

体細胞クローン牛(ホルスタイン種)の泌乳状況

誌名	鹿児島県畜産試験場研究報告
ISSN	0389357X
著者名	長野,京子 森,浩一郎 窪田,力 今村,正昭 寺脇,志朗 上原,修一 上宮田,正己
発行元	鹿児島県畜産試験場
巻/号	38号
掲載ページ	p. 58-63
発行年月	2004年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



(牛体細胞クローン個体の遺伝的能力評価に関する研究)

体細胞クローン牛 (ホルスタイン種) の泌乳状況

長野京子・森浩一郎¹・窪田力²・今村正昭・寺脇志朗³・上原修一・上宮田正己⁴

(¹肝属農改普及センター, ²肉用牛改良研究所, ³徳之島農改普及センター, ⁴肝属家畜保健衛生所)

要約

体細胞核移植技術 (クローン技術) の開発は, 家畜の改良増殖や家畜からの有用物質生産, また各種飼養試験研究の供試牛として貢献が期待されている。しかしながら, 実用化にあたっては体細胞クローン牛の正常性, 相似性, 安全性など解明すべき課題も多い。

そこで, 同一ホルスタイン種雌牛の皮膚細胞由来の体細胞クローン (クローン牛) 3頭の泌乳状況及び泌乳期のルーメン液性状を調査し正常性の検討を行った。

- 1 クローン牛の1産目乳検成績における補正乳量, 乳脂率, 乳蛋白質率, 無脂固形分率は, 人工授精産子 (AI牛) との間に差は認められなかった。
- 2 ドナー牛の1産目乳検成績における補正乳量は, クローン牛との間に差は認められなかった。
- 3 クローン牛, AI牛のルーメン液pH及びプロトゾア数について差は認められなかった。
- 4 ルーメン液揮発性脂肪酸 (VFA) 濃度, モル比率 (酢酸, プロピオン酸, 酪酸, イソ吉草酸, 吉草酸), 酢酸/プロピオン酸比 (A/P比) についてもクローン牛, AI牛との間に差は認められなかった。
- 5 クローン牛における4時間毎のルーメン液性状の経時的変化についてもほぼ正常範囲内で推移した。

試験材料及び方法

緒言

体細胞核移植技術 (クローン技術) の開発は, 家畜の改良増殖や家畜からの有用物質の生産等へ貢献される技術として期待されている¹⁾。また, 遺伝的に同じ個体を複数作出できる利点があり, 各種飼養試験の供試牛としての価値も高い²⁾。

しかしながら, 実用化にあたっては体細胞クローン牛の正常性, 相似性, 安全性など解明すべき課題も多い^{3) 4)}。

クローン牛の正常性や相似性について検討するため, 同一ホルスタイン種雌牛の皮膚細胞由来の体細胞クローン牛生産に取り組み平成11年1月に1頭, 平成12年2~3月に3頭の計4頭が得られた⁵⁾。

現在まで, 体細胞クローン牛の発育性⁶⁾, 繁殖状況⁷⁾について検討してきた。

今回は, 同一ホルスタイン種雌牛皮膚由来線維芽細胞由来のクローン牛3頭と場内AI牛3頭を供試し, 1産目泌乳状況について検討した。

1 供試牛

クローン牛3頭 (写真2) とAI牛3頭を供試し, 泌乳状況について調査した。

また, ルーメン液性状についても, クローン牛2頭 (H12-2, H12-3) とAI牛3頭を供試し調査を行った。

試験期間は平成14年3月~平成15年9月までの1産目泌乳期間とした。

3 飼料給与方法

給与飼料は, トウモロコシサイレージ, ビートパルプ, トウモロコシ圧ペン, ルーサンペレット, 一般ふすま, 大豆粕等のTMRを9時に1回給与し, 給与量は, 日本飼養標準乳牛1999版⁸⁾による可消化養分総量 (TDN) を満たすように設定した。

4 調査項目及び調査方法

泌乳状況調査については、乳量、乳成分、体重、乾物摂取量を全泌乳期間月1回調査した。乳成分については（社）県生乳検査協会に依頼した。

また、ルーメン液性状については、馴致期間7日、本試験5日とし、ルーメン液性状、乾物摂取

量、乳量、乳成分について調査した。ルーメン液採取は、本試験2日間の飼料給与前、給与4時間後に行った。

なお、クローン牛については、4時間毎12回採取し経時的変化の調査も併せて行った。

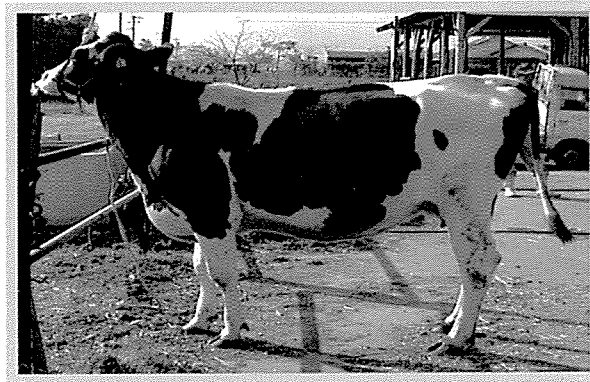
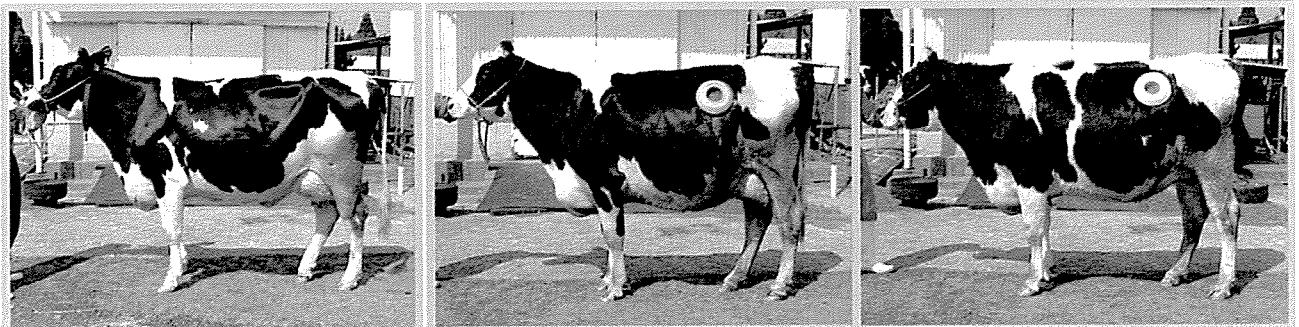


写真1 ドナー牛

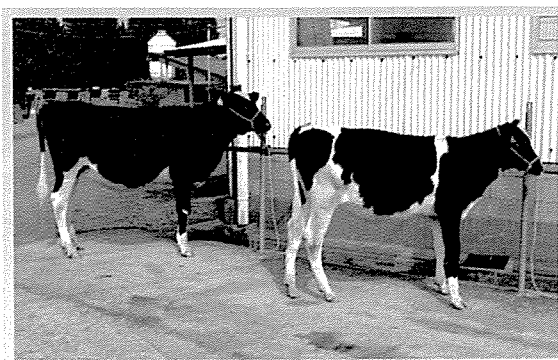


H12-1

H12-2

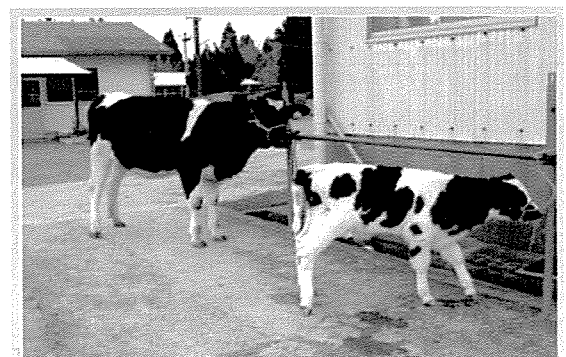
H12-3

写真2 体細胞クローン牛3頭



H14-6

H14-10



H15-5

乳雄

写真3 体細胞クローン牛後代産子4頭

結果および考察

1 泌乳状況

(1) クローン牛とAI牛 1産目泌乳成績

供試牛概要を表1に示した。

クローン牛のH12-3は分娩予定2週間前の死産であったため平均値より除外した。

1産目泌乳成績を表2に示した。クローン牛の1産目乳検成績は、補正乳量10,598kg、乳脂率4.1%、乳蛋白質率3.5%、無脂固形分率9.2%であった。AI牛は、補正乳量10,711kg、乳脂率4.2%、乳蛋白質率3.5%、無脂固形分率9.1%であった。

乳量(図2)については、AI牛と比較しクローン牛が低い成績となったが、分娩予定2週間前に死産したH12-3を除く成績では、補正乳量10,719kgでAI牛を上回る成績となった。

(2) クローン牛とドナー牛の1産目泌乳成績

ドナー牛の1産目乳検成績は、補正乳量10,357kg、乳脂率3.2%、乳蛋白質率3.3%、無脂固形分率9.1%であり、乳量(図2)においては、クローン牛が上回る成績となりドナー牛との差は認められなかった。

乳脂率(図3)については、ドナー牛とクローン牛・AI牛間に違いがみられた。

これは、ドナー牛は場外で飼養されていたため給与飼料を含めた飼養環境等の違いが影響していると考えられた。

表1 供試牛の概要

区分	牛NO.	生年月日	生時体重 (Kg)	分娩月日	子牛体重 (Kg)	備考
クローン牛	H12-1	H12. 2. 19	53.5	H14. 8. 29	44.1 (雌)	
	H12-2	H12. 3. 2	50.0	H14. 3. 14	38.5 (雌)	
	H12-3	H12. 3. 2	62.2	H14. 2. 23	22.5 (雌)	死産
	平均		55.2		*41.3	
AI牛	H12-6	H12. 8. 5	43.4	H14. 10. 20	38.7 (雌)	死産
	H12-7	H12. 8. 6	40.0	H14. 9. 29	48.6 (雄)	
	H12-8	H12. 8. 19	51.0	H14. 8. 7	43.1 (雄)	死産
	平均		44.8		43.5	

*クローン平均にH12-3は含まない

表2 1産目泌乳成績

	乳量 kg/日	補正乳量 kg	乳脂率 %	乳蛋白 %	SNF率 %	体重 kg
ドナー	28.8	10,357	3.2	3.3	9.1	567.1
H12-1	30.9	12,005	4.2	3.5	9.0	784.6
H12-2	27.8	9,433	3.9	3.5	9.2	645.1
H12-3	20.8	6,183	4.2	3.5	9.2	737.9
クローン	26.9	10,598	4.1	3.5	9.2	740.9
*クローン	29.3	10,719	4.1	3.5	9.1	714.9
H12-6	27.6	10,259	4.3	3.8	9.4	678.1
H12-7	32.4	12,055	4.0	3.4	8.9	592.1
H12-8	25.6	9,819	3.9	3.2	8.8	548.4
AI牛	28.1	10,711	4.2	3.5	9.1	615.8

*クローン：調査途中終了よりH12-3を除いた平均

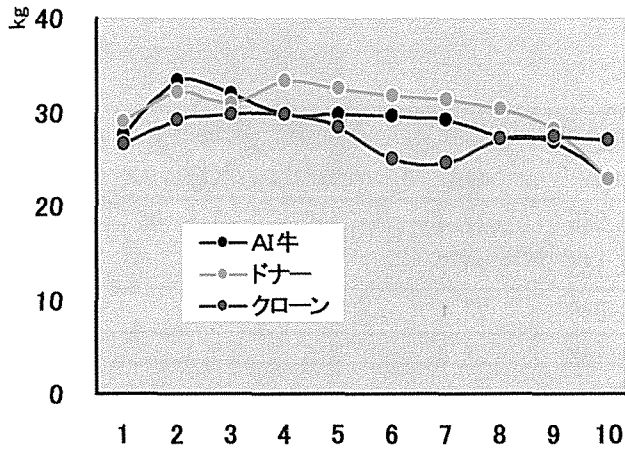


図1 1日乳量の比較 乳検回数

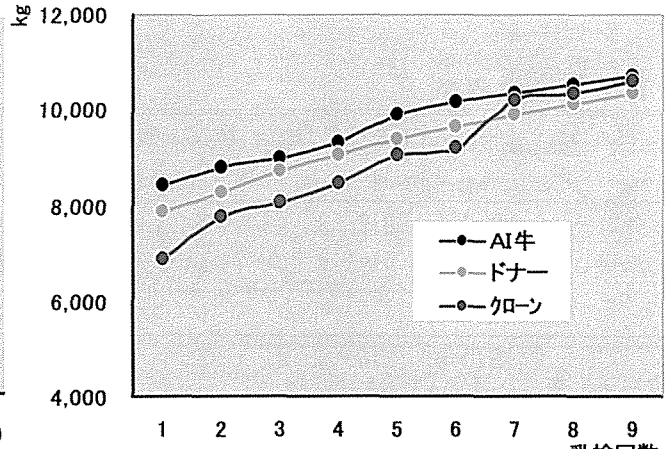


図2 補正乳量の比較 乳検回数

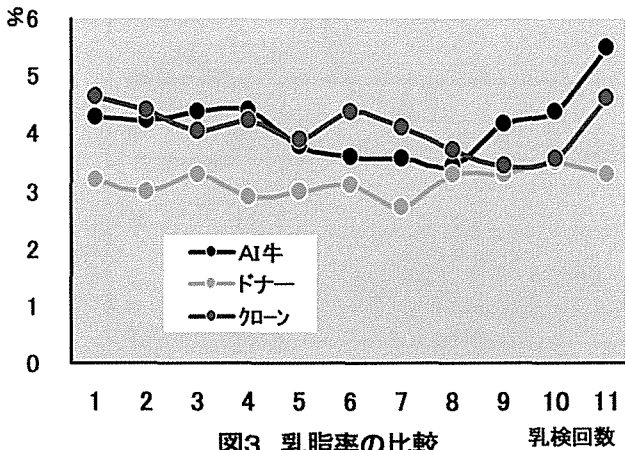


図3 乳脂率の比較 乳検回数

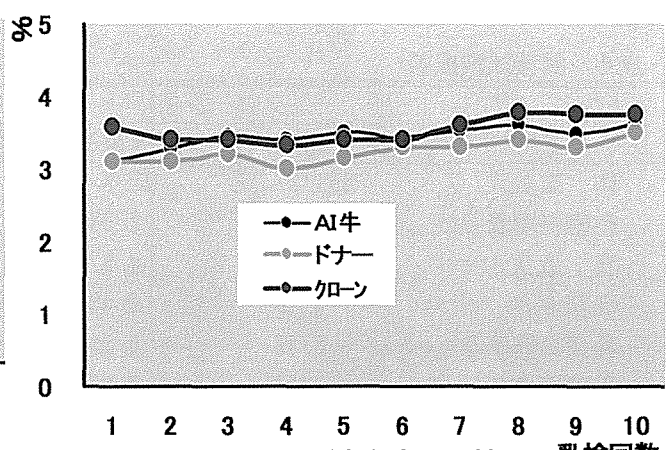


図4 乳蛋白質率の比較 乳検回数

2 ルーメン液性状

供試牛概要を表3に示した。1~3産次、分娩後日数79~200日であった。

試験期間中の飼養試験成績を表4に示した。乳量については、産次の違いもあったことから差が認められたが、その他の項目については、クローンとAI牛の間に差は認められなかった。

ルーメン液性状について、表5に示した。クローン牛、AI牛のルーメン液pH及びプロトゾア数について差は認められなかった。ルーメン液揮発性脂肪酸(VFA)濃度、モル比率(酢酸、プロピオン酸、酪酸、イソ吉草酸、吉草酸)についてもクローン牛、AI牛間に差は認められなかった。クローン牛、AI牛のルーメン液酢酸/プロピオン酸比(A/P比)の平均値は同比率であった。

クローン牛2頭のルーメン液性状の4時間毎の推移(図5~8)を示した。ルーメン液pHは、

(図5)6平均で推移した。アンモニア態窒素は(図6)H12-2が高い推移を示したが有意な差は認められなかった。酢酸は(図7)59%、A/P比(図8)2.1%平均で推移した。

クローン牛における4時間毎のルーメン性状はほぼ正常範囲内で推移した。

以上により発育性、繁殖性同様、体細胞クローン牛の泌乳状況、ルーメン液性状についてもAI牛との間に差は認められなかった。

今後さらに、体細胞クローン牛の正常性等の検討のため2産目泌乳成績、消化性等について検討を進める。

また、体細胞クローン牛後代産子(写真3)についても実用化の課題等検討事項も多いため、発育性、泌乳性等についても併せて検討を進める。

表3 供試牛概要

区分	牛NO.	生年月日	産次	分娩後 日数	補正乳量 (kg)	1日乳量 (kg)	乳脂率 (%)	乳蛋白率 (%)	SNF率 (%)
クローン	H12-2	H12. 3. 2	1	181	9,986	27.4	4.0	3.5	9.2
	H12-3	H12. 3. 2	1	200	6,183	20.7	4.2	3.5	9.2
	平均		1	190.5	8,085	24.1	4.1	3.5	9.2
A I 牛	H10-2	H10. 5. 3	3	198	13,148	38.4	3.5	3.1	8.5
	H10-3	H10. 5. 5	3	79	11,306	34.1	3.7	3.2	8.8
	H11-7	H11. 9. 27	2	120	11,582	33.8	3.0	3.3	8.9
	平均		2.7	132.3	12,012	35.4	3.4	3.2	8.7

*H12-3: 調査途中終了までの成績

表4 飼養試験成績

	クローン牛		A I 牛	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差
体重(kg)	681.3	32.9	629.0	65.4
乾物摂取量(kg)	20.8	3.98	24.8	1.71
乳量(kg)	20.97	4.62	40.35	5.51
乳脂率(%)	4.20	0.48	3.27	0.71
乳蛋白率(%)	3.56	0.16	3.23	0.11
乳糖率(%)	4.63	0.09	4.64	0.13
MUN(%)	13.56	0.38	16.16	2.29
全固形率(%)	13.42	0.21	12.10	0.67
SNF率(%)	9.25	0.26	8.85	0.06

表5 ルーメン液性状

	クローン				A I			
	9:00	13:00	平均	標準偏差	9:00	13:00	平均	標準偏差
pH	6.21	6.07	6.14	0.33	6.83	6.33	6.58	0.40
プロトゾア数(千/ml)	327.6	339.9	333.8	266.76	328.8	196.8	262.8	372.76
総VFA濃度(mmol/dl)	9.9	12.7	11.3	2.52	9.5	11.8	10.6	2.80
アンモニア態窒素(mg/dl)	16.2	12.2	14.2	11.52	11.9	14.2	13.0	7.66
モル比率酢酸(%)	64.0	61.1	62.6	0.13	60.9	59.5	60.2	2.96
プロピオン酸(%)	26.2	28.8	27.5	0.65	25.8	27.7	26.7	4.16
酪酸(%)	4.7	10.1	7.4	0.78	9.7	9.8	9.8	1.19
イソ吉草酸(%)	3.2	2.5	2.9	0.65	2.3	1.6	1.9	0.38
吉草酸(%)	1.8	1.5	1.7	0.64	1.3	1.5	1.4	0.14
A/P比	2.4	2.1	2.3	0.67	2.4	2.1	2.3	0.49

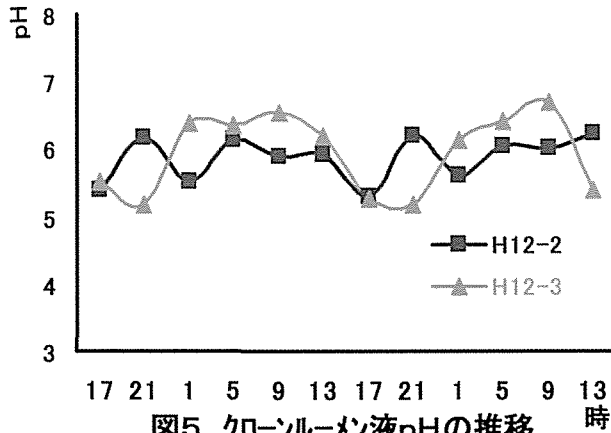


図5 クローン培養液pHの推移

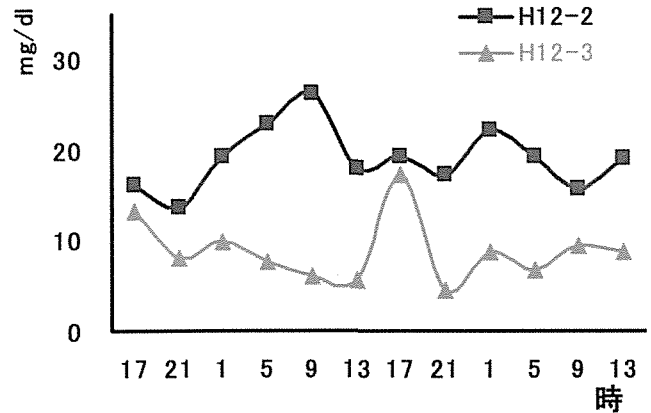


図6 アンモニア態窒素の推移

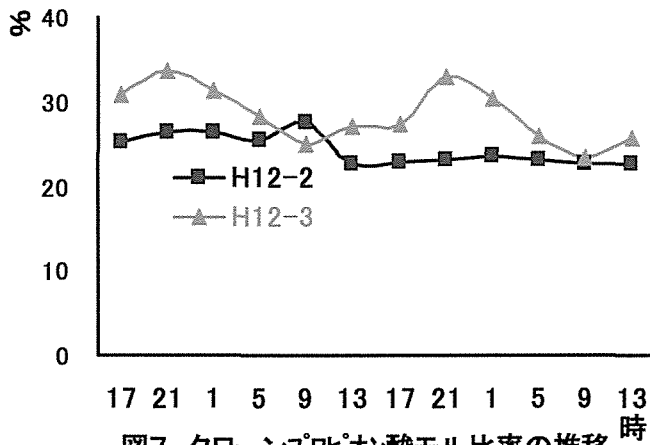


図7 クローン培養液リン酸モル比率の推移

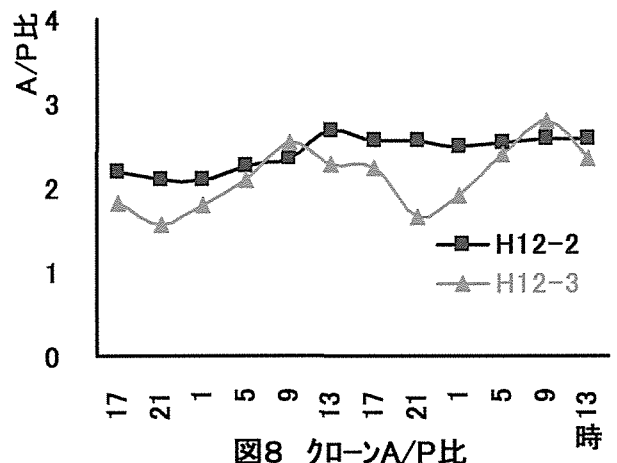


図8 クローンA/P比

参考文献

- 1) 今井裕. クローン技術の現段階と展望, 畜産の研究, 第54巻第1号 126-131 (2000)
- 2) 広岡博之. クローン牛を用いた実験計画の評価, 日本畜産学会会報, 第62巻第11号 1104-1106 (1991)
- 3) 永井次郎. クローン動物の流れと問題, 畜産の研究, 第52巻第12号 1270-1276 (1998)
- 4) 高橋清也. クローン技術の安全性, 畜産の研究, 第55巻第12号 1267-1273 (2001)
- 5) 森浩一郎・窪田力・児島浩貴・寺脇志朗・轟木淳一他. 体細胞クローン牛の作出状況. 鹿児島県畜産試験場研究報告, 35:52-57. 2002.
- 6) 長野京子・森浩一郎・窪田力・岡本光司・寺脇志朗・児島浩貴・上宮田正己・山下光則. 体細胞クローン牛（ホルスタイン種）の発育性. 鹿児島県畜産試験場研究報告, 35:83-88. 2002
- 7) 森浩一郎・長野京子・窪田力・岡本光司・寺脇志朗・児島浩貴・上宮田正己・上原修一 他. 体細胞クローン牛の初産分娩時までの繁殖状況. 鹿児島県畜産試験場研究報告, 36:34-40. 2002
- 8) 農林水産技術会議事務局編. 日本飼養標準. 乳牛. 1999年版, 農林水産技術会議事務局, (1999)