

その理由として、「乳肉の成分分析で異常がなければそれ以上は追求する必要がない」という西洋人の合理的な国民性と同時に、飼養試験等に要する膨大

な費用発生が考えられる。

生産物性状調査の立脚点は、食経験を持つ当該食品と成分において質的差のないことを評価する「実

表13 体細胞クローン牛及びそのドナー牛における肥育時の枝肉成績

Group		Carcass weight (kg)	Grade	Rib eye area (cm ²)	Grade	Rib thickness (cm)	Subcutaneous fat thickness (cm)
Steer	Donor	473	A-4	48	5	8.3	1.8
	Clone				7		
	CLM1	486	A-4	51	8	8.1	1.6
	CLM2	499	A-5	54	7	8.9	1.9
	CLM3	483	A-4	48	9	8.3	2.2
	CLM4	512	A-5	55		8.8	1.6
	Average of clone	495.0		52.0	7.8	8.5	1.8
	SD of clone	13.3		3.2	1.0	0.4	0.3
	CV of clone	2.7		6.1	12.4	4.5	15.7
	Max of clone	512		55	9	8.9	2.2
	Min of clone	483		48	7	8.1	1.6
	Difference ¹	29		7	2	0.8	0.6
	Heifer	Donor	377	A-5	59	9	7.0
Clone							
CLF2		489	A-5	74	10	9.2	1.0
CLF3		365	A-4	53	8	7.0	2.6
Average of clone		427		63.5	9.0	8.1	1.8
Difference ¹		124		21	2	2.2	1.6

CV : coefficient of variation.

¹Difference means the difference of maximum and the minimum value by the steer, and the difference of two clones by the heifer. (黒毛和種、家改セ・十勝牧(2004)、許諾を得て転載⁹⁾)

表14 体細胞クローン牛及びそのドナー牛における胸最長筋の理化学検査

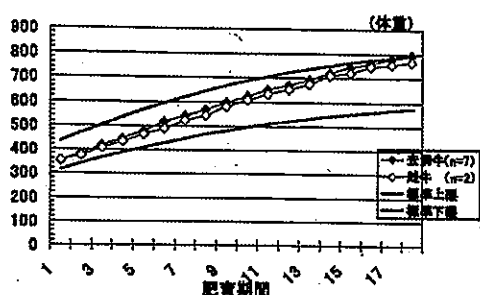
Group		Moisture (%)	Ether extract (%)	Crude protein (%)	Cooking loss (%)	Shear force value (lb/cm ²)	Water holding capacity (%)
Steer	Donor	50.98	32.87	15.63	—	—	—
	Clone						
	CLM1	52.78	31.05	15.67	24.71	4.07	80.28
	CLM2	48.66	37.15	13.99	22.46	3.37	82.62
	CLM3	51.02	33.94	14.59	25.22	3.80	81.89
	CLM4	46.26	39.60	13.99	21.25	3.94	85.19
	Average of clone	49.68	35.43	14.56	23.41	3.79	82.50
	SD of clone	2.84	3.73	0.79	1.87	0.31	2.04
	CV of clone	5.7	10.5	5.5	8.0	8.0	2.5
	Max of clone	52.78	39.60	15.67	25.22	4.07	85.19
	Min of clone	46.26	31.05	13.99	21.25	3.37	80.28
Difference ¹	6.52	8.56	1.68	3.97	0.7	4.91	
Heifer	Donor	51.04	32.94	15.64	—	—	—
	Clone						
	CLF2	50.05	34.21	15.26	23.72	4.82	79.22
	CLF3	49.87	34.53	15.08	23.67	4.30	80.50
	Average of clone	49.96	34.37	15.17	23.70	4.56	79.86
	Difference ¹	0.18	0.32	0.18	0.05	0.52	1.28

CV : coefficient of variation.

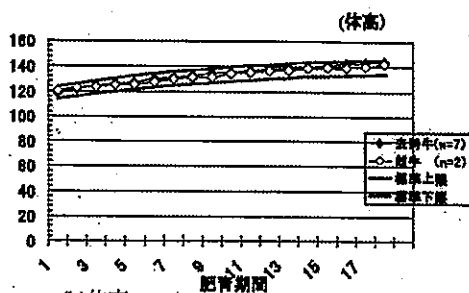
¹Difference means the difference between maximum and the minimum value in the steer, and the difference of two clones in the heifer. (黒毛和種、家改セ・十勝牧(2004)、許諾を得て転載⁹⁾)

質的同等性に基づくアプローチによる手法」とされている⁹⁾。したがって、クローン牛や後代牛の生産物性状調査においては、この手法に則った各試験によって、核移植操作がもたらすかもしれない不測の遺伝子の変化により、牛の体内に一般牛と異なるタンパク質が生成され、これらが、例えば、食品アレルギーの原因物質や発ガンに結びつく変異原性物質として作用する可能性の有無を検証することになる。

前述の「クローン牛の生産物性状調査事業報告書



(a)体重



(b)体高

図24 体細胞クローン後代牛における肥育時の増体 (黒毛和種、大分畜試 (2004)、許諾を得て転載⁷⁰⁾)

(クローン牛利用緊急調査事業、2002)」⁹⁾は、受精卵クローン牛と体細胞クローン牛が生産した乳肉を対象とした生産物性状調査の報告書である。この報告書で未実施である後代牛の生産物性状のデータを取りまとめたものが「体細胞クローン後代牛の生産物性状に関する調査報告書 (2008)」⁷⁰⁾である。これら2冊の報告書が相補うことで、クローン牛及びその後代牛の生産物性状の特性がより一層明確に

表16 体細胞クローン後代牛における胸最長筋のアミノ酸組成

	後代産子 ¹⁾	対照牛 ²⁾
アルギニン	0.97 ± 0.08	0.95 ± 0.11
リジン	1.35 ± 0.11	1.32 ± 0.17
ヒスチジン	0.59 ± 0.06	0.59 ± 0.08
フェニルアラニン	0.59 ± 0.05	0.57 ± 0.07
チロシン	0.53 ± 0.05	0.51 ± 0.06
ロイシン	1.22 ± 0.10	1.20 ± 0.15
イソロイシン	0.69 ± 0.06	0.68 ± 0.08
メチオニン	0.41 ± 0.03	0.40 ± 0.05
バリン	0.72 ± 0.06	0.71 ± 0.08
アラニン	0.85 ± 0.07	0.83 ± 0.10
グリシン	0.62 ± 0.05	0.63 ± 0.07
プロリン	0.58 ± 0.04	0.57 ± 0.07
グルタミン酸	2.29 ± 0.19	2.23 ± 0.28
セリン	0.57 ± 0.05	0.55 ± 0.06
スレオニン	0.69 ± 0.06	0.67 ± 0.08
アスパラギン酸	1.40 ± 0.11	1.37 ± 0.17
トリプトファン	0.19 ± 0.02	0.18 ± 0.03
シスチン	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.02

平均値±標準偏差

1 n=4

2 n=6

(黒毛和種、鹿児島畜試(2005)、許諾を得て転載⁷⁰⁾)

表15 体細胞クローン牛由来後代牛及びそのドナー牛由来後代牛における肥育時の枝肉成績

形質	去勢		雌	
	糸福(n=1,410)*	夢福(n=7)	糸福(n=142)*	夢福(n=2)
枝肉重量	443.94 ± 44.05	515.7 ± 30.31	489.02 ± 43.22	488.4
ロース芯面積	51.99 ± 7.19	54.3 ± 6.69	48.64 ± 6.64	57.5
バラ厚	7.12 ± 1.03	9.1 ± 0.82	6.64 ± 1.16	8.0
皮下脂肪厚	2.97 ± 1.03	4.5 ± 0.64	3.20 ± 1.05	4.9
BMS.no.	6.85 ± 2.24	7.0 ± 2.27	5.67 ± 2.12	7.0
DG	0.76 ± 0.13	0.89 ± 0.07	0.66 ± 0.14	0.86

*) 糸福産子去勢 (6,563頭)、雌 (618頭) の中の870~900日齢で出荷された成績。

注) 糸福: ドナー牛、夢福: 体細胞クローン牛

(黒毛和種、大分畜試 (2004)、許諾を得て転載⁷⁰⁾)

された。

以下に、これらの生産物性状調査と体細胞クローン牛及びその後代牛が生産した肉の試食アンケート調査を概説する。

4.1 生産物性状調査の供試牛

クローン牛の調査では、乳や乳牛（ホルスタイン種）の調査のために、体細胞クローン牛（3頭）、受精卵クローン牛（3頭）及び一般牛（3頭）を、また、肉や肉用牛（黒毛和種）の調査のために、体細胞クローン牛（1頭）、受精卵クローン牛（1頭）及び一般牛（3頭）を供試した（クローン牛利用緊急調査事業）⁹⁾。一方、後代牛の調査では、乳や乳牛（ホルスタイン種）の調査のために、後代牛（3頭）及び一般牛（3頭）を、また、肉牛（黒毛和種）の調査のために、後代牛（3頭）と一般牛（3頭）を供試した（高度化事業（1602））⁷⁰⁾。

4.2 血液性状検査

乳用牛（ホルスタイン種）において、調査牛及び一般牛（対照牛）では妊娠中（3～9カ月）ならびに分娩後（3～6週）の5回、受精卵クローン牛で

は分娩後（3及び6週）の2回の採血をそれぞれ頸静脈より行った。また、肉用牛（黒毛和種）においては、肥育が完了し屠殺された概ね28カ月齢までの間に、調査牛では3～4回、一般牛は2回の採血を、それぞれ、頸静脈より行った。血液学検査の検査項目は、原則、血液形態学検査として、赤血球数、白血球数、血小板数、血色素濃度、ヘマトクリット値、MCV、MCH、MCHC、網状赤血球数、白血球百分率、また、血液凝固能検査として、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間とした。一方、血液生化学検査の検査項目は、血清を検体として、総タンパク、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、総ビリルビン、尿素窒素、尿酸、クレアチニン、GOT、GPT、ALP、CK、 γ -GTP、LDH、コリンエステラーゼ、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素、タンパク分画及びLDHアイソザイムを測定した。なお、後代牛（ホルスタイン種）の血液性状検査は、飼育施設（家畜改良センター）が実施した。

これらの調査により、供試した体細胞クローン牛及び受精卵クローン牛の健康状態に問題がないと判断された。また、これらのクローン牛の血液性状と一般牛の血液性状の間に実質的差異は認められなかった（クローン牛利用緊急調査事業）⁹⁾。一方、体細胞クローン牛の後代を対象とした調査でも、供試した後代牛で得られた健康状態や血液性状を一般牛と比較した場合に差異は認められなかった（表18、高度化事業（1602））⁷⁰⁾。

表17 体細胞クローン後代牛における筋間脂肪の脂肪酸組成

	後代産子 ¹	対照牛 ²
ラウリン酸 (C12:0)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
ミリスチン酸 (C14:0)	2.2 ± 0.4	2.2 ± 0.3
パルミチン酸 (C16:0)	22.7 ± 2.1	22.8 ± 1.4
パルミトレイン酸 (C16:1)	4.8 ± 0.6	4.3 ± 0.4
ステアリン酸 (C18:0)	9.5 ± 0.6	10.4 ± 0.8
オレイン酸 (C18:1)	58.5 ± 2.2	58.2 ± 1.9
リノール酸 (C18:2)	2.2 ± 0.2	2.1 ± 0.5
リノレン酸 (C18:3)	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.1
飽和脂肪酸	34.4 ± 2.5	35.4 ± 2.2
モノ不飽和脂肪酸	63.3 ± 2.5	62.5 ± 1.8
多価不飽和脂肪酸	2.3 ± 0.2	2.2 ± 0.6
不飽和脂肪酸	65.6 ± 2.5	64.6 ± 2.2

平均値 ± 標準偏差

¹ n = 4

² n = 8

³ 飽和脂肪酸 = C12:0 + C14:0 + C16:0 + C18:0

⁴ モノ不飽和脂肪酸 = C16:1 + C18:1

⁵ 多価不飽和脂肪酸 = C18:2 + C18:3

⁶ 不飽和脂肪酸 = C16:1 + C18:1 + C18:2 + C18:3

(黒毛和種、鹿児島畜試(2004)、許諾を得て転載⁷⁰⁾)

4.3 栄養成分分析

分娩後3週及び6週の2時点でそれぞれ朝夕に採取した生乳を凍結状態で入手し、解凍後朝夕の泌乳量の割合で混合したものを分析用試料とした。また、各個体の枝肉それぞれ1本を部分肉とした肉を入手し、ロース（サーロイン）、かた、もも等の各500gを凍結後細切したのち、チョッパーで粉碎、均一化したものを分析用試料とした。このような分析用試料について、一般成分7項目〔蛋白質、脂質、炭水化物、灰分、水分、カルシウム（乳のみ）、コレステロール〕、アミノ酸18種類〔イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、シスチン、フェニルアラニン、チロシン、スレオニン、トリプトファン

ン、バリン（以上、必須アミノ酸）、ヒスチジン、アルギニン、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、プロリン、セリン]及び脂肪酸17種類（肉）[リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸（以上、必須脂肪酸）、デカン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、ペンタデカン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ヘプタデカン酸、

ヘプタデセン酸、ステアリン酸、オレイン酸、アラキジン酸、イコセン酸、イコサトリエン酸（乳では、さらに酪酸、ヘキサン酸、オクタン酸を加えた20種類）の各検査項目について分析した。

クローン牛の調査において、生乳の成分では、体細胞クローン牛、受精卵クローン牛及び一般牛の品質は「日本食品標準成分表」^{m)}の一般的な牛乳の値

表18 クローン後代牛由来肉の性状調査対象牛の血液検査所見（一般牛基準値との比較）

区分	検査数 (頭)	赤血球数 (10 ⁴ /μL)	血色素量 (g/dL)	ヘマト		平均赤血球			プロトロン ビン時間 (sec)
				クリット値 (%)	容積 (fL)	血色素量 (pg)	血色素濃度 (%)	血小板数 (10 ⁴ /μL)	
クローン後代牛	4	701-806	12.5-15.4	36.0-42.5	48-55	16.5-19.1	34.2-36.1	36-52	13.6-14.8
一般牛基準値	35	543-971	10.5-15.6	31.5-44.8	41-60	14.1-20.7	31.3-37.1	15-40	12.6-14.7
活性化部分 トロンボプ									
区分	検査数 (頭)	ラステン時間 (sec)	白血球数 (10 ³ /μL)	白血球百分率(%)					
				好塩基球	好酸球	好中球		リンパ球	単球
クローン後代牛	4	66.9-69.6	65-140	0-1	4-10	0-4	26-55	32-62	2-3
一般牛基準値	35	33.1-107.5	50-112	0-1	0-16	0-2	19-63	30-69	0-7
乳酸									
区分	検査数 (頭)	脱水素酵素 (IU/L)	乳酸脱水素酵素アイソエンザイム分画					アスパラギン酸	アラニンアミノ
			-1 (%)	-2 (%)	-3 (%)	-4 (%)	-5 (%)	フェラーゼ (IU/L)	トランス フェラーゼ (IU/L)
クローン後代牛	4	5070-7471	48.6-55.1	27.7-30.1	12.5-16.8	2.3-3.7	1.1-1.6	61-108	15-20
一般牛基準値	36	3042-6273	40.1-57.7	25.4-34.4	11.3-20.2	1.4-5.5	0.4-3.7	23-130	15-37
γ-グルタミル									
区分	検査数 (頭)	ホスファターゼ (IU/L)	トランス ペプチダーゼ (IU/L)	クレアチン キナーゼ (IU/L)	コリン エステラーゼ (IU/L)	中性脂肪 (mg/dL)	総コレステ		
							ロール (mg/dL)	リン脂質 (mg/dL)	総たんぱく (g/dL)
クローン後代牛	4	160-269	45-91	119-154	27-32	14-23	83-126	91-133	6.55-7.38
一般牛基準値	36	48-283	0-101	0-791	27-51	9-34	56-205	68-216	6.56-7.85
区分	検査数 (頭)	アルブミン (%)	α-グロブリン (%)	β-グロブリン (%)	γ-グロブリン (%)	アルブミン/ グロブリン比	尿素窒素 (mg/dL)	尿酸 (mg/dL)	血糖 (mg/dL)
一般牛基準値	36	35.5-48.9	11.2-18.5	10.6-14.7	23.6-37.1	0.54-0.94	10.5-24.9	0.26-1.07	52-78
区分	検査数 (頭)	クレアチニン (mg/dL)	総ビリルビン (mg/dL)	カルシウム (mg/dL)	無機リン (mg/dL)	ナトリウム (mEq/L)	カリウム (mEq/L)	クロール (mEq/L)	
									クローン後代牛
一般牛基準値	36	1.22-1.93	0.18-0.32	8.2-9.7	5.6-7.8	144-150	3.90-5.10	100-106	

注1) クローン後代牛は、大分県農林水産センター畜産試験場（竹田市久住町大字久住3989-1）で生産された黒毛和種の雌4頭で、数値は各検査での最小値と最大値の幅を示す。

注2) 一般牛基準値は、肥育完了前の一般牛（黒毛和種の雌）計36頭〔滋賀県畜産技術振興センター（蒲生郡日野町山本695）の12頭、長崎県畜産試験場（南高来郡有明町湯江丁3600）の15頭及び福島県畜産試験場（福島市荒井字地蔵原甲18）の9頭〕の検査値（血液学検査は35頭、を基に算出した値（上限値は平均値+2SD、下限値は平均値-2SD、ただしLSDは標準偏差を示す）である。

とほぼ同等であったが、肉の成分では、供試牛の格付けがいずれも良好であったため、この成分表の一般的な牛肉と比較して供試牛の脂肪含量が多いという結果が得られた^{4, 76)}。一方、供試牛由来検体のアミノ酸及び脂肪酸組成については、「日本食品標準成分表」⁷⁷⁾の値からみて、体細胞クローン牛あるいは受精卵クローン牛に特徴的なパターンは認められなかった。以上の調査結果により、体細胞クローン牛及び受精卵クローン牛が生産した乳肉の成分は一般牛のものと同様であると結論付けられた(クローン牛利用緊急調査事業)⁴⁾。

一方、後代牛において、調査牛由来の乳肉における栄養成分は、「日本食品標準成分表」⁷⁷⁾の一般的な牛乳や牛肉の数値と比べ、いずれも脂質が多い傾向にあり、品質の高さを示唆する数値であったものの、概ね類似した値であった。アミノ酸組成の個体差は小さく、また、調査由来の乳と一般牛由来の乳の間にも殆ど差は認められなかった。各脂肪酸の比率には個体差が認められたが、調査牛由来物及び一般牛由来物を含めて、脂肪酸組成のパターンは類似したものであった(高度化事業(1602))⁷⁶⁾。

4.4 アレルギー誘発試験(マウス腹壁法試験)

5週齢のddy系雄性マウスを試験群及び対照群とし、一定環境条件の動物室で飼育した。乳及び肉試料のそれぞれについて、一般牛、体細胞クローン牛、受精卵クローン牛ならびに卵白アルブミン(タンパク質抗原標準物質)とも、それぞれ、各試験試料で感作した動物に惹起処置を行う試験群及び無感作正常動物に惹起処置を行う対照群の計13群を設けた。感作は、試験タンパク含量が1.3mg/mLとなるように生理食塩液で希釈した感作用試料液50 μ Lを腹腔内投与することにより行った。惹起処置は、感作処置の14日後に行った。すなわち、1%エバンスブルー溶液(100 μ L/mouse)を尾静脈から注射後、エーテル麻酔下で腹壁を露出させ、エバンスブルー投与の5分後に、惹起用試料液(50 μ L/site)を腹壁内に注射した。腹壁内注射から正確に7分後に腹壁を切除し、色素漏出斑(類円形)の長径及び短径を測定した。測定した色素漏出斑の長径と短径の平均値を直径とみなし、この大きさにより試料のアレルギー誘発能を評価した。

クローン牛の調査において、生乳及び肉を含む試料では、一般牛、体細胞クローン牛及び受精卵クローン牛のいずれでもアレルゲン活性を有すると判断された。しかしながら、これらの牛の間で有意差は認められなかった。また、それぞれの対照群間にも有意差は認められなかった。以上の結果より、体細胞クローン牛及び受精卵クローン牛の生乳及び肉のマウスにおけるアレルゲン性は、一般牛と同様であると判断された(クローン牛利用緊急調査事業)⁴⁾。一方、後代牛由来乳肉のマウスにおけるアレルギー誘発性は、クローン牛の場合と同様、腹腔内投与により感作して腹壁でアナフィラキシー反応を誘導し、発現した炎症の程度により評価する本法において、それぞれ一般牛由来の乳及び肉と差は認められなかった(高度化事業(1602))⁷⁶⁾。

4.5 消化試験(ラット)

この試験において、米国栄養研究所処方⁷⁸⁾のゲッ歯類用精製飼料(AIN93N)と同じ蛋白質含量(13.08%)となるように後代牛由来の乳あるいは肉(肉においては、脂肪分が多すぎるため熱湯による脱脂処理を実施)を配合した試験飼料を調製した。概ね600g(39週齢)のSD系[CrI:CD(SD)]のSPFラット(雄)を個体別にアルミ製代謝ケージに収容し、7日間の予備飼育で概ね所定量の飼料を摂取することが確認された個体を選んだ。1群5匹、給与期間は8日間とし、給与4及び7日の各24時間のみ、カルミン(赤色素)添加飼料に変えた。給与4日のカルミン添加飼料に変えた時点から、給与7日のカルミン添加飼料に変えるまでの3日間の飼料摂取量を測定した。糞の採取は、カルミン添加飼料に切り換えた給与4日以降において赤色に着色した糞が排泄されだした時点から開始し、全量が着色糞となり、さらに無着色糞が排泄されだすまで赤色に着色した部分のみを採取した。無着色糞が排泄されだしたら、7日のカルミン添加飼料に切り換え、赤色に着色した糞が排泄されだすまで、糞の全量を採取した。7日以降で、赤色に着色した糞が排泄されだした時点から全量が無着色糞となるまでは、無着色の部分のみ採取した。この方法により、3日間に摂取した飼料に由来する糞を正確に採取した。給与した試験飼料及び採取した糞試料について、

マクロ改良ケルダール法によりそれぞれの全窒素量を測定し、タンパク質を指標とした消化率を算出した。

$$\text{消化率 (\%)} = \frac{[(\text{摂取した飼料中の全窒素量}) - (\text{糞中の全窒素量})]}{(\text{摂取した飼料中の全窒素量})} \times 100$$

クローン牛を対象とした調査において、体細胞クローン牛及び受精卵クローン牛由来試料の消化率は、一般牛のそれと比べて有意差は認められなかった(クローン牛利用緊急調査事業)⁹⁾。また、後代牛を対象とした調査においても、調査牛由来の乳及び肉の蛋白質の消化率を指標とした消化性は、一般牛由来の乳及び肉と比べて有意差は認められなかった(高度化事業(1602))¹⁰⁾。

4.6 小核試験(マウス)

8週齢のICR系[Crlj:CD-1(ICR)]のSPFマウス(雄)を群(1群6匹)毎にケージに収容し、試験飼料あるいは基礎飼料を、飲料水とともに自由に摂取させて一定環境下で飼育した。群構成は、乳及び肉試験とも、一般牛、体細胞クローン牛及び受精卵クローン牛で各3濃度(乳では2.5%、5%及び10%、肉では1%、2.5%及び5%)の試験飼料群に陰性対照群と陽性対照群を加えた計11群とした。試験飼料の給与期間は14日間とし、陰性対照群及び陽性対照群には基礎飼料を、試験飼料群には一般牛、体細胞クローン牛及び受精卵クローン牛のそれぞれ3濃度の乳乾燥パウダー配合飼料あるいは肉乾燥パウダー配合飼料を給与した。陽性対照群には、陽性対照物質として用いたmitomycin Cの2 mg/kgを屠殺の24時間前に腹腔内投与した。試験飼料の給与終了後、と殺したマウスから摘出した大腿骨より骨髓細胞を洗い出し、遠心分離により細胞を集めてスライドグラスに塗抹した。塗抹標本は室温乾燥後メタノール固定し、ギムザ染色を施して鏡検した。観察は盲検法により行い、個体当たり1000個の多染性赤血球を観察し、小核を有する細胞を数え、その出現頻度(小核出現頻度)を記録した。同時に赤血球(多染性赤血球及び正染性赤血球)1000個中に占める多染性赤血球の割合(多染性赤血球率)を求めた。

その結果、一般牛、体細胞クローン牛及び受精卵

クローン牛由来の生乳及び肉の試験飼料においては、骨髓多染性赤血球の小核出現頻度に陰性対照と比べて差は認められなかった。したがって、これらクローン牛由来乳肉は、一般牛の乳肉と同様に、染色体異常誘発性は陰性であると結論された(クローン牛利用緊急調査事業)⁹⁾。また、後代牛を対象とした同様の調査においても、調査牛由来の乳及び肉は、一般牛由来の乳及び肉と同様に、染色体異常誘発性は陰性であると結論された(高度化事業(1602))¹⁰⁾。

4.7 飼養試験(ラット)

げっ歯類用精製飼料AIN93Gを基礎飼料とした試験飼料を調製した。すなわち、一般牛、体細胞クローン牛及び受精卵クローン牛ともに、乳乾燥物：2.5及び10%、肉乾燥物：1及び5%濃度で、しかも各乾燥物の栄養分析の結果に基づいて、一般成分(蛋白質、脂質、糖質、繊維)、各種ビタミン及び必須ミネラルの含有量が基礎飼料と等価となるように配合した試験飼料をγ線照射滅菌して-25℃以下で保管し、使用した。乳及び肉試験とも、一般牛、体細胞クローン牛及び受精卵クローン牛で各3濃度(乳では2.5%、5%及び10%、肉では1%、2.5%及び5%)の試験飼料群に基礎飼料群を加えた計10群で試験を実施した。1群あたり雌雄各10匹のSD系[Crlj:CD(SD)IGS]のSPFラットを試験飼料で飼養した。クローン牛由来乳肉を投与した試験における飼育期間は14週間であった。後代牛の試験の際は、概ねクローン牛の場合に準じたが、高度化事業・課題検討委員会委員の助言に従い、飼養期間を12ヶ月に延長した。飼育期間中、動物の一般状態及び詳細な臨床観察、体重・飼料摂取量の測定、自発運動量・前後肢握力・感覚反射機能を含む機能検査、眼科検査、尿検査、雌についてはさらに性周期検査を行った。また、給与期間終了時においてはエーテル麻酔下で腹大動脈より採血し、血液学検査(赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球色素量、平均赤血球色素濃度、白血球数、血小板数、白血球百分率、プロトロビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間)及び血液生化学検査(総タンパク、アルブミン、グロブリン、A/G比、血糖、総コレステロール、中性脂肪、リン

脂質、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、GOT、GPT、ALP、CK、 γ -GTP、LDH、ChE、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素)、さらに、安楽死させての剖検(体表、開口部粘膜及び内部諸器官の肉眼的観察)、器官重量(脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、さらに、雄では、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、雌では、卵巣、子宮)の測定及び病理組織学検査を行った。なお、後代牛を対象とした調査では、課題検討委員会委員の助言に従い、雌雄を交配、分娩させ、子動物を離乳まで哺育させて親動物の繁殖能や子動物の発生等に及ぼす影響を調べる生殖試験を飼養試験と併合させて実施した。

以上の各観察及び検査の結果、基礎飼料群と比較して、一般牛、体細胞クローン牛及び受精卵クロー

ン牛が生産した乳あるいは肉を給与した試験群におけるラットの調査項目に変化は認められなかった。したがって、体細胞クローン牛や受精卵クローン牛が生産した乳(10%濃度)や肉(5%濃度)を飼料に配合し、ラットに14週間給与しても、一般牛が生産した乳あるいは肉と同様にラットの健康状態、成長、機能及び形態に影響を及ぼさないことが確認された(表19、20;クローン牛利用緊急調査事業)^{4,7)}。同様に、後代牛を対象とした同様の調査でも、クローン牛由来乳肉の場合と同様、新規に行った生殖試験を含むいずれの観察及び検査においても、一般牛由来乳乾燥パウダー配合飼料給与ラット、あるいは一般牛由来肉乾燥パウダー配合飼料給与ラットと比べて、調査牛由来乳乾燥パウダー給与ラット、あるいは調査牛由来肉乾燥パウダー給与ラ

表19 クローン牛由来乳のラットを用いる14週間の飼養試験結果のまとめ

項目	基礎飼料		乳乾燥パウダー配合飼料																			
	飼料濃度	性	一般牛由来						受精卵クローン牛由来			体細胞クローン牛由来										
			2.5%		5%		10%		2.5%		5%	10%	2.5%		5%	10%						
			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌						
生存性(死亡数)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
体重																						
飼料摂取量																						
固有感覚機能・反射機能検査(9項目)																						
着地開脚幅・握力																						
自発運動量																						
性周期																						
尿検査(9項目、3回検査)																						
血液学検査(11項目)																						
血液生化学検査(23項目)																						
カルシウム			▲																			
無機リン			▽																			
γ -GTP				△																		▲ ^{a)}
器官重量(雄14器官・雌12器官)																						
病理学検査			-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)	-b)

(注)

—: 基礎飼料群と比べて有意差なし、△ (p<0.05)・▲ (p<0.01): 基礎飼料群と比べて増加
▽ (p<0.05)・▼ (p<0.01): 基礎飼料群と比べて減少

a): 基礎飼料群と比べて有意差はあるが、一般牛群と比べて有意差は認められなかった。

b): 剖検並びに基礎飼料群および各試験飼料の高濃度群についての病理組織学検査で観察された所見はいずれもラットの自然発生病変として認められる変化であり、また基礎飼料群の発現率と比べて有意差も認められなかった。

ットに特異的と思われる差異は認められなかった(表21、22;高度化事業(1602))⁷⁶⁾。

4.8 牛肉の試食アンケート

体細胞クローン牛や後代牛が生産した牛肉の試食調査は、肥育試験を実施した際、主に試験関係者の間で行われることが多いが、試食アンケート調査を集計した報告は2件のみであった。

体細胞クローン牛の牛肉(黒毛和種)における161名(試験場関係者が中心)が参加した試食アンケート調査では、良好な食味評価が得られたが、体細胞クローン牛に対する被験者の違和感が伺われ

た³⁰⁾(図25)。同様な結果は、のべ1574人(畜産関係者)による体細胞クローン牛肉(去勢14頭、雌牛3頭)の大規模な食味アンケート調査でも得られた。この調査の中で、131名(男性85名、女性45名、無回答1名)の被験者に対して体細胞クローン牛肉の試食への抵抗感を聞いた結果、76.3%(100/131)の被験者で抵抗はないと回答した。しかしながら、女性は、男性より少ないにもかかわらず、抵抗があると回答したパネルの半数以上を占めていた(男性14名、女性17名)(家畜改良センター十勝牧場、未公表データ)。

一方、体細胞クローン後代牛(褐毛和種)の牛肉

表20 クローン牛由来肉のラットを用いる14週間の飼養試験結果のまとめ

項目	飼料基礎飼料		肉乾燥パウダー配合飼料																		
	濃度		一般牛由来					受精卵クローン牛由来					体細胞クローン牛由来								
	性	匹数	1%		2.5%		5%		1%		2.5%		5%		1%		2.5%		5%		
			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
生存性(死亡数)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体重																					
飼料摂取量																					
固有感覚機能・反射機能検査(9項目)																					
着地開脚幅・握力																					
自発運動量																					
性周期																					
尿検査(9項目、3回検査)																					
pH									△								△ ^{a)}		▲ ^{b)}		
血液学検査(11項目)																					
血液生化学検査(23項目)																					
中性脂肪								▲													
尿素窒素														▽ ^{a)}			▼ ^{a)}		△ ^{a)}		
クレアチニン							△														
総ビリルビン										▽ ^{a)}											
器官重量(雄14器官・雌12器官)																					
病理学検査			-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)	-c)

(注)

—: 基礎飼料群と比べて有意差なし、△ (p<0.05)・▲ (p<0.01): 基礎飼料群と比べて増加
▽ (p<0.05)・▼ (p<0.01): 基礎飼料群と比べて減少

a): 基礎飼料群と比べて有意差はあるが、一般牛群と比べて有意差は認められなかった。

b): 基礎飼料群および一般牛群と比べて有意差を認めた。

c): 剖検並びに基礎飼料群および各試験飼料の高濃度群についての病理組織学検査で観察された所見はいずれもラットの自然発生病変として認められる変化であり、また基礎飼料群の発現率と比べて有意差も認められなかった。

表21 クローン後代牛由来乳のラットを用いる12ヶ月間の飼養・生殖併合試験結果のまとめ

項目	試験区 性 群 匹数	乳乾燥パウダー2%配合				乳乾燥パウダー10%配合			
		♂		♀		♂		♀	
		一般牛	後代牛 ^{a)}	一般牛	後代牛 ^{a)}	一般牛	後代牛 ^{a)}	一般牛	後代牛 ^{a)}
		12	12	12	12	12	12	12	12
生存性(死亡数)		0	0	0	1	0	0	0	1
体重(1回/週)			—		—		—		—
飼料摂取量(1回/週)			—		— ^{b)}		—		—
固有感覚機能・反射機能検査 (9項目)			—		—		—		—
握力・自発運動量(4時点で測定)			—		—		—		—
繁殖能(発情回帰日数・交尾率・ 受胎率・妊娠期間・出産率)			—		—		—		—
眼科検査			—		—		—		—
尿検査(12項目)			—		—		—		—
血液学検査(12項目)									
赤血球数			—		△ ^{c)}		—		—
血色素濃度			—		△ ^{c)}		—		—
ヘマトクリット値			—		△ ^{c)}		—		—
白血球数			—		—		—		▽ ^{b)}
血液生化学検査(23項目)									
総ビリルビン			▲ ^{c)}		—		—		—
無機リン			—		—		△ ^{b)}		—
総コレステロール			—		▲ ^{c)}		—		—
リン脂質			—		▲ ^{c)}		—		—
器官重量(雄14器官・雌12器官)			—		—		— ^{d)}		— ^{d)}
病理学検査			— ^{d)}		— ^{d)}		—		—
次世代への影響(児動物)		一般牛	後代牛		一般牛	後代牛		一般牛	後代牛
産児数・出生率・性比・哺育									
4日生存率・離乳時哺育率			—		—		—		—
体重(5時点で測定)			— ^{e)}		—		—		—
外表異常			—		—		—		—
内臓異常			—		—		—		—
外形分化状態(5項目)			—		—		—		—
固有感覚機能・反射機能検査(9項目)			—		—		—		—

(注)

—：一般牛群と比べて有意差なし、△ (p<0.05) ・ ▲ (p<0.01)：一般牛群と比べて増加

▽ (p<0.05) ・ ▼ (p<0.01)：一般牛群と比べて減少

a)：体細胞クローン後代牛

b)：給与6週および39週のみ一般牛群と比べて有意差を認めた。

c)：いずれも生後約1年のラットの背景データにおける正常値の範囲の値であった。

d)：10%区的全臓器・組織および2%区の肉眼的異常部位の病理組織学検査で認められた所見はいずれもラットの自然発生病変として認められる変化であり、また一般牛群の発現率と比べて有意差も認められなかった。

e)：哺育0日の雌の体重にのみ一般牛群と比べて有意差が認められたが、哺育4日以降の体重および雄の体重に有意差は認められなかった。

表22 クローン後代牛由来肉のラットを用いる12ヶ月間の飼養・生殖併合試験結果のまとめ

項 目	試験区 性 群 匹数	乳乾燥パウダー1%配合				乳乾燥パウダー5%配合			
		♂		♀		♂		♀	
		一般牛	後代牛 ^{a)}	一般牛	後代牛 ^{a)}	一般牛	後代牛 ^{a)}	一般牛	後代牛 ^{a)}
		12	12	12	12	12	12	12	12
生存性(死亡数)		0	0	0	1	0	0	0	1
体重(1回/週)		—	—	—	—	—	—	—	—
飼料摂取量(1回/週)		—	—	— ^{b)}	—	—	—	—	—
固有感覚機能・反射機能検査 (9項目)		—	—	—	—	—	—	—	—
握力(4時点で測定)		— ^{c)}	—	—	—	—	—	—	—
自発運動量(4時点で測定)		— ^{d)}	—	—	—	—	—	—	—
繁殖能(発情回帰日数・交尾率・ 受胎率・妊娠期間・出産率)		—	—	—	—	—	—	—	—
眼科検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査(12項目)		—	—	—	—	—	—	—	—
血液学検査(12項目)		—	—	—	—	—	—	—	—
白血球百分率における単球比		—	—	—	△ ^{e)}	—	—	—	—
血液生化学検査(23項目)		—	—	—	—	—	—	—	—
γ-GTP		—	—	—	△ ⁰	—	—	—	—
AST		—	—	—	—	—	—	—	△ ⁰
尿素窒素		—	—	—	—	—	—	—	△ ⁰
無機リン		—	—	—	—	—	—	—	△ ⁰
ナトリウム		—	▲ ⁰	—	—	▲ ⁰	—	—	—
器官重量(雄14器官・雌12器官)		—	—	—	—	—	—	—	—
肝臓		—	△ ^{b)}	—	—	—	—	—	—
脾臓		—	—	—	△ ^{b)}	—	—	—	—
病理学検査		— ^{d)}	—	— ^{d)}	—	— ^{d)}	—	—	— ^{d)}
次世代への影響(児動物)		一般牛	後代牛	一般牛	後代牛	一般牛	後代牛	一般牛	後代牛
産児数・出生率・性比・哺育		—	—	—	—	—	—	—	—
4日生存率・離乳時哺育率		—	—	—	—	—	—	—	—
体重(5時点で測定)		—	—	—	—	—	—	—	—
外表異常		—	—	—	—	—	—	—	—
内臓異常		—	—	—	—	—	—	—	—
外形分化状態(5項目)		—	—	—	—	—	—	—	—
固有感覚機能・反射機能検査(9項目)		—	—	—	—	—	—	—	—

(注)

—：一般牛群と比べて有意差なし、△ (p<0.05) ・▲ (p<0.01)：一般牛群と比べて増加

▽ (p<0.05) ・▼ (p<0.01)：一般牛群と比べて減少

a)：体細胞クローン後代牛

b)：給与37週のみ一般牛群と比べて有意差を認めた。

c)：給与3、6、9および12ヵ月の検査での前肢および後肢の握力のうち、給与3ヵ月検査の後肢握力および6ヵ月検査の前肢握力のみ、一般牛群と比べて有意差を認めた。

d)：給与3、6、9および12ヵ月の検査で給与3ヵ月検査値のみ、一般牛群と比べて有意差を認めた。

e)：一般牛群と比べて僅かな差であった。

f)：いずれも生後約1年のラットの背景データにおける正常値の範囲の値であった。

g)：生後約1年のラットの背景データにおける正常値の範囲をわずかに逸脱する値であった。

h)：体重に対する相対重量では有意差はなく、体重のやや高値に伴う所見であった。

i)：5%区的全臓器・組織および1%区の内眼的異常部位の病理組織学検査で認められた所見はいずれもラットの自然発生病変として認められる変化であり、また一般牛群の発現率と比べて有意差も認められなかった。