2 方 法

### (1) クローン牛の発育状況調査

クローン牛の育成期間中における発育状況を把握するため、同時期に誕生した 11 頭の人工授精雌産子と日本飼養標準に基づく同一飼料給与によってその発育状況を比較検討した。

供試牛は継代培養したホルスタイン種育成雌牛(12ヶ月齢時)の皮膚組織由来細胞をドナー細胞として誕生した体細胞クローン牛<sup>1)</sup>(図1)で、同時期に誕生した他のホルスタイン種育成雌牛(人工授精産子)11頭と同様に誕生から3日間初乳,45日目まで代用乳,3ヶ月齢時まで人工乳で哺育した後12ヶ月齢時までにはTDN(可消化養分総量)79.8,CP(粗蛋白質)16.6%の濃厚飼料(表1)を1日2回分離給与,粗飼料はスーダンとアルファルファ乾草を自由菜食となるよう給与,野外放飼場を併設した屋内で生年月日の近い2頭で群飼した(写真1)。なお,給与飼料成分の構成について日本標準飼料成分表(1995年版)<sup>5)</sup>の値を基に設計した。体重・体格及び飼料摂取量は生後3ヶ月より毎月定期的に測定し,日本飼養標準におけるホルスタイン種育成雌牛の標準発育値を基準にしてクローン牛及び同居育成牛とその値を比較した。

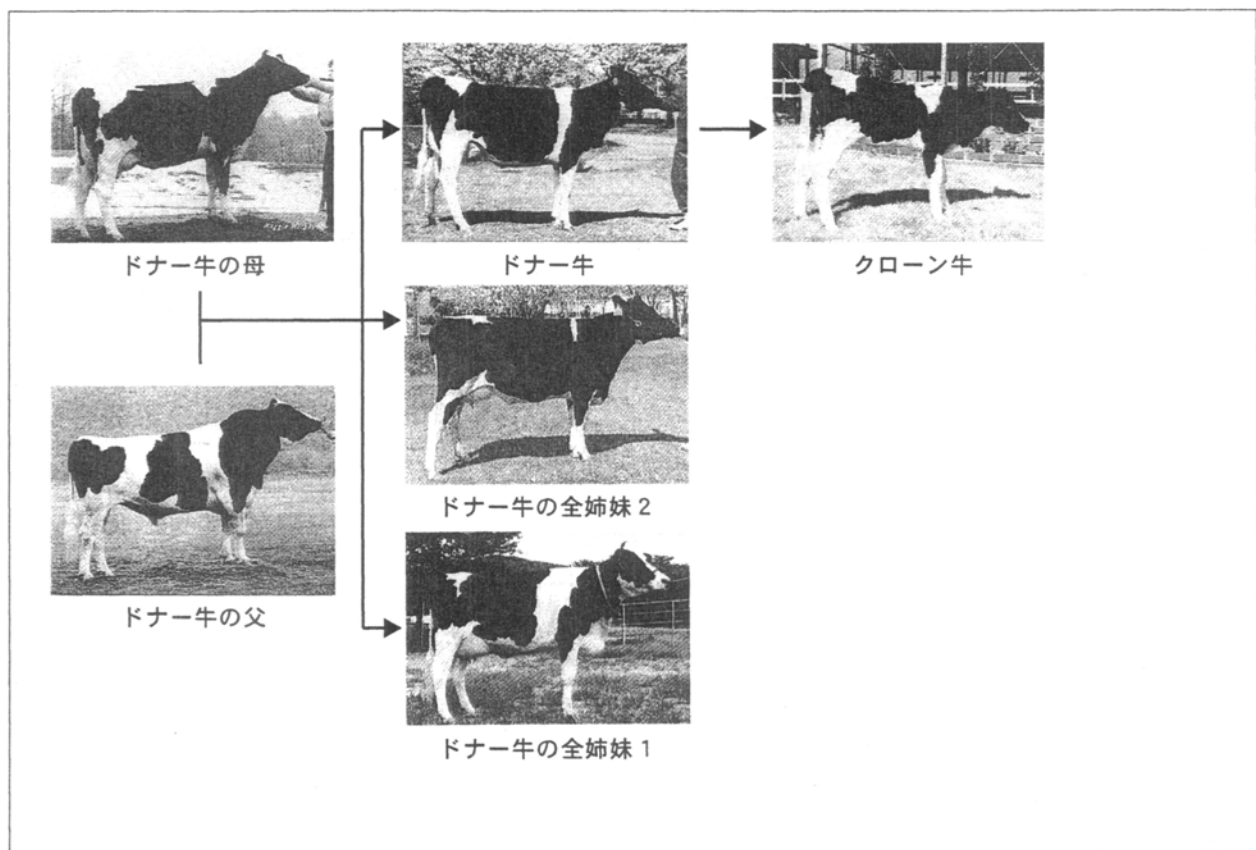


図1 ドナー牛の父母牛及び全姉妹並びにクローン牛



写真1 育成舎

## (2) 泌乳能力調査

クローン牛の泌乳能力を把握するため、牛群検定事業に登録し検定数値を基に、その成績をドナー牛及びその全姉妹2頭と比較検討した。

表1 哺育・育成期間給与飼料

|                |                               |
|----------------|-------------------------------|
| 哺育期間(0～90日目)   |                               |
| 0～3日           | : 初乳                          |
| 4～45日          | : 代用乳+乾草                      |
| 46～90日         | : 人工乳+乾草                      |
| 育成期間(91～365日目) |                               |
| スーダン           | : 2.5kg 大豆粕: 0.193kg          |
| アルファ           | : 0.5kg 魚粉: 0.002kg           |
| トウモロコシ         | : 1.1kg TDN: 71.92% (充足率100%) |
| フスマ            | : 1.56kg CP: 14.67% (充足率100%) |
| 脱皮大麦           | : 0.144kg DG: 0.7kg/日         |

クローン牛は生後23ヶ月齢で人工授精により妊娠させ、分娩後はTDN71.9, CP15.9, CFib(粗繊維)17.9%成分の飼料(表2)をTMR給与し、2回/日搾乳で分娩後泌乳開始月より、毎月1回定期的に測定した乳量からWOOD曲線<sup>7)</sup>を用いて分娩後305日間の推定乳量を計算する牛群検定事業に登録し、得られた検定成績と補正値をドナー牛及びその全姉妹2頭の初産時泌乳能力と比較した。また、泌乳検定中にホルスタイン登録協会審査員による体型審査を行いその一般外貌の相似性をドナー牛と比較した。

## 3 結果

クローン牛及びドナー牛とその全姉妹2頭の生時体重は各々44.0, 42.0, 43.0, 45.0kgであった(表3)。試験期間中供試牛は日本使用標準に示す要求量に対し十分な栄養摂取水準で推移しドナー牛の

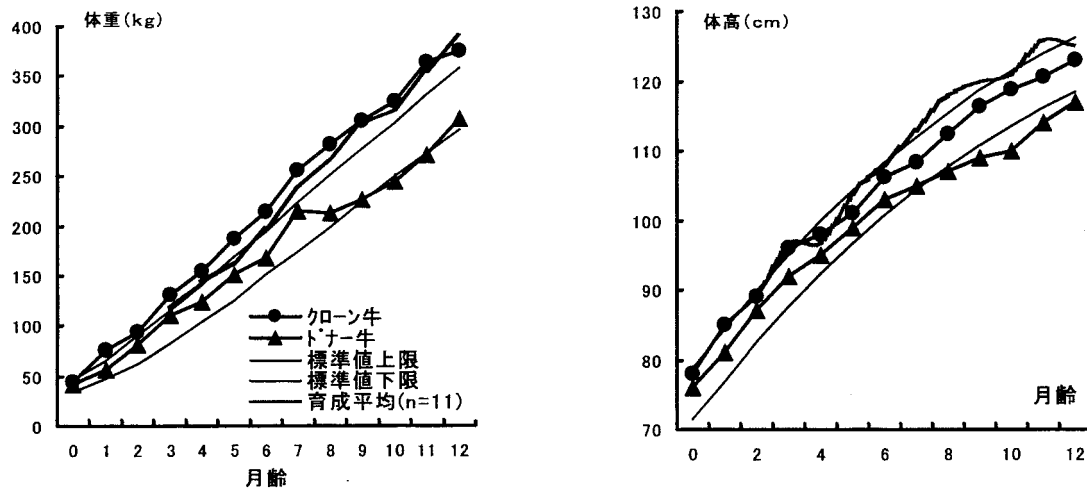
育成期間中の体重は、同居中の育成牛の平均値と同様に標準発育値の上限より高くドナー牛及び同居牛の平均値（±SD）は終了時 375 及び 376±23.9kg，体高は同居牛と同様に標準発育値付近で推移し終了時 123 及び 128±6.0cm であった（図2）。

表2 泌乳期給与飼料（コンプリートフィーディング）

|        |         |         |         |
|--------|---------|---------|---------|
| スーダン乾草 | : 17.9% | 大豆粕     | : 3.8%  |
| エンバク乾草 | : 4.3%  | 綿実      | : 2.2%  |
| アルファ乾草 | : 8.9%  | T D N   | : 71.9% |
| 乳配     | : 42.8% | C P     | : 16.1% |
| ビートパルプ | : 17.8% | C F i b | : 17.9% |
| 圧ペン麦   | : 2.3%  | A D F   | : 19.8% |
|        |         | N D F   | : 34.8% |

表3 クローン牛及びドナー牛の生時体重と初産次分娩状況

| 牛      | 生産状況        |      | 繁殖状況   |      |              |
|--------|-------------|------|--------|------|--------------|
|        | 在胎期間（受胎牛）   | 生時体重 | A I 月齢 | 妊娠期間 | 産子体重 (kg, 性) |
| クローン牛  | 274(ホルス経産)  | 44   | 21     | 277  | 35(♂)        |
| ドナー牛   | 281(ホルス未経産) | 42   | 17     | 277  | 38(♂)        |
| ドナー牛姉1 | 274(ホルス未経産) | 39   | 17     | 277  | 41(♀)        |
| ドナー牛姉2 | 277(ホルス未経産) | 38   | 22     | 275  | 38(♀)        |



| 試験牛            | 体重 (350kg) 到達週齢 | 体高 (125cm) 到達週齢 |
|----------------|-----------------|-----------------|
| A I 産子 (n: 11) | 47.8 ± 3.9      | 46.3 ± 4.6      |
| クローン牛          | 46              | 55              |
| ホル協標準          | 56              | 56              |

図2 クローン牛及び同居育成牛の発育試験結果

飼養環境が異なるため直接比較できないが体重・体高ともにドナー牛より高い値で推移した。試験期間中の DG (1 日贈体量) はクローン牛, 同居育成牛平均値ともに 1.0kg / 日を上回った。日本飼養標準における人工授精適期体重・体高<sup>3)</sup> (350kg, 125cm) に到達した週齢は同居育成牛が体重で 47.8 ± 3.9, 体高で 46.3 ± 4.6 週目, クローン牛は 46 及び 55 週目であった (図 2)。

妊娠期間はドナー牛 278, クローン牛 282 日で各々雄産子 38, 35kg を自然分娩した。

泌乳開始から 305 日間の乳量の検定数値 (補正值), 乳脂率, 乳蛋白率, 無脂固形分率はクローン牛 8,757 (10,722), 4.3%, 3.4%, 8.8%, ドナー牛 7,731kg (8,913), 4.3, 3.6, 9.1, であった。なお, ドナー牛を含む全姉妹 3 頭の平均値 (±SD) は 7,932 ± 405 (9,269 ± 667), 3.9 ± 0.2, 3.3 ± 0.1, 8.7 ± 0.2, ドナー牛と同年に分娩した初産牛 8 頭の平均値は 7,666 ± 833 (8,917 ± 1,102), 3.9 ± 0.4, 3.3 ± 0.2, 8.9 ± 0.3。クローン牛と同年に分娩した初産牛 8 頭の平均値は 7,896 ± 1,020 (9,161 ± 1,258), 4.0 ± 0.5, 3.3 ± 0.3, 8.9 ± 0.3 であった (表 4)。

表 4 クローン牛及びドナー牛並びに全姉妹牛の初産時泌乳成績

| 牛       | 分娩月齢 | 実乳量 (kg)      | 補正值 (kg)      | 乳脂率       | 乳蛋白       | 無脂固形      |
|---------|------|---------------|---------------|-----------|-----------|-----------|
| クローン牛   | 2-05 | 8,757         | 10,722        | 4.3       | 3.4       | 8.8       |
| ドナー牛    | 2-02 | 7,731         | 8,913         | 4.3       | 3.6       | 9.1       |
| ドナー牛姉 2 | 2-02 | 7,569         | 8,691         | 3.8       | 3.5       | 8.8       |
| ドナー牛姉 1 | 2-07 | 8,498         | 10,204        | 3.7       | 3.1       | 8.5       |
| 3 姉妹平均  |      | 7,932 ± 405   | 9,269 ± 667   | 3.9 ± 0.2 | 3.3 ± 0.1 | 8.7 ± 0.2 |
| ドナー同居牛  | 平均   | 7,666 ± 833   | 8,917 ± 1,102 | 3.9 ± 0.4 | 3.3 ± 0.2 | 8.9 ± 0.3 |
| クローン同居牛 | 平均   | 7,896 ± 1,020 | 9,161 ± 1,258 | 4.0 ± 0.5 | 3.3 ± 0.3 | 8.9 ± 0.3 |

表 5 体型審査結果 (決定得点及び各部得点)

| 牛       | 審査年齢 | 産次 | 一般外貌 | 肢蹄 | 特質 | 体積 | 乳器 | 決定得点 |
|---------|------|----|------|----|----|----|----|------|
| クローン牛   | 3-00 | 初  | 78   | 80 | 80 | 81 | 82 | 81   |
| ドナー牛    | 2-07 | 初  | 80   | 79 | 82 | 81 | 81 | 81   |
| ドナー牛姉 2 | 2-07 | 初  | 78   | 81 | 80 | 80 | 80 | 80   |
| ドナー牛姉 1 | 2-07 | 初  | 83   | 82 | 84 | 83 | 83 | 83   |

表 6 体型審査結果（線形形質）

| 牛       | 決定得点 | 外 貌 |    |    | 尻  |    | 肢 蹄 |    |    | 乳 房 |    |    |    | 乳 頭 |    |    |    |
|---------|------|-----|----|----|----|----|-----|----|----|-----|----|----|----|-----|----|----|----|
|         |      | 高さ  | 強さ | 深さ | 鋭角 | 角度 | 幅   | 側望 | 後望 | 肢蹄  | 前付 | 後高 | 後幅 | 懸垂  | 深さ | 配置 | 長さ |
| クローン牛   | 81   | 5   | 5  | 5  | 6  | 3  | 5   | 5  | 8  | 5   | 7  | 8  | 7  | 7   | 6  | 5  | 4  |
| ドナー牛    | 81   | 4   | 6  | 6  | 7  | 5  | 4   | 6  | 5  | 5   | 7  | 7  | 4  | 6   | 7  | 5  | 2  |
| ドナー牛姉 2 | 80   | 5   | 5  | 6  | 6  | 4  | 5   | 5  | 5  | 6   | 7  | 7  | 5  | 7   | 8  | 6  | 2  |
| ドナー牛姉 1 | 83   | 7   | 6  | 6  | 6  | 6  | 6   | 6  | 9  | 4   | 8  | 8  | 7  | 6   | 8  | 4  | 4  |

体型審査の結果，決定得点及び各部の得点では，クローン牛とドナー牛の比較において一般外貌及び特質で 2 ポイント，肢蹄及び乳器で 1 ポイントの差が認められたが，決定得点では互いに 81 点で同点であった。ドナー牛とその姉 2 との間には特質において 2 ポイントの差，他の形質では 1 ポイントの差が認められ決定得点は 81 点と 80 点であった（表 5）。詳細に比較した線形形質では尻の角度，肢蹄後望，乳房後幅，乳頭長さの 4 カ所 で 2 ポイント以上の差がクローン牛とドナー牛の間に認められたが他の項目ではほぼ同点であった。なお，ドナー牛とその姉 2 との間には線形形質においては 2 ポイント以上の差は認められなかった（表 6）。

#### 4 考 察

今回，試験に供試したクローン牛は同一ドナー細胞由来のクローン胚移植により生産した 2 頭のうちの 1 頭で，他の 1 頭は出生直後，臍帯からの出血により死亡し，病理所見では肝臓における線維芽細胞の増殖が認められた<sup>1)</sup>。供試牛は正常に誕生し，哺育期間中には特筆すべき症状は認められなかった。生時体重が 44kg で，ドナー牛及びその全姉妹よりもやや重いのは受胎牛の影響と思われる。

育成試験の結果から体細胞クローン牛 1 頭は同居育成牛と同様に正常に発育したと考えられる。給与飼料中の CP 値を市販の高泌乳牛用配合飼料と同一レベルに設定してあるため，体重は他の育成牛と同様に標準発育値よりも高い値で推移したが，体高はほぼ標準値に近い値であり，人工授精適期<sup>3)</sup>とされる体重 350kg，体高 125cm に到達する期間も同居牛と同様の時間であった。

育成試験終了後クローン牛は人工授精により 277 日目に雄産子を自然分娩した。種雄牛は分娩難易度の低いホルスタイン種種雄牛を用いたこともあるが誕生した産子の体重はドナー牛及びその全姉妹の後代牛同様に正常な重さであったが，今後，さらに，クローン牛を供卵牛として活用し後代牛のデータの蓄積を図る必要がある。

検定成績では，ドナー牛の系統は一族の中から数頭の種雄牛を作出する，乳成分値の高さが特徴的な母系である。受精卵移植により誕生したドナー牛を含む 3 姉妹の中でドナー牛の乳成分値は他の姉妹よりも高い値であったが，クローン牛も高く，互いに同時期に初産分娩した同居牛との比較においても同様の傾向を示し，斉一性の高さが認められた。乳量ではクローン牛がドナー牛よりも実乳量で 1,000kg 高い値を示した。クローン牛の分娩月齢がドナー牛より 3 ヶ月遅れたこと，ドナー牛の初産時とクローン牛の初産時とはほぼ同一構成のコンプリートフィードによる飼料給与ではあるが同

居初産牛の泌乳能力が 200kg 高まっていること等の影響によると推察され、泌乳能力に差はないと考えられる。

体型審査結果では、線形形質でドナー牛と異なる部位もあったが、全体の決定得点は同点であり、受精卵移植で誕生させた全姉妹と同程度に相似性は高いと推察された。

以上のことから、当研究所で生産した体細胞クローン牛 1 頭は、その発育性、泌乳能力及び一般外貌においては、ドナー牛との斉一性は受精卵移植により生産した全姉妹同様に高いと推察された。今後は、その繁殖能力についても検討し、過剰排卵処理に対する反応性をドナー牛と比較し、後代牛の能力について実証していく予定である。

## 引用文献等

- 1) 笠井裕明，福見善之，刈谷亮介，後藤充宏 乳牛における体細胞をドナー核に用いた核移植産子の生産 徳島県畜産試験場研究報告（1999）40：1-4
- 2) 笠井裕明，福見善之，後藤充宏 ホルスタイン種乳用牛における体細胞クローン牛の双子生産 徳島県立農林水産総合技術センター畜産研究報告（2001）1：6～11
- 3) ホルスタイン種雌牛の標準発育値 （社）日本ホルスタイン登録協会 平成 7 年 11 月（1995）
- 4) 農林水産省農林水産技術会議事務局編 日本飼養標準．1999 年版．中央畜産会．東京（1999）
- 5) 農林水産省農林水産技術会議事務局編 日本標準飼料成分表．1995 年版．中央畜産会．東京（1995）
- 6) 体細胞クローン牛の移動報告資料（2001） 農林水産技術会議事務局ホームページ
- 7) Wood, P. D. P. 1969. Factors affecting the shape of the lactation curve in cattle. *Anima. Prod.* 11:307～316