

動物分野におけるバイオテクノロジー

既に応用されている技術

- | | |
|--|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. 胚の凍結保存 (Embryo Freezing) 2. 体外受精 (<i>In Vitro</i> Fertilization) 3. 顕微授精 (Microinsemination) 4. 人工授精 (Artificial Insemination) 5. 胚移植 (Embryo Transfer) 6. クローニング (Cloning)
割球の分離, 胚の分断
核移植 7. キメラ (Chimeras) | <ol style="list-style-type: none"> 8. 性別別 (Sexing) <ol style="list-style-type: none"> ① 精子による性別別 <ul style="list-style-type: none"> ・フローサイトメトリー ・蛍光 <i>in situ</i> ハイブリダイゼーション ・密度勾配遠心法 ② 卵子による性別別 <ul style="list-style-type: none"> ・細胞組織学的検査 (性染色体) ・PCR法 |
|--|---|

研究段階または将来の可能性を有する新しい技術

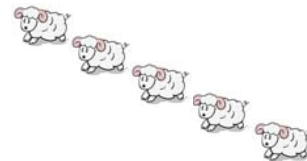
- | | |
|---|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 9. 遺伝子移植 (Gene Transfer)
形質転換動物 10. ゲノム解析 (Genomics) 11. 遺伝子マーカー (Genetic Marker) | <ol style="list-style-type: none"> 12. 再生医学 (Regenerative Medicine) 13. 遺伝子診断 (Gene Diagnosis) 14. 遺伝子治療 (Gene Therapy) |
|---|--|

Micromanipulation 顕微操作

CELL BIOLOGY
OF
MAMMALIAN
EGG MANIPULATION
EDITED BY
T. Greve, P. Hyttel and Barbara J. Weir



クローニング 一卵性多数子の生産



クローン

ある個体とまったく同じ遺伝子をもつコピー

ヒトの一卵性双生児は、
自然にできたクローン



双子同士が
クローン




両親からもらった遺伝子が、
互いにまったく同じ

ドリリーが生まれるまで



1892年 アウグスト・ワイスマン
『生殖質説』-遺伝理論



神経細胞の決定因子
筋細胞の決定因子
すべての決定因子
生殖細胞の継続
体細胞への分化

生殖細胞 生殖細胞 生殖細胞

ワイスマンの遺伝理論

ワイスマンの遺伝理論は正しいのか？


- ヴィルヘルム・ルー(カエル)
- ハンス・アドルフ・エドゥアルト・ドルーシュ(ウニ)

ルー(カエル) 熟した針 卵割
カエル受精卵 2細胞期胚
死滅細胞 生存細胞
胚の半分が発生
細胞 神経胚
胚の半分は発生しない

受精後 受精後の除去
4つに分離
1/4個球からプルチウス幼生に発生

ドルーシュ(ウニ)

1902年 ハンス・シュペーマン
(サンショウウオ)



核 髪の毛 核
2細胞期胚

こいつは役に立ちそうだが、一本しかない髪の毛のは、ちょっとかわいそうだけど

1902年 ハンス・シュペーマン
(サンショウウオ)

核 髪の毛 核
2細胞期胚 140日目

胚を二つにしたとき、それぞれが全遺伝情報をもつ

ぶんか ぜんのうせい
分化全能性

初歩的なクローニング実験

髪の毛 髪の毛をゆする核を1個元に戻す
8細胞期胚 核 16細胞期胚 140日目

初期胚の細胞それぞれが全遺伝情報をもつ


1938年 ハンス・シュペーマン『胚発生と誘導』
分化した細胞の核は新しい個体への発生能をもつか？

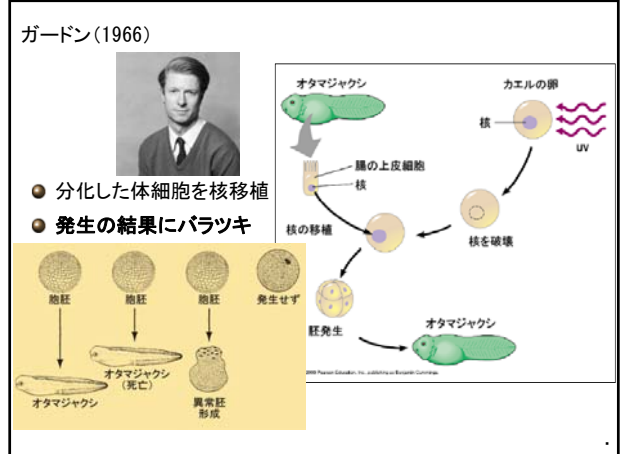
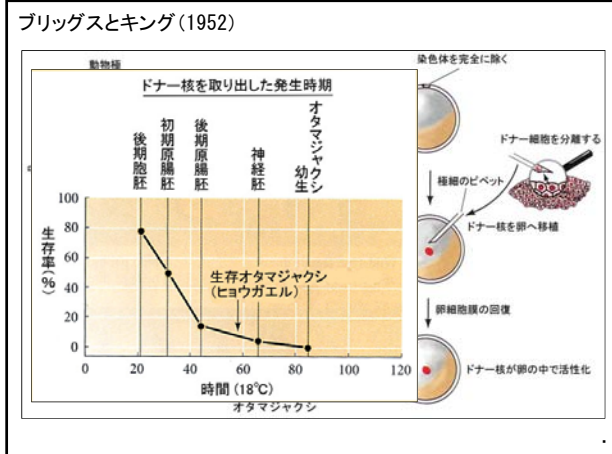
ある奇想天外な実験 核移植

- ① 分化した細胞から核を取り出し、
- ✗ あらかじめ核を取り除いておいた卵子の中に入れる

1952年 ロバート・ブリッグス(カエル)
トーマス・J・キング

1966年 ジョン・ガードン(カエル)

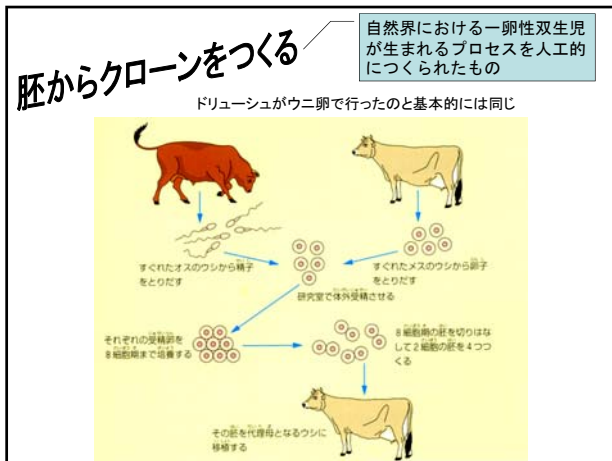
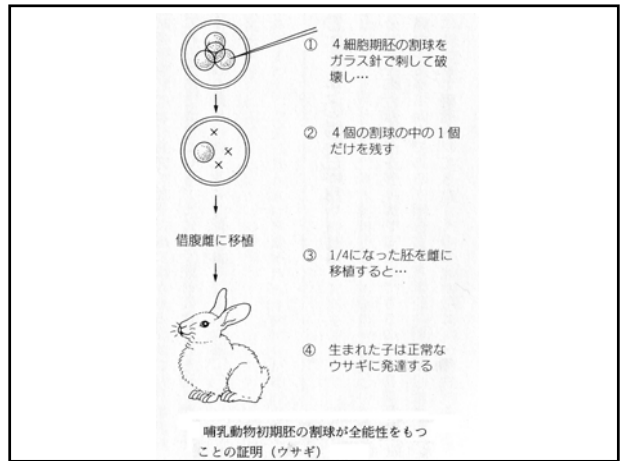




まとめ

ドリーが生まれるまで

- 初期胚の細胞 (割球) に全動物体を形成するだけのすべての遺伝情報が備わっている
- ぶんか ぜんのうせい
- 分化全能性をもつ**
- 発生ステージが進むと、生存率が低下する
- 完全に分化した細胞 (体細胞) の分化全能性は **?**



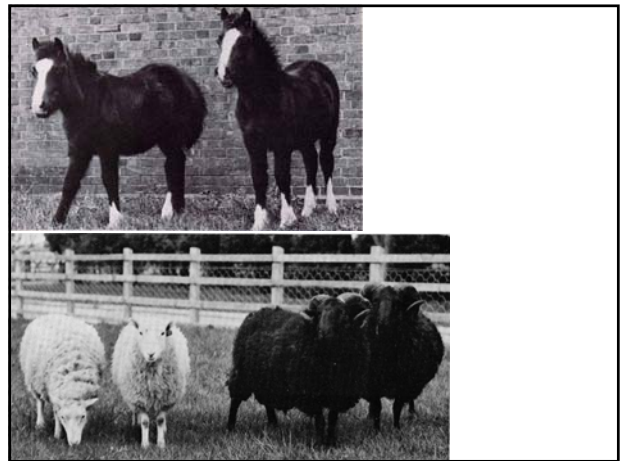
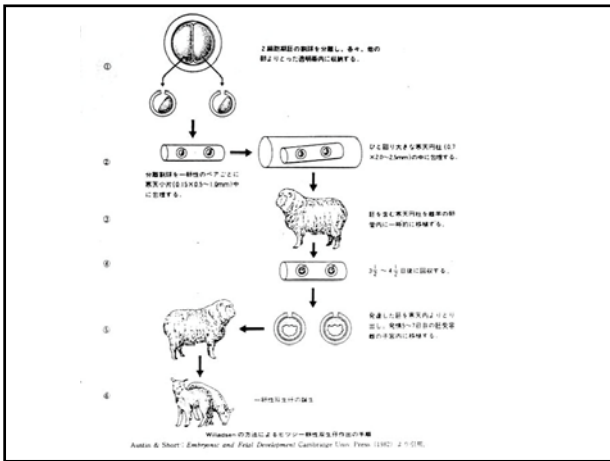
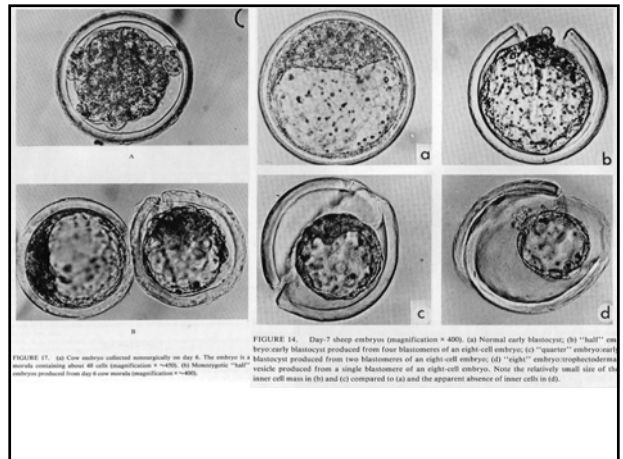
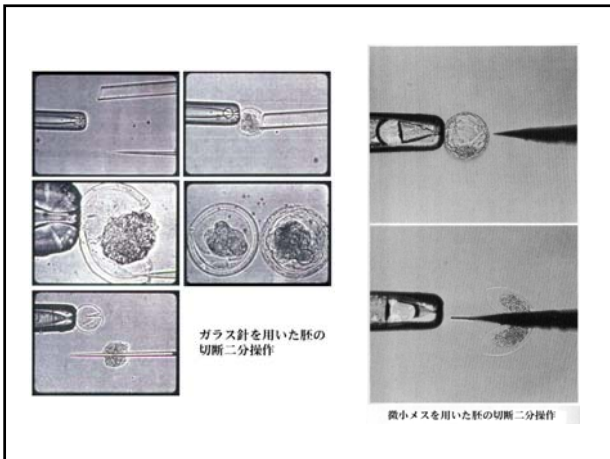
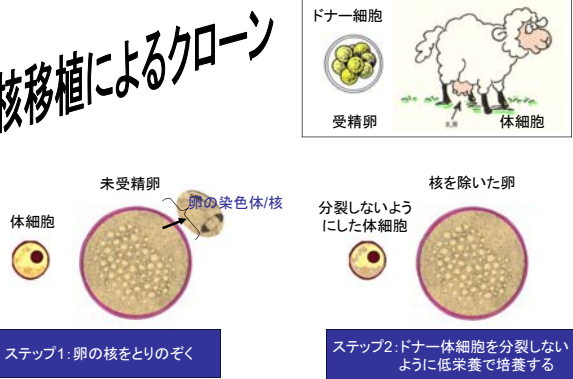


Fig. 5.14. Identical quintuplet lambs derived from five of the cells of an eight-cell embryo. Each cell was aggregated with a 'carrier' cell from another embryo which did not contribute to the lamb itself. Note the slight differences in pigment patterns on heads and legs, despite the identical genotypes. The pattern and distribution of freckles or birthmarks may vary similarly in human identical twins, triplets, etc. (Unpublished observations of Steen Willadsen and Carole Fehilly.)

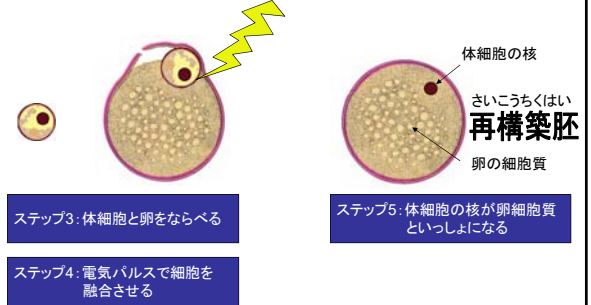


ヒツジ8細胞期胚の割球分離によって生産された一卵性5つ子

核移植によるクローン



電気細胞融合



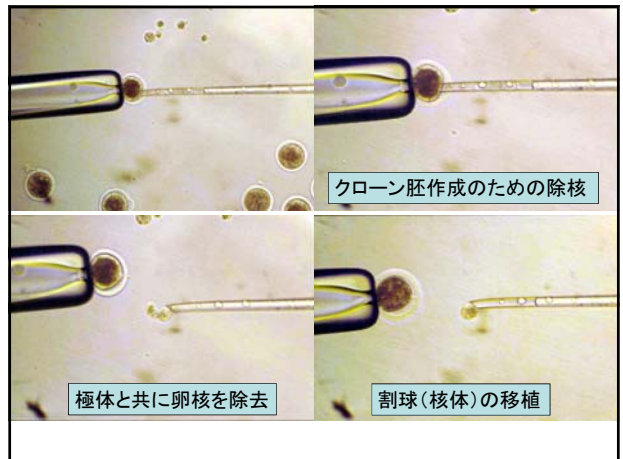
クローン家畜の誕生

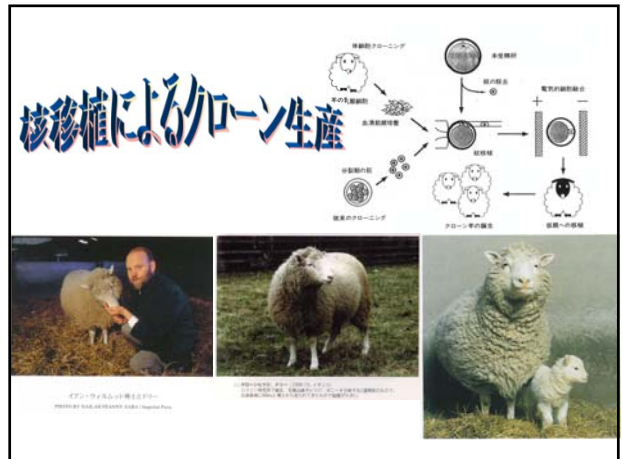
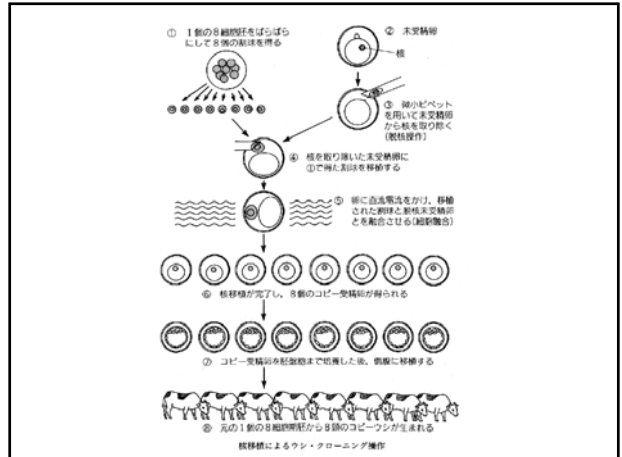
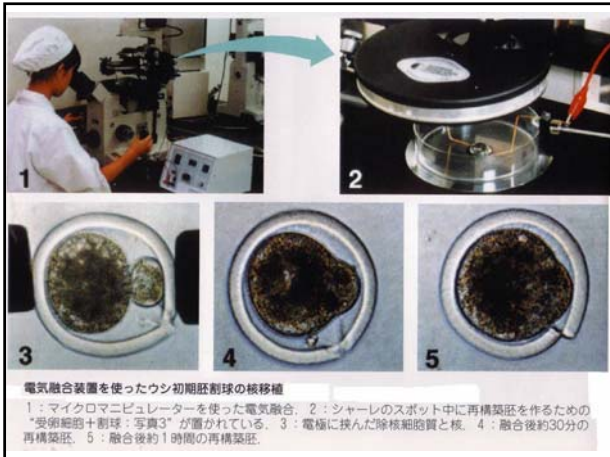


ステップ6: 代理母へ胚移植



ステップ7: クローンの誕生
体細胞と遺伝的には同じ





哺乳動物のクローン 核移植

1986年 スティン・ウィラードセン
同じ胚細胞からヒツジのクローン 家畜におけるはじめての核移植によるクローン

1995年 イアン・ウィルマツら
長期間培養した同じ胚細胞からヒツジのクローン

1996年 イアン・ウィルマツら
体細胞からヒツジのクローン

ミーガンとモーラ、1995年8月 ...

ドリーは大人の細胞からつくられた、はじめてのクローン動物です

大人のヒツジ

乳腺細胞

完全なヒツジドリー

ドリーの名前は米国の歌手・女優のDolly Partonにちなんで名づけられました。

1996年7月5日、ヒツジの「ドリー」が生まれました。

2003年2月に6歳という、普通のヒツジの平均寿命の半分の年齢で死亡しました。

1998/4

1999

黒(卵細胞質ドナー) アグーチ(核ドナー)

Albino (nucleus donor)

Chondroitinase (Agouti)

アルビノ(代理母) 両側:クローンマウス(アグーチ)

核移植

胚培養

代理母

クローンマウス

まとめ クローン動物作出技術

- 分離・分割技術
 - 割球分離法(2-8細胞期胚)
 - 胚分割法(桑実胚, 胚盤胞)
- 核移植
 - 初期胚割球核移植
 - 体細胞核移植
 - 胎子体細胞
 - 成畜体細胞

まとめ クローン動物のつくり方

20,000 kg乳量 ♂

20,000 kg乳量 ♀

遺伝子の組成不明 受精卵

乳腺細胞 はるかに多数、能力は証明済み

受精卵クローン

体細胞クローン

クローンウシの能力は不明

能力20,000 kg保証付き

受精卵クローンと体細胞クローンとの違い

体細胞クローンの問題点

成功率が低い $\frac{1}{277}$ 0.4%

- 生まれながらに病気
- 異常に大きい

クローン産子は何歳なのか 6歳の母親の細胞

ドリーは生まれたとき何歳?

体細胞クローンウシの生産状況

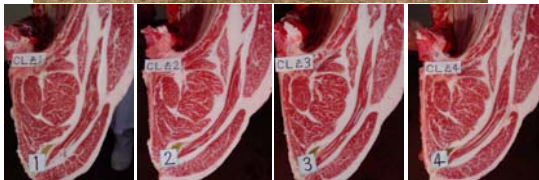
		10,000個
移植可能胚率	50%	5,000
受胎率	36%	1,800
流産率	55%	990
分娩率	45%	810
生存率	69%(対分娩)	558

体細胞の種類：皮膚，筋肉，卵管上皮，卵丘細胞，子宮上皮，乳腺上皮，繊維芽細胞

クローン技術と産業

家畜のクローン

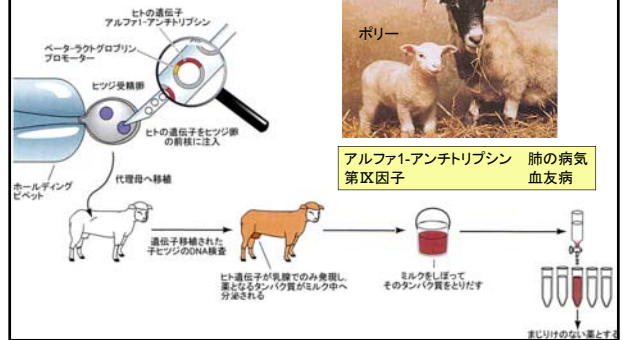
- 🐄 家畜の改良が短い期間でできる
- 🐄 優れた資質を備えた家畜を無限に生産できる



CL去1の枝肉写真 CL去2の枝肉写真 CL去3の枝肉写真 CL去4の枝肉写真

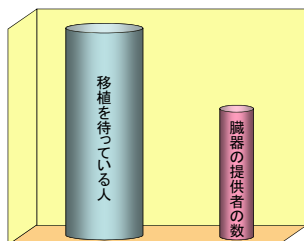
クローン技術と産業

薬をつくる動物



クローン技術と医療

治療のためのクローン技術



臓器移植

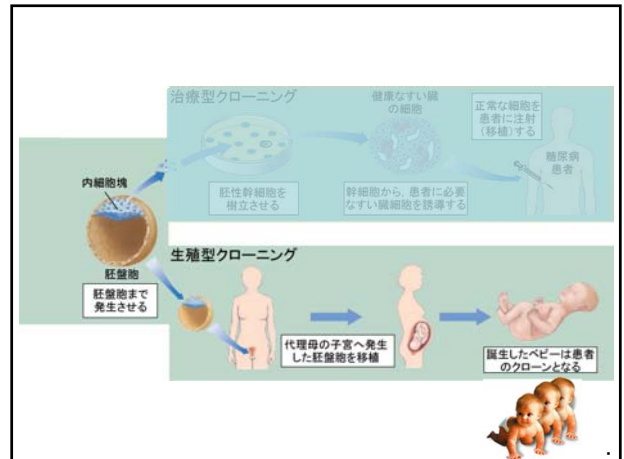
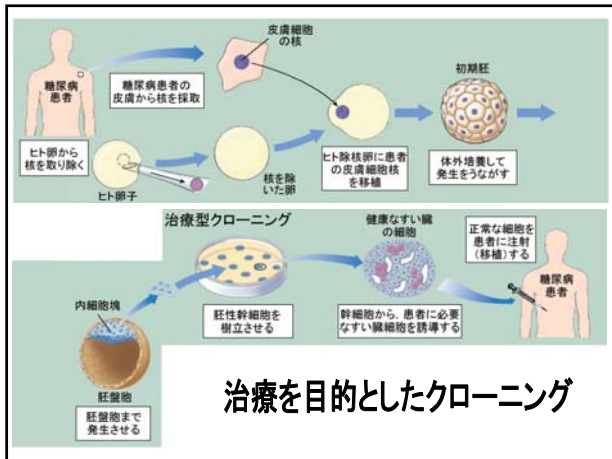
いしよくようぞうき 心ぞく 移植用臓器の不足

きよげつはんのう 拒絶反応

臓器移植をまつ患者を助けるクローン技術

1. 動物から臓器を提供してもらう いしゆ いしよく 異種移植
2. 研究室で新しい心臓や腎臓、肝臓などをつくる じんぞう じんぞう かんぞう
3. 幹細胞を利用する じんこう ぞうき 人工臓器





クローン技術と遺伝資源の保存

数の少ない動物を救う

ノア

ガウル

asahi.com

クローン技術でマンモス復活 シベリアで発掘の肉片公開

クローン技術を使って約1万年前に絶滅したマンモスを復活させる計画をすすめる国際研究チームが17日、和歌山県打田町の近畿大生物理工学部で会見し、ロシア・シベリアの永久凍土から発掘したマンモスのものとみられる肉片などを公開した。今後、DNA鑑定でマンモスかどうかを確かめ、DNAの保存状態を調べて復活の可能性を探る。

中略

近大の入谷明教授(発生工学)によると、組織片に残る細胞からマンモスのDNAを含む核を取り出し、あらかじめ核を取り除いたアジアゾウの卵子に移植してクローン胚(はい)を作製する。それを代理母役のゾウの子宮に移してマンモスを出産させる計画だ。

《朝日新聞社asahi.com2003年7月17日より引用》

マンモスのものとみられる骨髄(右)と皮膚(左)=17日午前10時40分、和歌山県打田町の近畿大生物理工学部で