

## 牛核移植技術の開発(細胞)

誌名	鹿児島県肉用牛改良研究所研究報告
ISSN	13419064
著者	山口, 浩 窪田, 力 溝下, 和則
巻/号	4号
掲載ページ	p. 20-21
発行年月	1999年3月

牛核移植技術の開発(細胞)

山口浩、窪田力、溝下和則、轟木淳一、田原則雄

緒言

成羊の乳腺細胞からドリーが誕生して以来、種々の哺乳類の細胞を使い多くの体細胞クローン動物が得られている。<sup>1) 2)</sup>

当研究所では、平成9年9月から種雄牛の耳の皮膚由来細胞を使った体細胞核移植技術の開発に取り組んでいる。<sup>3)</sup>

本報では、核移植に用いた細胞の性状について検討した。

研究方法

材料

核移植に供用している耳の皮膚から採取・培養・継代した線維芽細胞(継代数: 2代・5代・15代)及び乳腺組織より採取した乳腺上皮細胞(5継代)。

染色体数

Gallagher らの方法<sup>4)</sup>により各継代毎に染色体標本を作製し、性染色体を含め染色体数の計測を実施。

細胞種の判定

細胞特異性マーカー(サイトケラチン18,

ビメンチン)による蛍光免疫染色法により細胞種の判定を実施。

結果

染色体数60本を維持している正常細胞数の割合は2継代:77%、5継代:75%、15継代:72%であり、15継代までは、染色体数に大きな変化は認められなかった。(表1・写真1)

表1 染色体数

継代数	<60(%)	60(%)	>60(%)	計
2	9(8)	87(77)	17(15)	113
5	8(8)	77(75)	17(17)	102
15	19(16)	84(72)	13(11)	116

2継代・5継代の細胞ではサイトケラチン18, ビメンチンの両方で蛍光が認められ、線維芽細胞以外の細胞のコンタミが認められたが、15継代ではビメンチンでのみ蛍光が認められ、線維芽細胞に純化されていた。

また本試験のコントロールとして実施した、乳腺上皮細胞ではサイトケラチン18, ビメンチンの両方で蛍光が認められた。(写真2)

考察

窪田らの報告(投稿中)によると、細胞の継代数による核移植胚の発生率に差が

認められている。本試験において、15継代までの細胞では、染色体数の正常な細胞の割合に差がなかったこと、少ない継代数では数種の細胞のコンタミが認められたことから、核移植に使用する細胞の種類が胚の発生率に影響を与えていることが示唆される。

またこれから遺伝子導入等の試験がなされていく上で、細胞種の特定は必須であり、他の細胞特異性マーカーについても検討が必要である。

参考文献

- 1) I.Wilmot et al (1997)  
Nature 385:810-813
- 2) Y.Kato et al (1998)  
Science 282:2059-2098
- 3) 窪田力 (1999)  
鹿児島県肉用牛改良研究所研究報告 第4号
- 4) D.S.Gallagher, Jr et al (1992)  
J.Heredity 83:287-298

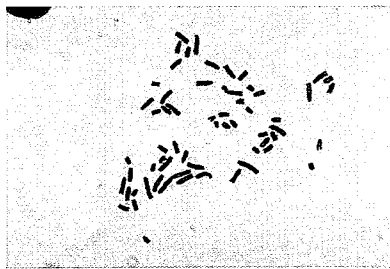


写真1. 染色体 (60本)

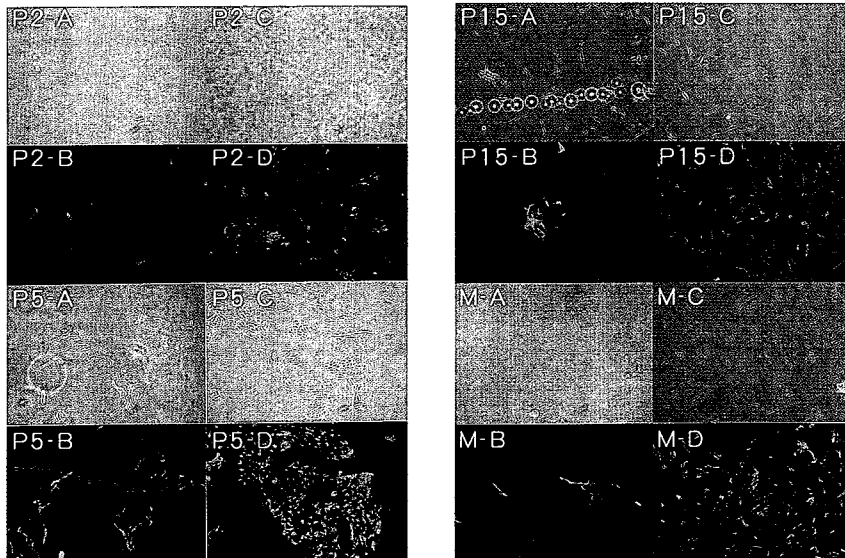


写真2. 蛍光免疫染色像

P2: 2継代 P5: 5継代 P15: 15継代 M: 乳腺上皮細胞

A,C: 細胞 (位相差像) B: サイトケラチン18 (蛍光像) D: ピメンチン (蛍光像)