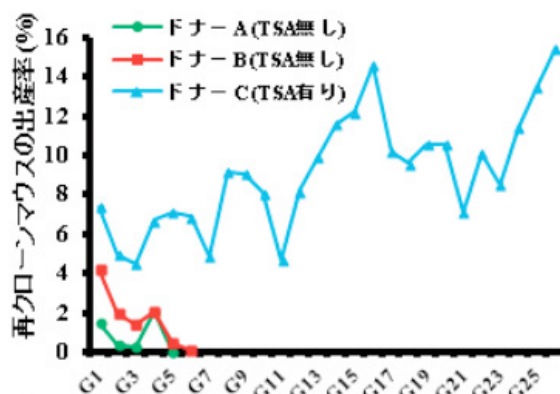


クローンのクローンからまたクローン

2013 年 3 月 10 日

2012 年、京都大学の山中伸弥教授と共にノーベル医学・生理学賞を受賞したジョン・ガードン博士。その受賞理由はカエルのクローン作製の成功だった。この研究が示したのは、分化した体細胞核でも発生に必要な遺伝子を保持していること、そして、体細胞核を卵子に移植すると「初期化」され、再び個体にまで発生することだった。その後、羊やマウスなどの哺乳類でもクローン作製が成功しているが、その成功率はいずれも低い。出産に至るのは通常数パーセントで、体細胞核の初期化異常がその原因とみられている。クローンからクローンをつくる再クローニングも試みられているが、成功率は徐々に下がり、マウスで 6 世代、ウシやネコで 2 世代が限界だった。再クローンでは初期化異常が蓄積するためだと考えられてきた。

理研 CDB の若山清香研究員（ゲノム・リプログラミング研究チーム、若山照彦チームリーダー）らは、1 匹のマウスから再クローニングを 25 世代に渡って繰り返し、累計 581 匹のクローンマウスを得ることに成功した。また、核移植を繰り返しても初期化異常が蓄積しないことを確認し、再クローニングが永続的にできる可能性を示した。この研究成果は、*Cell Stem Cell* 誌の 3 月 7 日号に掲載され、同誌の表紙を飾っている。



左：再クローンマウス（黒）と代理母マウス（白）。右：25 世代目までの再クローンマウスの出産率。

若山照彦チームリーダーは、1998 年にクローンマウスの作製に世界で初めて成功し、その後も成功率（代理母に移植した核移植胚のうち出生に至る割合）の向上を試みてきた。2005 年には、トリコスタチン A（TSA、ヒストン脱アセチル化酵素の阻害剤）を核移植胚の培養液に加えると初期化異常が抑制され、クローン作製の成功率が大きく向上することを示していた（科学ニュース：2005.12.16）。今回彼らは、TSA の添加をはじめ実験条件に幾つかの改良を加え、再クローニングの限界を探った。

まず彼らは、2005 年末に 1 匹の雌マウスをドナーとして選定し、クローン作製を開始した。核ドナーには採取が容易な卵丘細胞を用い、除核した未受精卵に移植した。それを代理母マウスの子宮に移植し、生

まれてきたクローンマウスが3カ月齢（成体）になってから、そのマウスを核ドナーにして再クローニングを繰り返してきた。その結果、これまでに25世代に渡って累計581匹のクローンマウスが誕生し、現在も再クローニングは続いている。クローンを繰り返すことによる出産率の低下は認められず、むしろ10世代目以降では最大20%に達した。ただし、同じ世代内でもバラツキが大きいため、明確な増加傾向は認めていない。

彼らは、生まれたクローンマウスの正常性と異常性を検証した。通常、クローンマウスでは胎盤肥大がみられるが、今回の実験でも1世代目のクローンマウスで胎盤重量が正常の約3倍に増加していた。一方で、再クローニングを繰り返しても胎盤重量にそれ以上の増加は認められなかった。また、再クローンマウスの体重と寿命は自然マウスと比較して正常で、20世代目の再クローンマウスでも正常な繁殖能力が確認された。さらに、細胞年齢の指標となるテロメア（染色体末端）の長さを調べたところ、世代が進んでもテロメアが短くなる傾向はなく、同年齢の自然マウスと同等であることがわかった。また、遺伝子発現を調べると、1世代目のクローンマウスで一部の遺伝子に発現異常がみられたが、20世代目でも同等に留まっていたことから、世代を重ねても発現異常は蓄積しないことが明らかになった。

彼らは他にも幾つかの検証を行っている。一つはTSAへの依存性を調べるために、21世代目のクローン作製の際にTSAを投与しない実験を行った。その結果、クローンの出生率が大きく低下したことから、再クローンの世代を重ねてもTSAへの依存性は変わらないことがわかった。また、核ドナーと卵子を同じマウスから採取する実験も行ったが、クローンの出生率は向上しなかった。このことは、ドナー核と卵子の遺伝子が一致するか否かは、クローンの出生率とは無関係であることを示していた。

今回の研究は、これまで難しいとされてきた再クローニングが永続的に行える可能性を示した。また、再クローニングを繰り返しても初期化異常は蓄積せず、通常のクローンと同等のクローンが得られることを明らかにした。若山チームリーダーは、「この技術を使えば、元のドナー個体が死んだ後でもクローンをつくり続けることができます。将来、貴重な優良家畜や絶滅危惧種の維持に役立つことを期待しています」と語った。