

(案)

体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚
並びにそれらの後代について

2008年〇〇月

食品安全委員会新開発食品専門調査会
ワーキンググループ 小グループ

目次

11	I. 家畜における繁殖技術の概要	2
12	1. 主な繁殖技術	2
13	2. クローン技術	3
14	3. 体細胞クローン動物の産出数と効率	4
15	II. 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代について	6
16	1. 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚について	6
17	(1) 体細胞クローン技術を用いて産出された牛	6
18	(2) 体細胞クローン技術を用いて産出された豚	16
19	(3) 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚のまとめ	19
20	2. 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の後代について	21
21	(1) 体細胞クローン技術を用いて産出された牛の後代 (F1)	21
22	(2) 体細胞クローン技術を用いて産出された豚の後代 (F1)	22
23	(3) 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の後代のまとめ	23
24	III. 体細胞クローン動物のエピジェネティクス等	25
25	1. 体細胞クローン動物の発生と分化	25
26	2. エピジェネティクスとは	25
27	3. クローン動物のエピジェネティクス	26
28	(1) DNA のメチル化	26
29	(2) 遺伝子の発現解析	29
30	(3) エピジェネティックな変化に影響を及ぼす因子	32
31	(4) 後代	32
32	4. その他	32
33	(1) DNA 変異及び染色体異常	32
34	(2) ミトコンドリア DNA	33
35	(3) テロメア長	33
36	5. 体細胞クローン動物のエピジェネティクス等のまとめ	35
37	<参照>	37

1 I. 家畜における繁殖技術の概要

2 1. 主な繁殖技術

3 我が国における家畜繁殖技術は開発当初から現在に至るまで、優良な遺伝形質
4 を有する個体又は系統を効率的に増殖させ、動物性タンパク質を国内で安定的に
5 供給することを目的として進められてきた。特に、限られた資源や土地を有効に
6 活用する必要がある我が国にとっては、第二次世界大戦の終戦以降、活発に研究
7 と技術開発が行われてきた。

8 また、家畜繁殖技術の開発に伴い関係法令（家畜改良増殖法 [昭和 25 年法律
9 第 209 号]）の制定・改正等、法制度の整備が進められてきた。

10 現在、家畜、特に牛で応用されている主要な繁殖技術は次のとおりである。

11 ①人工授精

12 人工授精とは、優良な遺伝形質を有する雄動物の精液を、発情を示す健康な
13 雌動物の生殖道内に人為的に注入することによって産子を生産する技術である。
14 現在、我が国で飼養されている雌牛の繁殖のほぼ 100%で、凍結保存された精
15 液を用いた人工授精が行われている。しかし、産子の性別はもちろん産子の能
16 力を制御することは不可能な技術である。

17 我が国では、乳用種であるホルスタイン種雌牛に肉用種である黒毛和種雄牛
18 の凍結精液を人工授精する割合が牛の人工授精総計の 30%を占めている（社団
19 法人日本家畜人工授精師協会の平成 20 年 1~3 月統計、全国平均）。この方法
20 によって生産された牛（F1；1 代交雑種と呼ばれる）は主に食肉用途に利用さ
21 れている。

22 ②体内受精卵移植

23 体内受精卵移植とは、卵胞刺激ホルモン等のホルモン製剤投与により過剰排
24 卵処理を施した雌動物に人工授精した後、生殖道を洗浄した液を灌流すること
25 によって受精卵（胚）を採取し、別の雌動物（牛の場合、受胚牛又は受卵牛と
26 いう）の生殖道内に胚を注入して受胎させることによって産子を生産する技術
27 である。人工授精と異なり、雌雄の両方から形質の改良が可能であるが、人工
28 授精に比べて遺伝的改良速度は圧倒的に劣る（その効率は、1 回採卵当たりの
29 回収移植可能胚数に影響される）。また、体内受精卵移植単独では、産子の性別
30 は制御不可能である。

31 我が国の 2005 年統計では、牛の産子のうち 16,155 頭（全体の約 0.6%）が、
32 体内受精卵移植によって生産されている（参照 1）。なお、発育ステージが透明
33 帯に囲まれている胚であれば、胚の洗浄を適切に行うことによって胚の表面の
34 病原微生物の数を受胚牛及び産子が感染に至らない程度にまで減らすことがで
35 き、伝染性疾病伝播を遮断することが可能である。これは、精子を利用する人
36 工授精では実現不可能な特徴である。

37 ③体外受精卵移植

1 体外受精卵移植とは、卵巣から吸引採取した卵胞内卵子（未成熟卵）を体外
2 で成熟させ、その後、体外受精及び体外培養に供し、正常に発育した胚を受胚
3 牛の生殖道内に注入して受胎させることによって産子を生産する技術である。
4 体外での受精卵の培養技術の進展と改善に貢献した技術で、その後開発され
5 ることになる体細胞クローン技術の基盤技術である。

6 2005年の統計によると、我が国の牛の産子のうち2,308頭（全体の約0.1%）
7 が、この技術により生産されている（参照1）。

8 9 2. クローン技術

10 牛等の家畜のクローン技術は、細胞融合技術を含む核移植技術が基盤となっ
11 ており、細胞（2nの核1個を含む）を提供する胚又は動物と核内遺伝子構成が同一
12 の複数の胚や個体を産出することが可能な技術であり、胚の割球細胞を用いる受
13 精卵クローン技術と体細胞を用いる体細胞クローン技術の二つがある。

14 体細胞クローン動物を産出するには、予め卵巣から採取しておいた卵胞卵子を
15 培養し成熟させた後、その核を除去した成熟卵子の囲卵腔に核提供動物の皮膚、
16 筋肉、卵管上皮細胞等の体細胞を移植し、両者を電氣的刺激により融合させる。
17 このようにして作製した再構築胚を受胚牛の生殖道内に注入して受胎させること
18 によって体細胞クローン動物が生産される。

19 体細胞クローン動物では、細胞を提供する動物の優良な遺伝形質が産子に表現
20 され、性別も当然のことながら細胞提供動物と同一となる。また、培養系で維持
21 されている体細胞を使用することから核内遺伝子構成が同一な個体を無数に産出
22 することが理論上可能である。一方、体細胞クローン動物の産出では、体細胞（す
23 でに分化している細胞）を使用することから、再構築胚に全能性を獲得させる（リ
24 プログラミング）必要があり、この全能性の獲得が胚の正常な発生及び正常な産
25 子の産出に重要な要件になると考えられている。

26 体細胞クローン技術は人工授精、体内受精卵移植及び体外受精卵移植等の従来
27 の家畜繁殖技術を基盤として開発された技術であり、従来の家畜繁殖技術の延長
28 線上に位置するものである。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40

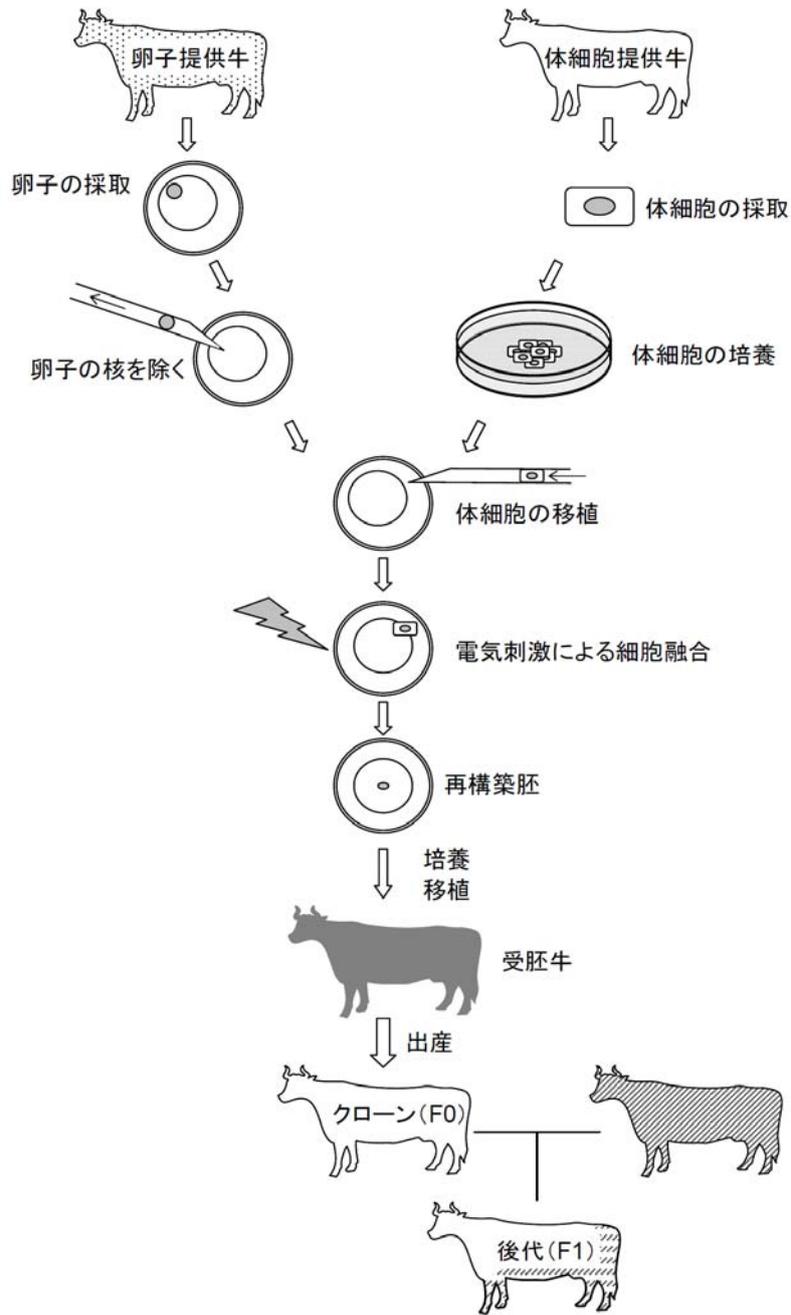


図1. 体細胞クローン牛の作出

3. 体細胞クローン動物の産出数と効率

体細胞クローン動物の産出は、1996年に英国で羊の「ドリー」が誕生して以降、牛、マウス、山羊、豚、ウサギ等、さまざまな動物で研究が進められ、体細胞クローン動物が誕生している。

我が国では、牛の受精卵移植、体外受精や初期胚を用いた核移植（受精卵クローン）研究等が世界的にみても高い技術水準で行われていたことを背景として、牛を中心に研究がなされ、1998年に世界で最初の成体由来の体細胞を用いた体細胞クローン牛の産出に成功した(参照 2(363))。農林水産省の公表資料によると、

1 平成 20 年 3 月 31 日現在の累計で、我が国では体細胞クローン牛は 551 頭出生
2 し、86 頭が育成・試験中であり、体細胞クローン豚については 328 頭出生し、
3 65 頭が育成・試験中である。

4 一方、米国では体細胞クローン牛が約 570 頭、体細胞クローン豚が約 10 頭、
5 EU 加盟国では、体細胞クローン牛が約 100 頭、体細胞クローン豚が体細胞クロー
6 ン牛より少ない数が生存していると推定されている。その他、アルゼンチン、
7 オーストラリア、韓国、中国、ニュージーランド等でも体細胞クローン家畜が産
8 生されている（参照 3）。

9
10 体細胞クローン家畜産出の成功率は、従来の繁殖技術と比べると全体的に低い
11 が、動物種によっても異なる。体細胞クローン牛の産出割合について調査した研
12 究において、雌牛に移植された 3,374 個の体細胞クローン胚から 317 頭（9%）
13 の産子が誕生し、出生後 24 時間ではその 278 頭（8%）が生存しており、出生後
14 150 日以上ではその 225 頭（7%）が生存し続けている（参照 4（568））。

15 豚では 5%の成功率との報告もあるが、他の報告では最高 17%の成功率と報告
16 されている（移植した 58 個の胚から 10 頭の産子が得られている）（参照 5（819））。

17 また、人工授精や受精卵移植等、他の繁殖技術でもみられる流産、死産、過大
18 子等が、体細胞クローン家畜では他の繁殖技術と比較して発生頻度が高くなって
19 いる。我が国の牛における繁殖技術毎の産子の死産や事故死等の死亡率は、人工
20 授精 5.3%、体内受精卵移植 4.6%、体外受精卵移植 7.5%、初期胚クローン 15%、
21 体細胞クローン 31%となっている。

1 II. 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚並びにそれらの後代について

2 1. 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚について

3 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚について、次の発育段階毎に、
4 健全性について従来の繁殖技術による牛又は豚との比較を行った。

- 5 ・細胞融合～妊娠（胎子発育）
- 6 ・周産期（出生前後）
- 7 ・若齢期
- 8 ・春機発動後の成熟及び加齢期（繁殖性を含む）

9
10 すなわち、一定の健康状態にある動物に由来する食品は、一般にヒトが消費す
11 るのに適しているとみなされており（参照 6）、体細胞クローン技術を用いて産出
12 され、食用に供される可能性のある牛及び豚が、従来の繁殖技術による牛及び豚
13 と比べて同等の健全性を有するかについて検討した。

14 各発育段階の期間については、畜産分野において明確な規定はされていないこ
15 とから、本評価にあたっては、核移植から陣痛が始まるまでの期間を「細胞融合
16 ～妊娠（胎子発育）」、陣痛開始から出産後 1 週間程度を「周産期」、その後、春機
17 発動がみられるまでの時期（一般に、牛では 6～13 ヶ月、豚では 7～8 ヶ月（参
18 照 7）を「若齢期」、春機発動後の時期については繁殖性も含めて「春機発動後
19 の成熟及び加齢期」とした。

20 21 (1) 体細胞クローン技術を用いて産出された牛

22 ①細胞融合～妊娠（胎子発育）

23 体細胞クローン胚による産子の出産の割合は 10%以下との報告があり、また、
24 ドナー細胞又はレシピエント細胞の種類によって胚盤胞の発生率が異なると報
25 告されている。

26 卵丘細胞や卵管上皮細胞をドナー細胞として用いた場合に、皮膚線維芽細胞、
27 乳腺上皮細胞、顆粒膜細胞を用いる場合より高い胚盤胞の発生率が認められる
28 との報告がある（参照 8, 9（870, 255））。また、牛において、異なる品種の細
29 胞をドナー細胞又はレシピエント細胞として用いた場合に、胎子の生存率が異
30 なるとの報告がある（参照 10, 11（302, 886））。

31
32 ドナー細胞の細胞周期による胚盤胞の発生等について検討が行われている。

33 胎子の線維芽細胞の G1 期又は M 期をドナー細胞として用いた場合には、
34 G1 期の細胞が胚盤胞への発生が高かった（31%対 16%）（参照 12（326））。
35 また、G0 期又は G1 期の細胞をドナー細胞として使用したところ、G0 期を使
36 用した場合には、移植後早い時期に多くの受胚牛で妊娠が維持されなかったが、
37 移植後 120 日目以降では、妊娠が維持され、水腫も認められなかった。G1 期
38 を使用した場合には、分娩までに多くの受胚牛で妊娠が維持されず（移植後 120
39 日目以降 21/43）、水腫の発生率が高かった（妊娠の 18/43（42%））（参照 13
40（831））。水腫には、胎膜腔内に多量の胎水が貯留する胎膜水腫と胎子の水腫

1 がある。

2
3 また、胚の培養条件による胚盤胞への発生について、体外受精胚と比較した
4 ところ、体外受精胚は使用した培地にかかわらず胚盤胞への発生率は同等であ
5 ったが、体細胞クローン胚では 2% 去勢牛血清を含む合成卵管液で培養した方
6 が、胚盤胞の発生率が高いとする報告があり（参照 14 (493)）、他の報告でも、
7 体細胞クローン胚の高頻度な不受胎、流産、胎盤異常の根本的な原因として、
8 培地を含む要因の数と組み合わせとの関係があることを示唆する報告がある
9 （参照 15, 16, 17 (758, 795, 244)）。

10
11 牛の体細胞クローン胚において、他の繁殖技術と同様に移植後 60 日まで妊
12 娠が維持されない場合も認められているが、人工授精や体内受精卵移植と違い、
13 体外受精胚と体細胞クローン胚では妊娠のいずれの時期においても妊娠の中断
14 がみられることが報告されている（参照 18, 19 (216, 422)）。

15 牛の体細胞クローン胚の移植後 50 日での受胎率は、対照（人工授精、体外
16 受精胚移植）と同様であるが、それ以降、体細胞クローン胚の受胎率は低下し
17 た。移植後 150 日目では体細胞クローン胚を移植された受胎牛の 40% が妊娠
18 していた。対照では、この期間の低下はみられなかった。胎子の平均体重にお
19 いて、移植後 100 日目では 3 グループ間で違いは認められなかったが、体細胞
20 クローン牛の胎子 6 頭のうち 5 頭、体外受精の胎子 4 頭のうち 1 頭では、人工
21 授精による胎子の 2 標準偏差以上であった。同様の傾向は移植後 150 日目の胎
22 子でも確認できた。人工授精や体外受精による胎子と比較して、体細胞クロー
23 ンの胎子の肝臓と腎臓は大きく、3 頭の体細胞クローン牛の胎子の 1 つの肝臓
24 と腎臓は、脂肪浸潤を示していた（参照 20 (432)）。

25 移植後 60 日目の体細胞クローン胎子の胎盤は人工授精の胎盤と比較して、
26 多胎盤の発現と同時に発達が不十分な小丘が認められた。体細胞クローン胎盤
27 の多胎盤領域は、人工授精の胎盤と比較し、弱々しく平坦で、数は約半分であ
28 った（参照 21 (281)）。

29 一方、別の研究では、牛の体細胞クローンの胎子では 100 日目の胎子の宮阜
30 の平均数は人工授精や体外受精群より少なく、胎盤葉数は減少したが、宮阜の
31 全重量は体細胞クローン胎子で有意に高く、胎盤葉も大きく、厚く、こぶし状
32 の形をしていた（参照 20 (432)）。

33 生存して生まれた体細胞クローン牛では、妊娠後期で死亡した体細胞クロー
34 ン牛との間に、妊娠関連糖タンパク（PAG）濃度の違いはなかったが、早い段
35 階（妊娠 35～90 日目）で流産した体細胞クローン胎子の PAG 濃度は明らかに
36 低かった（参照 22 (119)）。

37 これらのように、牛や羊の体細胞クローンの胎盤で異常な胎盤葉が観察され
38 た報告が多数ある（参照 23, 24, 25, 20, 26 (214, 121, 297, 432, 31)）。また、
39 妊娠の後期における流産は、水腫、腫大した臍帯、異常な胎盤の報告が伴って
40 おり、主な原因は胎盤の発生異常であるとされている（参照 27, 23, 24, (833,

1 214, 121))。

2 正常な胎盤は、母体と胎子間の栄養の吸収、ガス交換、老廃物の排出等の胎
3 子の発育に重要な役割を担っており、通常の繁殖技術でも認められる胎盤の異
4 常な発育は、従前より妊娠が維持されない原因の一つと言及されている。

5
6 通常の繁殖技術でも観察される水腫が、体細胞クローンの胎子で高頻度に確
7 認されている。胎膜水腫の85～90%を占める尿膜水腫は、胎盤の肥大等を伴い、
8 尿膜絨毛膜や胎盤の機能不全によるとされている。

9 一般に牛の水腫は7,500回の妊娠で1回起こり、牛の体外受精胚移植による
10 妊娠では0.05～4%との報告がある(参照28, 29(284, 63))。牛の体細胞クロ
11 ーンの妊娠では、妊娠120日までの間に高率に妊娠が維持されない場合があり、
12 そのうち、58～86%は水腫が原因と考えられている(参照30, 13(228, 831))。

13 尿膜水腫を伴った体細胞クローンを受胎した受胎牛において、胎子の過成長
14 に先行し胎盤の過成長が認められ、移植後220日目の胎盤葉の重量は人工授精
15 や体外受精に由来する胎子より軽かった。また、胎盤葉の数は妊娠期間により
16 増加傾向を示した。なお、胎盤葉の重さと数が正常であるものも確認された(参
17 照31(151))。

18 体細胞クローンを受胎した受胎牛の20頭中3頭(15%)に妊娠6ヶ月から
19 分娩の間に重度の尿膜水腫と胎盤葉の肥大化が確認された(参照25(297))。

20 体細胞クローンを受胎した受胎牛では胎子水腫(13/37)、胎盤浮腫(21/37)、
21 尿膜水腫(5/37)の発生率が高かった。胎子水腫の大部分(12/13)は胎盤浮腫
22 を発症していた(参照4(568))。

23 移植後150日の体細胞クローンを受胎している受胎牛の胎膜の総液量は、体
24 外受精と比較し有意に高く、8頭中2頭で高い尿膜液量(20と12L)であった。
25 これらの2例は水腫を発症していた(参照20, 32(432, 30))。

26 7頭の体細胞クローン牛の出生時の胎盤の組織学的検査の結果、全ての胎盤
27 で異常(中～重度の浮腫、拡張した血管、偶発的な胎盤形成、胎盤葉の大規模
28 な欠損)が確認された。また、胎盤葉は対照と比較して、数が少なく、重く、
29 表面積が広がった(参照32(30))。

30
31 胎盤の機能不全が水腫等の疾病の原因のひとつと考えられる他、胎盤の過形
32 成が、胎子に供給されるフルクトースの増加を誘発し、心筋を含む筋機能に影
33 響する低血糖及び高フルクトース血症を引き起こすと考えられている(参照33
34 (29))。

35 36 ②周産期(出生前後)

37 我が国において生産された体細胞クローン牛に関する関係機関による調査
38 報告書によると、体細胞クローン牛451頭における死産は74頭(16.4%)、生
39 後直死は65頭(14.4%)であり、通常の繁殖技術による牛(n=566)の死亡率
40 (死産4.6%、生後直死1.9%)と比較し有意な差が認められた。また、死産の

1 主な原因は、難産、窒息、羊水誤嚥等の呼吸障害であり、生後直死においても
2 窒息、羊水誤嚥等の呼吸障害が主な死因であった。生後直死した体細胞クロー
3 ン牛では過大子の傾向が認められている（参照 34）。

4
5 過大子の発生は、体細胞クローン牛の妊娠で頻度が高く、受精卵クローン牛
6 や人工授精における妊娠でも頻度は低いが発生している。牛における過大子の
7 発生率は、体細胞クローンでは 13.3%であり、受精卵クローンでは 8.6%、人
8 工授精では 9.5%との報告がある（参照 25（297））。

9 我が国の複数の報告においても、体細胞クローン牛の生時体重が重くなる傾
10 向が認められている（参照 35, 36, 37, 38, 39, 40（J-2, J-13, J-5, J-15, J-16,
11 J-25））。

12 黒毛和種雄牛の細胞から 6 頭の体細胞クローンが出生したが、2 頭は生後直
13 死であった。生存している 4 頭は健康で正常であり、平均生時体重は 36kg(30.7
14 ~42.5kg) で、この品種の平均 30kg より 20%重かった。なお、生後直死した
15 2 頭のうち 1 頭はアカバネウイルスを持っていたことが診断され、他の 1 頭は
16 難産による複合的な原因で死亡した（参照 41, 42（396, 393））。

17 一方、牛で出生時体重が 50kg 以上であったのは、人工授精で 10%、体外受
18 精で 31.7%、受精卵クローンでは 15%(n=126)との報告もある(参照 42(393))。

19
20 過大子の発生は難産とそれに関係する罹病及び死亡を招くことが多い（参照
21 43, 23（36, 214））。

22 自然交配や人工授精で生まれた牛の 2,191 頭のうち 6%が助産を必要とした
23 報告がある（参照 44（538））。また、米国農務省では、一般的な牛の集団での
24 難産発生リスクを 4%と見積もっている（参照 45）。

25 難産は、産子の出生時体重と雌牛の産次（出産回数）が重要な要因となり、
26 特に未経産牛では難産になる危険度が経産牛に比べて高い。異常分娩は、子牛
27 の新生子死亡の増加の原因となり、高い罹病率、低体温症、呼吸及び消化の問
28 題、免疫の受動的伝達の失敗等により、死亡のリスクが増加する。また、困難
29 な娩出や帝王切開による損傷は、子牛の死亡を引き起こす(参照 44, 46, 47(538,
30 468, 651))。

31
32 帝王切開により分娩した体細胞クローン牛が、生後 45 時間で誤嚥性肺炎の
33 ため死亡した。解剖の結果、臓器等の異常は認められなかった(参照 48(J-24))。

34 生後直死、死産であった 2 頭の体細胞クローン牛（双子）は、解剖所見によ
35 り分娩事故による羊水誤嚥が主原因で窒息死したものと考えられた（参照 26,
36 49（31, J-36））。

37 出生体重 71.0kg の体細胞クローン牛が出生時に、特に頭部と頸部で浮腫を
38 表し、軽度の胎子水腫を患った。この子牛は帝王切開で娩出に成功したが、生
39 後 3 日で死亡した（参照 26（31））。

40 黒毛和種とホルスタイン種のドナー細胞から 24 頭の体細胞クローンが出生

1 し、13頭の生存産子が得られた。7頭の体細胞クローンは死産か生後直死であ
2 り、2頭の体細胞クローンは帝王切開中に死亡したが、異常は認められなかつ
3 た。1頭の体細胞クローンは出生時においては正常に見えたが、生後19日目に
4 敗血症で死亡した。死亡した6頭の体細胞クローンは腎臓又は後肢に重篤な形
5 態的異常を示した。体細胞クローンの平均生時体重は対照より重く、9頭の体
6 細胞クローンでは対照より40%以上重かった(参照49(364))。

7 過大子の発生は妊娠後期の牛及び羊の体細胞クローンで観察され、周産期死
8 亡の増加、胎盤発育異常(胎子水腫発症率の増加等)、内臓の腫大、疾病感受性
9 の増加、突然死、吸乳の減少、呼吸及び起立の困難を引き起こすとされている
10 (参照2, 51, 27, 52(363, 239, 833, 889))。

11
12 体細胞クローン牛における過大子の発生率は、使用した細胞の種類により異
13 なるとの報告もある(参照49(364))。体外受精後に羊の卵管内で維持された
14 胚に由来する牛は8頭中1頭が死亡したのに対し、卵管上皮細胞とともに培養
15 された胚に由来する牛は8頭中7頭が死亡した(参照43(36))。このことから、
16 生体外での培養条件が過大子の発生原因とも考えられている(参照53, 54
17 (41, 42))。

18 体外受精胚と体細胞クローン胚を同一条件下で培養したところ、体外受精由
19 来子牛と比較して体細胞クローン由来の子牛では過大子の発生率が高かった
20 (参照25, 24, 55(297, 121, 494))。

21
22 過大子の発生の他、生後直死した体細胞クローン牛の組織検査の結果、心臓
23 の構造異常に加えて心筋組織、腎臓の結合組織、腱等の軟部組織に異常が観察
24 されている(参照56(J-23))。別の研究では、生後1週間までに死亡した9
25 頭の臨床的徴候と剖検の結果には、過温症、臍ヘルニア、呼吸困難、腹水症、
26 脂肪肝、四肢奇形、消化管異常等が含まれていた(参照57(122))。

27
28 体細胞クローン牛の血液学検査において、生後直後から24時間までの赤血
29 球数、白血球数が有意に低く、造血機能が低いことが示唆されたが、血液生
30 化学検査ではグルコースを除く全ての項目で有意な差は認められなかった(参照
31 58, 38, 39(J-11, J-15, J-16))。また、出生直後の血清タンパク、マグネシウム
32 及び無機リンについては人工授精子牛に比べ有意に高い値であった(参照36
33 (J-13))。一方、出生直後から2ヶ月間までの血液生化学的検査の結果は、正
34 常範囲内であり、対照牛と比較しても大きな差は認められていない(参照59
35 (J-32))。

36 出生直後の体細胞クローン牛において、ヘモグロビン値はやや低いものの正
37 常範囲内であった。この低レベル状態は生後65日間持続した後、人工授精子牛
38 と同じレベルに回復した(参照57(122))。

39
40 13頭の体細胞クローン牛において、5頭は帝王切開による娩出を必要とした

1 が、対照（人工授精牛、体外受精胚移植）の 7 頭は助産なしで分娩した。5 頭
2 のうち 2 頭は尿膜水腫であった。これらの牛の生時体重、血中コルチゾール値、
3 副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）、インスリン様成長因子（IGF）シグナル伝達
4 経路の構成要素について調査した。

5 生時体重は、帝王切開により生まれた体細胞クローン牛が最も重く、次いで、
6 自然分娩した体細胞クローン牛、人工授精牛の順であった。帝王切開で生まれ
7 た体細胞クローン牛は対照牛よりコルチゾールと IGF-1 の値が低く、ACTH 値
8 は同等で、IGF 結合タンパク 2（IGFBP2）は対照牛より高かったが、筆者ら
9 は帝王切開によるものと考察している（参照 55（494））。

10
11 生後 1 週間、体細胞クローン牛の体温は人工授精牛よりも高く、さらに数回
12 の一時的な上昇が観察された。サイロキシン（T4）の値を測定したところ、体
13 細胞クローン牛は生後 2 週間低かったが、その後正常レベルに戻った。著者ら
14 は体温の上昇に伴う T4 レベルの低下としているが（参照 24（121））、褐色脂
15 肪組織の代謝亢進も示唆されている。

16
17 8 頭の体細胞クローン牛は出生時及び 1 時間後の赤血球数とヘマトクリット
18 値が低かったが、その後は対照（人工授精及び体内受精卵移植）と違いがみら
19 れなかった。平均体温は対照牛と同様に 1 時間後に低下した。血中グルコース
20 と乳酸値は、対照と比較して生後 24 時間まで低かったが、48 時間までに同じ
21 になった。白血球数に違いは認められなかった。体細胞クローン牛に過大子の
22 発生に関連する臨床的症状が認められたが、人工授精由来の対照牛でも多くの
23 同じ症状が認められた（参照 26, 33, 32（31, 29, 30））。

24
25 外観的な異常が見られた場合を除き、動物個体とその検査値について体細胞
26 クローン牛と対照牛との間に食品の安全性に違いは認められなかった。体細胞
27 クローン牛は出生時に不安定な生理状態にあるが、出生後 2 ヶ月以内に検査値
28 は回復すると考えられる（参照 24, 60（121））。

30 ③若齢期

31 我が国において生産された体細胞クローン牛に関する関係機関による調査
32 報告書によると、調査した体細胞クローン牛 482 頭で病死したのは 94 頭
33（19.5%）であった。

34 このうち、比較対照のデータが収集された黒毛和種及びホルスタイン種（体
35 細胞クローン牛 216 頭、対照牛 991 頭）について、病死した日齢を調査した結
36 果、約 200 日齢までは従来の繁殖技術による牛に比べ死亡率が高い傾向がある
37 が、約 200 日齢以降は対照牛と同様に極めて低いレベルで推移することが判明
38 したとしている。また、死因が判明しているもののうち、生後 2～3 日は呼吸
39 障害や心臓奇形が認められたが、それ以降は肺炎によるものが最も多かった。
40 3 頭の死亡牛について、解剖・病理検査が行われ、特定された死因は従来の繁

1 殖技術による牛でも知られている肺のうっ血、免疫不全、心臓の構造異常であ
2 ったとされている。

3 黒毛和種及びホルスタイン種の血液検査(赤血球、白血球、血清タンパク質、
4 血清尿素態窒素、血清コレステロール、血糖等)の結果、従来の繁殖技術によ
5 る牛の変動の範囲内の変化であった。

6 成育については、体細胞クローン牛は品種特性や個体差の範囲内で対照牛や
7 標準発育曲線と大きく外れることのない成長を示した。なお、ドナー牛の発育
8 能力が標準より優れていた場合には、体細胞クローン牛もその傾向に準じるこ
9 とが認められた(参照 34)。

10
11 147日齢で死亡した体細胞クローン牛の病性鑑定を実施したところ、内分泌
12 系の異常による小児症に加え、栄養消化・吸収が不十分なことによる栄養不足、
13 さらに免疫不全による感染症への抵抗性の低下により死亡したと考えられる
14 (参照 59 (J-32))。

15 離乳後4歳までの体細胞クローン牛の年間死亡率は8% (1~2歳では59頭
16 中7頭が死亡; 2~3歳では36頭中3頭が死亡; 3~4歳では12頭中1頭が死
17 亡)で、その主な死亡原因は筋骨格異常により予後不良という判断に基づく安
18 楽死であった(参照 61 (830))。

19 25ヶ月齢で死亡した体細胞クローン牛を剖検したところ、微量ミネラル(セ
20 レニウムと銅)の欠乏症が原因であった。同じ牧草で飼育している従来の繁殖
21 技術による牛の中でミネラル欠乏症の徴候を示しているものはいなかった。こ
22 の体細胞クローン牛は子牛の時期から鼓張症の徴候が軽度ながら頻繁に起きて
23 いた(参照 26, 62 (31, 312))。

24 1頭の体細胞クローン雄牛は呼吸困難(未成熟な肺と肺高血圧症)、吸乳反射
25 の不足、I型糖尿病と思われる症状及び他の健康上の問題で出生直後にかなり
26 の臨床獣医師のサポートが必要であった。この子牛はまもなく回復し、2ヶ月
27 齢までに糖尿病も回復した(子牛は血糖とインシュリンが正常な値を維持でき
28 た)。この体細胞クローン牛は完全に回復し、健康な成牛となった(参照 62
29 (312))。

30 通常の繁殖技術で生産された乳牛で、死亡率が最も高いのは生後1週目(死
31 亡率 $1.8 \pm 0.3\%$ (死産を除く))である。これらの雌牛に最も一般的に報告さ
32 れた疾病は、呼吸器障害と下痢症で、これらの疾病の発生は生後2週間でピー
33 クとなった(参照 63)。

34 生後1、2ヶ月の体細胞クローン牛の心臓と肝臓の重量は、人工授精の牛と
35 区別がつかなくなっていた。また、体細胞クローン牛の平均30%は月齢6ヶ
36 月前に、さまざまな原因で死亡することが報告され、呼吸不全、腎臓の発育異常
37 及び肝臓脂肪症(脂肪肝)等が含まれるが、出生から数ヶ月過ぎれば、ほとん
38 どの体細胞クローン牛は正常に発育し、成熟期に達する(参照 57, 61, 64 (122,
39 830, 295))。

1 超音波診断画像によって、出生直後の体細胞クローン牛で右心室拡張が明らか
2 となった例があり、投薬による治療により治癒した。出生後1日おきに採血
3 し検査したところ、血液中の網状赤血球数と未完成な血液細胞の増加が3週間
4 にわたってみられた。リンパ球（白血球）数については1ヶ月齢まで正常な値
5 であったが、その後急速に減少した。ヘモグロビン値も40日齢頃減少し、51
6 日齢で貧血により死亡した。死亡牛の組織学的検査により、胸腺、脾臓、リン
7 パ節の形成不全（発育不全）と全身性のリンパ類似組織の無形成を認めた。ま
8 た、内因性のIgG合成は認められなかった。胸腺萎縮を引き起こすウイルスの
9 関与も認められなかった（参照 65（622））。

10
11 周産期後、牛及び豚の血液検査やホルモン等のパラメータに関し、体細胞ク
12 ローンと対照との間で有意な差は認められていない。6ヶ月齢の体細胞クロー
13 ン牛は同齢の対照と比較した研究において、血液生化学的及び尿パラメータ、
14 免疫状態、成長及び生殖パラメータに関して差異は認められていない。同様に、
15 多数の生理学的パラメータ（血液プロファイル）に関し、体細胞クローンと同
16 齢の対照との間で差異が認められないとする報告がある（参照 66, 4, 67, 68, 69,
17 70（407, 568, 818, 871, 296））。

18 19 ④春機発動後の成熟及び加齢期

20 我が国において生産された体細胞クローン牛に関する関係機関による調査
21 報告書では、臨床・病理、血液性状、成育、繁殖性、乳肉生産のデータを分析
22 した結果、生後200日以上にわたって生存した体細胞クローン牛は従来の繁殖
23 技術による牛と同程度に成育し、差異のない生理機能を有することが判明した
24 とされている。

25 体細胞クローン牛19頭（黒毛和種）の肥育試験の結果、1日当たりの増体量、
26 枝肉の肉質について、肥育時の個体の状態により若干の差が生ずる場合がある
27 ものの対照牛と比較して相似性が高かった（参照 34）。

28
29 体細胞クローン牛の成育について、対照牛の値と同等か品種における標準値
30 の範囲内であったとする多数の報告がある（参照 61, 11, 71, 72（830, 886, J-27,
31 J-33））。また、体細胞クローン牛は、ドナー牛の優良形質を維持することから、
32 比較対照とする群の値よりも優れた値を示すことが考えられ、黒毛和種やホル
33 スタイン種の体細胞クローン牛では、体重、体高等が標準発育値の上限を上回
34 る良好な発育を示すこともある（参照 40, 73（J-25, J-35））。

35
36 体細胞クローン牛のと畜検査及び病理組織学的所見は、肥育牛で日常的に確
37 認されている所見であった。特に、採取可能であった臓器（肝、腎、心、肺、
38 骨格筋、皮膚）の組織像において、構造的な異常所見は認められなかった（参
39 照 74（J-22））。

1 61 ヶ月齢の不受胎の体細胞クローン牛一頭について病理解剖した結果、解剖
2 所見では子宮角の変色・低形成、卵巢静止が確認された。また、同牛の病性鑑
3 定では子宮の動脈中膜に石灰沈着が多く、内膜に異常に多いことが観察された
4 (参照 75 (J-49))。

5
6 体細胞クローン牛の寿命について、我が国において、現在 10 歳齢で健常な
7 牛が飼育されており、また、6~7 歳齢の動物について言及した報告書もあるが
8 (参照 57, 76, 4 (122, 298, 568))、寿命に関して検討できるデータは十分に得
9 られていない。

10 また、体細胞クローンマウスでは、寿命が短くなるという報告(参照 77(551))
11 や寿命は変化しないという報告(参照 78 (742))がある。

12
13 2 ヶ月齢~5 歳齢の体細胞クローン牛 17 頭に対し、ロタウイルスワクチンと
14 オボアルブミンを投与し、免疫機能について調査したところ、抗体産生性につ
15 いては対照群との間に差はみられなかった。また、抗原に特異的な細胞の増殖
16 は、ロタウイルスでは差はみられなかったが、オボアルブミンでは体細胞クロ
17 ーン群で弱かった。改めて、同様の試験を同一の動物及び別の体細胞クローン
18 牛で行ったが、免疫機能は正常であった(参照 64, 69 (295, 296))。

19
20 2~4 歳齢の体細胞クローン牛の授乳期の初期において、一時的に血中の $\gamma\delta T$
21 細胞及び WC1+ $\gamma\delta T$ 細胞の割合が対照と比較して減少していることが観察され
22 ており、これにより体細胞クローン牛が授乳期の初期に免疫抑制状態に陥る可
23 能性があることが指摘されている(参照 79, 69 (295, 744))。

24
25 (繁殖性)

26 我が国において生産された体細胞クローン牛に関する関係機関による調査
27 報告書では、52 頭(雄 18 頭、雌 34 頭)の体細胞クローン牛の繁殖性につい
28 て報告されている。

29 雄牛の精液は、正常に生産され、性状も従来の繁殖技術による牛と同様であ
30 った。その精液を用いた体外受精、人工授精等の繁殖性調査を通じ、体細胞ク
31 ローン雄牛が種雄牛として利用可能であることが確認された。また、その際の
32 人工授精における生産率は、従来の繁殖技術による牛と同等であることが認め
33 られている。

34 雌牛は春機発動後、正常な発情周期が認められ、血中プロゲステロンの濃度
35 に異常は認められていない。雌牛を用いた人工授精、胚を用いた他の雌牛への
36 胚移植により、繁殖性が確認された(参照 34)。

37
38 体細胞クローン雄牛の精子について、正常精子率、体外受精後の卵割率、胚
39 盤胞の発生率に差異は認められておらず、受胎試験でも異常は認められていな
40 い(参照 80, 81, 76, 82, 71, 83, 84 (829, J-38, 298, J-44, J-27, J-37, J-39))。

1 また、精液の凍結融解後の精子性状、授精試験も異常は認められず凍結能は正
2 常であった（参照 85, 86, 87, 81 (J-40, J-7, J-29, J-38)）。

3 出生時体重が重い高齢の体細胞クローン雄牛においても、その精液性状及び
4 繁殖能力は正常であることが確認され（参照 88 (682)）、リクローン牛の凍結
5 精液を用いた受胎試験においても、後代牛の出産が確認されている（参照 89
6 (J-31)）。

7
8 体細胞クローン雌牛の多くは、正常な初回発情時期、発情周期が認められて
9 いるが、春機発動を迎えるのが遅く、初回発情時の体重は重いとする報告もあ
10 る。発情周期の長さ、卵胞の発育、ホルモン変化について差異はみられなかつ
11 た。黄体形成ホルモン (LH)、卵細胞刺激ホルモン (FSH)、エストラジオー
12 ル、プロゲステロンについて、日内変動の様相は体細胞クローン牛と対照牛と
13 の間で類似していた（参照 90, 76 (202, 298)）。

14 体細胞クローン雌牛においては、同一条件下で飼育された対照牛より春機発
15 動期に達するのが遅かった。しかし、妊娠期間及び出生子牛の生存に関して、
16 両者の間に有意な差はみられなかった（参照 64 (295)）。

17
18 初回排卵が確認された体細胞クローン牛、人工授精牛ともに、初回排卵後の
19 血中プロゲステロン濃度は低かった。また、発情周期が短い牛ほど血中プロゲ
20 ステロン濃度は低い傾向を示した。2 回目以降の排卵後では、体細胞クローン
21 牛、人工授精牛ともに、この濃度変化に大きな差はなかった（参照 91 (J-46)）。

22
23 2 頭の 26 ヶ月齢体細胞クローン牛に人工授精を行った結果、1 頭が受胎し、
24 受胎後 285 日目に自然分娩により 22.5kg の雌牛を分娩した。不受胎であった
25 もう 1 頭に後日、再度人工授精を行った結果、受胎したが、受胎後 252 日目に
26 流産した（参照 59 (J-32)）。

27 妊娠期間についても、通常の繁殖牛と大きな差は認められていない（参照 92,
28 56, 49, 93, 91, 94 (J-18, J-23, J-36, J-45, J-46, J-51)）。

29
30 体細胞クローン牛の繁殖性は通常の繁殖技術によって生産された牛と有意
31 な差はなく、その後の胎子の発育も正常であった（参照 90, 95, 61, 88, 11, 96
32 (202, 227, 830, 682, 886, 754)）。

33
34 ドナー牛の 305 日乳量（実測値）は 10,722kg で、体細胞クローン牛の 305
35 日乳量（期待値）は 8,500kg であった。初産時での 305 日間の乳量に違いはみ
36 られるものの、これは飼養管理の影響によると考えられている（参照 94 (J-51)）。

37 体細胞クローン牛の泌乳成績は、対照牛と比較すると初産時は低い傾向であ
38 ったが、2 産次では同等であった（参照 39 (J-16)）。一方、2 産次でも低い乳
39 量であったとする報告もある（参照 97 (J-48)）。

1 (2) 体細胞クローン技術を用いて産出された豚

2 ①細胞融合～妊娠（胎子発育）

3 豚は多胎動物であり、妊娠初期に複数の生育可能な胚が子宮内に存在する必
4 要があると考えられている（参照 98（594））。

5 体細胞クローン豚の胎子死亡率に関する報告は少ないものの、1頭あたり 100
6 ～300 個の体細胞クローン胚に加え、100 個の体外受精胚を移植した報告によ
7 ると、2 頭の受胎豚から 4 頭の生存産子が生まれている（参照 99（46））。同様
8 に、1 頭あたり 100 個以上の体細胞クローン胚を移植し、体細胞クローン豚を
9 産出した報告がある（参照 100, 101（558, 590））。

10 豚においては、牛と異なり、体細胞クローン胚の高い死亡率のため、非常に
11 多くの胚を受胎豚に移植する必要があり、妊娠を開始して維持するために最小
12 限度の発育可能な胚を必要とする。それはおよそ 4 個であると考えられている
13 （参照 98, 102（594, 188））。

14 通常の繁殖技術における調査においても、胎盤発育の時期である妊娠 35 日
15 以後に胎子の死亡が報告されており、死亡率は 9.2%とされている（参照 103
16（788））。

17 ②周産期（出生前後）

18 我が国において生産された体細胞クローン豚に関する関係機関による調査
19 報告書によると、体細胞クローン豚 90 頭における死産は 22 頭（24.4%）、生
20 後直死は 8 頭（8.9%）であり、体細胞クローン牛と比較をすると死産の割合が
21 多く、生後直死の割合は少ない傾向であった。また、死産、生後直死した体細
22 胞クローン豚において、極端な過大子の発生は認められなかったとされている。
23 また、病死は 25 頭（27.8%）発生しており、死因は記載されていないが、体
24 細胞クローン牛より多い傾向であったとされている（参照 34）。

25
26
27 デュロック種の胎子線維芽細胞をドナー細胞として、1 頭あたり 59～128 個
28 の体細胞クローン胚を 5 頭（合計 511 個）に移植した。移植後 28～40 日に 5
29 頭全ての受胎雌豚について超音波診断により妊娠が確認された。5 頭のうち 4
30 頭は分娩まで継続し、それぞれ 5～9 頭の体細胞クローン豚（合計 28 頭）が娩
31 出した。4 頭のうち 3 頭は妊娠 115 日目に分娩誘起処理を行い娩出した。4 頭
32 目は自然分娩により妊娠 117 日目に娩出した。28 頭の体細胞クローン豚のうち
33 1 頭は死産であったが、剖検で異常は認められなかった。生存して生まれた体
34 細胞クローン豚のうち 1 頭は、鎖肛で、最も小さい個体であった。鎖肛は従来
35 の方法で生産された子豚において低い発生頻度で見られる異常である。生存し
36 た子豚は従来の方法で生産された同一品種の子豚より、やや低めの生時体重で
37 あった。産子数、胎盤重量、胎子重量には関係がほとんどみられなかった（参
38 照 5（819））。

39
40 クローン豚を妊娠した仮親の数は限られているが、妊娠期間は 114～120 日

1 間と報告されている（通常の繁殖技術での豚の平均的な妊娠期間は 110～120
2 日の範囲）（参照 5, 104, 105, 106, 107 (819, 102, 573, 849, 181)）。

3 また、体細胞クローン豚の生時体重及び胎盤の重量は、通常の繁殖技術によ
4 り生産された産子の正常範囲内であるとする報告がある（参照 100, 108 (558,
5 J-61)）。また、飼育環境を制御した研究では、出生時平均体重は、体細胞クロ
6 ーン豚が人工授精と比較して有意に低い、離乳期には差がないことが示され
7 ている。また、体細胞クローン豚は死産や出産後死亡率が高い傾向にあったと
8 報告されている（参照 109 (205)）。

9 体細胞クローン牛に見られる過大子の発生とは対照的に、体細胞クローン技
10 術で生産された数頭の豚では子宮内発育遅延の発症率が増加している。体細胞
11 クローン豚の 23 腹（143 個体）を、人工授精での 112 腹（1,300 個体）と比較
12 すると、1 腹当たりの子宮内発育遅延が増加していることが分かった（参照 109
13 (205)）。

14 また、顆粒膜細胞をドナー細胞として用い、5 頭の生存体細胞クローン豚が
15 生産された。妊娠 116 日目に帝王切開により娩出した。体細胞クローン豚の平
16 均生時体重は 2.72 ポンドで、ドナー細胞と同じ集団での自然交配による産子よ
17 り約 25%軽かった（参照 101 (590)）。

18
19 生後直死した 2 頭と 139 日齢で死亡した体細胞クローン豚の解剖・病理検査
20 の結果、生後直死した 2 頭のうち 1 頭は肢の異常とヘルニア、もう 1 頭は臓器
21 に著変はなかったが、腹腔及び脳内の出血が認められた。139 日齢で死亡した
22 体細胞クローン豚は、胸膜肺炎とコリネバクテリウムの全身感染症と診断され
23 た。これらの所見は通常の繁殖技術による豚でも知られている所見であった（参
24 照 59 (J-32)）。

25 40 頭のクローン豚のうち、下痢、脳髄膜炎、心臓の機能異常を含む種々の健
26 康問題のため、5 頭が死産、22 頭が生後 1 週間以内、1 頭が生後 40 日で死亡
27 した。12 頭は成豚まで生存した。しかし、この試験では感染症による影響を除
28 外できなかつたとされている（参照 105 (573)）。

29 生育不能のクローン豚の胎盤の形態異常は、胎盤細胞のアポトーシスに起因
30 している可能性があるとしてされている（参照 110 (435)）。

31 2 種類の細胞をドナーとするクローン子豚 9 頭について、生後約 30 日目の時
32 点でリポ多糖の負荷後に、急性反応（コルチゾル、TNF- α 、IL-6）を調査した
33 ところ、対照群に比べ、一部の体細胞クローン豚では低かったが、他の体細胞
34 クローン豚では同程度であった（参照 104 (102)）。

35 36 ③若齢期

37 体細胞クローン豚の体重は、標準値と同様に推移し、体細胞クローン豚の間
38 でも大きな差は認められていない（参照 59 (J-32)）。

39 3～5 週齢の体細胞クローン豚の体重は、対照と比べ有意に高値で推移したが、
40 6 週齢以降差はみられなくなり、8 週齢ではほぼ同様の値であった（参照 108

1 (J-61))。

2 15 及び 27 週齢の体細胞クローン豚の研究では、対照と比較して発育、健康、
3 臨床化学及び免疫機能に関して差が認められないことを示している（参照 111,
4 112 (14, 517))。

5
6 体細胞クローン豚は対照と比較し、行動、健康において著しい違いはない。
7 年齢に応じた生理反応（例えば、アルカリホスファターゼ、血清タンパク）の
8 測定で、体細胞クローン豚は正常であった。角化不全がこの体細胞クローン群
9 で 1 例観察されたが、これは従来の飼育法にも存在するので、発生が体細胞ク
10 ローンのためであったか否かは判断できない（参照 113, 114 (15, 16))。

11 約 18 ヶ月齢の 3 頭の体細胞クローン豚の血液検査では、赤血球等の 17 項目
12 の血液学検査、LDH 等の 24 項目の血液生化学検査の結果、対照と著しい差異
13 は認められていない（参照 34）。

14 15 ④春機発動後の成熟及び加齢期

16 体細胞クローン豚 4 頭からの精液を通常繁殖技術により生産された雌豚
17 49 頭に人工授精したところ、後代豚 293 頭が離乳期間まで生存した（参照 106
18 (849)) 。

19 体細胞クローン豚の初回発情日齢は 1 頭を除き、97～125 日齢であった。ま
20 た、平均産子数 11.7 頭、生存頭数 10.3 頭、離乳頭数 9 頭で、対照との差は認
21 められなかったが、産子の平均体重は、生時及び 3 週齢時とも対照に比べ低値
22 であった（参照 108 (J-61)) 。

23 体細胞クローン雌豚で得られた受胎率は対照と同等であった（参照 115, 106
24 (489, 849))。

25
26 人工授精により体細胞クローン雄豚を交配した体細胞クローン雌豚は、通常
27 の妊娠期間で出産した。後肢の屈筋腱が拘縮した 1 頭の豚を除き、62 頭の後代
28 は出産時に正常であった。異常 (1.6%) の割合はオーストラリアの養豚産業の
29 推定頻度 (1.2%) と同程度であった。対照群の死産率は 8%であったが、体細
30 胞クローン豚産子の死産率は 4.5%であった。雄豚からの精液の評価では、対
31 照と同等の精液量、精液濃度、運動性を示した（参照 115 (489))。

32
33 Viagen 社のデータから体細胞クローン豚は、1 頭のみ出生後及び解体処理前
34 の IGF-I が対照群よりも低かったが、他は対照群の変動の範囲内であった。ま
35 た、エストラジオール-17 β レベルも低かったが、対照群の変動の範囲内であっ
36 た。正常期間内に出荷体重に達したことから、成長率や生殖能に対する内分泌
37 の違いの変動の影響は不明である（参照 67 (818))。

1 (3) 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚のまとめ

2 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚について、発育段階毎に従来
3 の繁殖技術による牛又は豚との健全性について比較を行った。

4 5 ①体細胞クローン技術を用いて産出された牛

6 周産期における死産及び生後直死が多く認められ、その主な原因として、過
7 大子の発生による難産、窒息、羊水誤嚥が認められている。過大子の発生は、
8 従来の繁殖技術による牛でも認められているが、体細胞クローン技術を用いて
9 産出された牛において高い頻度で認められている。また、出生直後の血液検査
10 等において、従来の繁殖技術による牛との間に差が認められたとの報告がある
11 が、生後2ヶ月以内に回復したとされている。

12 若齢期において、従来の繁殖技術による牛と比較して死亡率が高いことが報
13 告されている。死因は従来の繁殖技術による牛でも知られている肺炎等であっ
14 たとされている。また、感染症への抵抗性の低下の報告もある。血液検査等で
15 は、従来の繁殖技術による牛と有意な差は認められていない。若齢期に認めら
16 れる死亡率の高さは、周産期において多く認められる異常と共通の要因による
17 ものと考えられる。この時期に認められる異常は、概ね6ヶ月以降まで成長し
18 た牛では、従来の繁殖技術による牛と死亡率の差は認められていない。

19 若齢期を過ぎて生存している体細胞クローン牛については、従来の繁殖技術
20 による牛と比較して、臨床・病理、血液検査等のパラメータに関して差異は認
21 められていない。成育、繁殖性、乳肉生産のデータにおいても、従来の繁殖技
22 術による牛と差異は認められていない。また、採取可能であった体細胞クロー
23 ン牛の病理組織学的検査においても、異常所見は認められていない。

24 一部の体細胞クローン牛において免疫機能が低下したとする報告があるが、
25 一方で対照と差がないとする報告も多数ある。一般的に、体細胞クローン牛が
26 従来の繁殖技術による牛と比較して、感染症等の疾病に特に感受性が高いとい
27 うことを示す知見は報告されていない。

28
29 体細胞クローン動物産出の成功率は、再構築胚のリプログラミングの方法、
30 ドナー又はレシピエント細胞の由来、細胞の培養方法等により影響を受けると
31 考えられた。今後、これらの要因についての研究を進めることにより、体細胞
32 クローン動物産出の成功率は向上するものと考えられる。

33 34 ②体細胞クローン技術を用いて産出された豚

35 周産期における死産及び生後直死が多く認められており、体細胞クローン技
36 術を用いて産出された牛と比較すると死産の割合が多く、生後直死の割合が少
37 ない傾向であった。

38 いくつかの報告において、生時体重が低いとする報告があるが、離乳期には
39 回復しており、また、死産及び生後直死した体細胞クローン技術を用いて産出
40 された豚で認められた所見は、従来の繁殖技術による豚でも認められている所

1 見であった。

2 若齢期以降において、体細胞クローン技術を用いて産出された豚については、
3 臨床・病理、血液検査、成育、繁殖性においても、従来の繁殖技術による豚と
4 差異は認められていない。

6 ③体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚のまとめ

7 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の出生前後において、主に
8 発生異常と考えられる死産及び生後直死が認められる。また、体細胞クローン
9 技術を用いて産出された牛については、若齢期においても死亡率が高い傾向が
10 認められているが、概ね6ヶ月齢を越えると従来の繁殖技術による牛と同様に
11 健常に発育する。なお、これらの死亡原因は従来の繁殖技術でも認められてい
12 るものである。

13 出生後及び若齢期に生理学的に不安定な牛及び豚が認められるものの、それ
14 らは成長とともに回復し、健常となる。

15 これらのことから体細胞クローン技術を用いて産出され、食用に供される可
16 能性のある牛及び豚については、従来の繁殖技術による牛及び豚と比べて差異
17 のない健全性を有すると認められた。

18
19 なお、人獣共通感染症等の食品衛生法（昭和22年法律第233号）で規定さ
20 れた疾病にかかり又はその疑いがある場合及びと畜場法（昭和28年法律第114
21 号）で規定されている異常を呈する場合には、食用に供することが禁止されて
22 おり、体細胞クローン動物であるか否かにかかわらず現行のと畜検査において、
23 必要に応じて処理される。

2. 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の後代について

体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の後代（F1）について、従来の繁殖技術による牛又は豚と健全性について比較を行った。

体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の後代とは、体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚から受精を介して産出された産子（F1）及びその産子から受精を介して産出された子孫のことである。いずれの世代においても、受精を介して産出されるものであることから、一代目の子孫であるF1について、従来の繁殖技術による牛及び豚と比べて同等の健全性を有するかについて検討した。

（1）体細胞クローン技術を用いて産出された牛の後代（F1）

我が国において生産された体細胞クローン牛に関する関係機関による調査報告書によると、体細胞クローン牛の後代 124 頭における死産は 11 頭（8.9%）、生後直死は 1 頭（0.8%）であり、通常の繁殖技術による牛（n=566）の死亡率（死産 4.6%、生後直死 1.9%）と比較し有意な差は認められなかった。また、病死は 202 頭のうち 14 頭（6.9%）であり、比較対照のデータが収集された黒毛和種及びホルスタイン種（体細胞クローン牛 216 頭、対象牛 991 頭）について、病死した日齢を調査した結果、生後 2 日目以降は対照とほぼ同等の死亡率で推移することが判明した。これらの結果から、体細胞クローン牛の後代において、死産、生後直死及び病死の発生率は、通常の繁殖技術による牛と有意な差は認められないとされている。

また、1 頭の死産した体細胞クローン牛の後代について、解剖・病理検査が行われ、従来の繁殖技術による牛でも知られている疾患（免疫不全）によるものであった。その他、外観的に健康と思われた飼育中の体細胞クローン牛の後代 2 頭について、解剖・病理検査が行われ著変は認められていない。

18 頭の体細胞クローン牛の後代を対象とした血液学検査及び血液生化学検査の結果、バラツキは見られたものの対照における変動範囲を大きく逸脱する項目は認められなかった。

成育については、調査した 16 頭について、体細胞クローン牛の後代は品種特性や個体差の範囲内で対照牛や標準発育曲線と大きく外れることのない成長を示した。

5 頭の雌の体細胞クローン牛の後代について、繁殖性の調査が行われており、人工授精による妊娠期間、産子の生時体重等において、対照との差は認められていない。

搾乳量について、5 頭の体細胞クローン牛の後代を調査したところ、305 日平均補正乳量は対照より低い値を示した。肥育試験では、増体、枝肉成績に加えアミノ酸組成、脂肪酸組成等の分析が行われた結果、肥育時の個体の状態により若干の差が生ずる場合があるものの標準値内の発育成績を示したとされている（参照 34）。

1 自然分娩された体細胞クローン牛の 52 頭の後代のうち、85%が 24 時間後まで
2 生存しており、その生存率は対照とほとんど変わることはなかった（参照 61
3 (830)）。

4 21 頭の体細胞クローン牛の後代が自然分娩で生まれており、21 頭中 20 頭が出
5 生後生存していた（参照 69 (296)）。

6 移植後 252 日目に死産した体細胞クローン牛の後代について、解剖・病理検査
7 の結果、脾臓と胸腺からは免疫不全が、甲状腺からはホルモン関係の異常が示唆
8 された（参照 92 (J-18)）。

9
10 3 頭の体細胞クローン牛の後代の生時体重は、体細胞クローン牛にみられる過
11 大子の発生はなく、人工授精による産子と差は認められておらず、全て自然分娩
12 であった（参照 116, 92 (J-17, J-18)）。

13 体細胞クローン牛の後代の血液性状については、一部で人工授精による牛との
14 間に差が認められる時期もあったが、ほぼ正常範囲であり、多くの項目で差は認
15 められなかった（参照 116 (J-17)）。

16 分娩した体細胞クローン牛の後代は、外見的に異常はなく、自力で起立後、乳
17 を吸引した。通常的人工授精、受精卵移植による産子と異なることはなかった（参
18 照 117 (J-42)）。

19
20 体細胞クローン牛の後代（雄）の精液性状は正常であり、その精液を用いた人
21 工授精及び受精卵移植を実施した 2 頭の雌はともに 1 回で受胎し、それぞれ正常
22 な産子を得ることができた（参照 82 (J-44)）。

23 体細胞クローン牛の後代（雌）に人工授精を実施した。また、採卵し、体外受
24 精卵を他の雌に移植したところ、どちらも産子を出産し、現時点では通常の産子
25 と変わらず、どちらも順調な発育をしている。また、特に肺炎や下痢等の疾病に
26 対する抵抗性にも異常は認められなかった（参照 97 (J-48)）。

27 体細胞クローン牛の後代（雌 19 頭、雄 11 頭）の生理機能及び遺伝的状況を調
28 査したところ、出生当初においては心拍数、呼吸数及び体温が低めであるが、染
29 色体安定性、発育、肉体的、血液学的及び生殖的パラメータは 1 歳の正常動物と
30 比較しても標準的であった。さらに、ストレス反応も適度であった（参照 118
31 (563)）。

32
33 ホルスタイン種の体細胞クローン牛の後代（雌）について、黒毛和種精液を用
34 いた人工授精により産子を出産している（参照 75 (J-49)）。

35 体細胞クローン牛の後代の体重及び体高等の推移は、対照や標準値の範囲内で
36 あったとする多くの報告があり、また、各臓器や胃及び腸等の消化管重量の調査に
37 おいても正常値の範囲内であった。さらに、枝肉における筋肉、脂肪及び骨の構
38 成割合や枝肉における各筋肉の割合も正常値の範囲内にあった（参照 119 (J-56)）。

39 40 (2) 体細胞クローン技術を用いて産出された豚の後代 (F1)

1 我が国において生産された体細胞クローン豚に関する関係機関による調査報告
2 書によると、体細胞クローン豚の後代 143 頭における死産は 8 頭 (5.6%)、生後
3 直死は 2 頭 (1.4%) であり、全てが、自然分娩であり、過大子の発生は見られな
4 かった。また、体細胞クローン豚の後代を対象とした血液学検査及び血液生化学
5 検査の結果、測定値の分布範囲は対象群のものとはほぼ同様であり、体重増加も対
6 照群や標準的な成長曲線とはほぼ同等であった (参照 34)。

7
8 体細胞クローン豚 (雌) 6 頭に人工授精を行い、44 頭の後代を産出した。後代
9 の出生時体重は対照に比べて有意に低かったが、出生胎子数、平均同腹子数及び
10 離乳期までの生存数は同様であった (参照 120 (678))。

11 体細胞クローン豚 (雌) 9 頭に、従来の繁殖技術により交配し、後代を産出し
12 た。平均同腹子数は対照と比較して差異はなく、生後 15 週目 (n=14) と 27 週
13 目 (n=8) での血液検査 (10 項目) において、15 週目の血中尿素態窒素と 27 週
14 目のアルカリホスファターゼを除き、対照群と比較して正常変動の範囲内であっ
15 た (参照 112 (517))。

16 体細胞クローン豚の後代 242 頭が商業的な条件下で飼育された結果、対照群に
17 比べ、健康状態又は死亡率に差異は認められなかった (参照 121, 67 (818))。

18
19 体細胞クローン豚の後代の生育状況について、分娩 10 腹のうち、衰弱等によ
20 る離乳前の死亡以外に 3 腹の一部で疾病による死亡例がみられた。死亡の原因は、
21 下痢や多発性漿膜炎であり、通常の豚でもみられるものであった。また、疾病に
22 よる死亡例がみられなかった腹の産子は、対照豚と同様の発育を示した (参照 122
23 (J-60))。

24
25 体細胞クローン豚の後代の血液生化学検査では、ヘモグロビン量、白血球数等
26 の項目で対照と比較し有意差が見られたが、ほとんどが一時的なものであり、数
27 値の範囲もほぼ同様であった (参照 122 (J-60))。

28
29 体細胞クローン豚の後代は、対照と比較して生時体重が低値であり、30kg まで
30 の 1 日あたり増体量では差がみられなかったが、30~70kg の増体量では後代豚
31 が上回っていた (参照 123 (J-62))。

32 33 (3) 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の後代のまとめ

34 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の後代 (F1) において、体細
35 胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の周産期や若齢期に認められた異常
36 は認められておらず、F1 の健全性は、従来の繁殖技術による牛及び豚と差異は認
37 められない。

38
39 体細胞クローン技術を用いて産出された牛及び豚の後代は、人工授精等の従来
40 の繁殖技術を用いて、受精を介して産出される。従って、一代目の子孫である F1

- 1 において、従来の繁殖技術による牛及び豚と比べて同等の健全性を有することから、
- 2 受精を介して産出される二代目以降についても、従来の繁殖技術による牛及
- 3 び豚との差異は想定されない。

1 Ⅲ. 体細胞クローン動物のエピジェネティクス等

2 1. 体細胞クローン動物の発生と分化

3 通常の交配により得られる受精後の接合子は、「全能性 (totipotency)」を有す
4 る胚となり、数回の分裂を経て、その1つの細胞は、筋肉細胞、脂肪細胞、脳細
5 胞等の多数の異なる細胞へ分化することができ、実際に胚性幹細胞として利用さ
6 れている。つまり、同じ遺伝子構成を持つ細胞が、必要とされる遺伝子の適切な
7 発現調節を行うことにより、異なる役割や性質をもつ体細胞へと分化しうる。こ
8 の概念は、近年のエピジェネティクスを含めた発生学研究の進展に伴い、確立さ
9 れたもので、自然交配、人工授精及びクローン技術の如何を問わず、発生学の基
10 本的な概念となっている。

11 体細胞クローン技術では、ドナー動物の体細胞（卵子や精子等の生殖細胞以外
12 の細胞、例えば、皮膚や筋肉等の細胞）の核を、核を除いた未受精卵（レシピエ
13 ント）に移植し、又は電氣的刺激により体細胞を細胞融合させ、活性化して発育
14 を促す。培養により数回の細胞分裂を経た後得られる胚盤胞（体細胞クローン胚、
15 再構成胚等と呼ばれる。）を別の雌（受胎動物、仮親）の子宮へ移植し、受胎させ、
16 成長した胎子をクローン動物新生子として出産させる。

17 体細胞クローン動物の産出においては、通常の有性生殖における受精の過程を
18 経ずに、分化した体細胞を使用することから、体細胞クローン胚を、一度「全能
19 性」を有する状態にリプログラミングする必要があると云われている。

20
21 体細胞クローン産出過程において、体細胞クローン胚の「全能性」の獲得が適
22 切に行われない場合には、その後の細胞分化及び組織や器官の形成が適切になさ
23 れないことが予想され、近年、体細胞クローン動物の発生、分化、発育における
24 異常の原因解明のため、関連分野のエピジェネティクス研究が精力的に行われて
25 きた。本章においては、体細胞クローン動物の産出過程で認められる発生や発育
26 の異常とエピジェネティックな変化との相関に関する現在の知見をまとめた。

27

28 2. エピジェネティクスとは

29 エピジェネティクスとは、「DNA の塩基配列の変化を伴わず、細胞分裂後も継
30 承される、遺伝子機能を研究する学問」（参照 124）として定義されている。

31 エピジェネティックな制御としては、DNA のメチル化（参照 125, 126, 127, 128,
32 129 (57, 686, 336, 320, 660))、ヒストンの修飾（メチル化、アセチル化、リン
33 酸化及びユビキチン化）等（参照 130, 131, 132, 133, 134 (360, 608, 130, 233,
34 805)）が知られている。特に DNA のメチル化は、遺伝子発現解析と並んで、エ
35 ピジェネティクス研究の大部分を占めており、遺伝子のエピジェネティックな発
36 現調節において重要な役割を果たしていると考えられている。

37 DNA のメチル化は、メチル転移酵素により、DNA のシトシン塩基の 5 位にメ
38 チル基が転移し、5-メチルシトシン塩基が生成される反応である。遺伝子の 5'上
39 流域にあるグアニン及びシトシン塩基に富む CpG アイランドと呼ばれる配列の
40 シトシン塩基がメチル化され、多くの場合、遺伝子の発現が抑制される。

1
2 DNA のメチル化のパターン（遺伝子毎のメチル化の程度の相違）は、筋肉、
3 脂肪、脳等の器官や組織を構成する細胞の種類により異なる。また、通常、DNA
4 のメチル化のパターンは細胞分裂によって失われずに維持され得る。少なくとも
5 哺乳類においては、その生命維持において、遺伝子毎にメチル化と脱メチル化が
6 適切に行われることが重要であると考えられている。

7
8 例えば、着床前のマウス胚（胚盤胞, blastocyst）において、発生において重要
9 と考えられている *Oct-4* 遺伝子（他の遺伝子の転写を調節する因子をコードする
10 遺伝子）のメチル化の状態及び遺伝子発現を調べると、内細胞塊 (inner cell mass)
11 ではほとんどメチル化されておらず、遺伝子の発現が認められるが、栄養膜細胞
12 (trophoblast) では高度にメチル化されており、遺伝子の発現は認められない（参
13 照 135）。

14
15 哺乳類の胚の発生及び分化の過程でゲノム全域のエピジェネティックな変化が
16 起きる。受精直後に起こるエピジェネティックな変化は、「着床前
17 (preimplantation) のリプログラミング」と、配偶子の生成 (gametogenesis)
18 時に起こるエピジェネティックな変化は、「配偶子形成のリプログラミング」と呼
19 ばれることがある。即ち、「リプログラミング」とは「グローバルなエピジェネテ
20 イックな変化」と考えられている（参照 126, 136 (686, 528)）。

21 体細胞クローン技術により得られた胚のリプログラミングと正常胚におけるリ
22 プログラミングとの相違が注目され、数多くの報告がなされているが、その殆ど
23 は、着床前のリプログラミングに関するものである（参照 137, 138, 139, 140, 141,
24 142, 143, 144, 145, 146, 147 (630, 339, 486, 113, 276, 354, 705, 888, 861, 17,
25 194)）。このようなエピジェネティックな調節の不全は、必ずしも体細胞クロー
26 ン動物に限られるものではなく、他の生殖補助技術 (ART) によって得られた胚に
27 おいても認められる（参照 148, 149, 149）。

28 29 3. クローン動物のエピジェネティクス

30 以下に、体細胞クローン動物のエピジェネティクスに関する知見について概説
31 する。

32 (1) DNA のメチル化

33 (細胞融合～着床前・胚盤胞)

34 マウス、ラット、豚、牛で、受精直後の接合子（受精卵）において、精子由
35 来の核の脱メチル化が起きることが報告されている。牛では、2 細胞期から 8
36 細胞期にかけて細胞分裂に伴いメチル化の程度が低下するが、8 細胞期から 16
37 細胞期に、新たなメチル化が起きる。一方、マウスでは、新たなメチル化は、
38 4 回の分裂以後に胚盤胞の内細胞塊で顕著であることが報告されている（参照
39 150 (171)）。このように、動物種により、再メチル化の時期に相違が認められ
40 る。

1
2 牛の体細胞クローン胚で、細胞融合の段階で脱メチル化が起こるものの不完
3 全で、再メチル化が正常胚よりも早期に起きることが報告されている(参照 150
4 (171))。そのため、牛クローン桑実胚 (morulae) では、より高度のメチル化
5 が認められた。

6 一方、体細胞クローン牛の胚で、4 細胞期まではドナー細胞のメチル化パ
7 ターンが維持されており、脱メチル化が認められないという報告もある(参照 152
8 (77))。

9 また、体細胞クローン牛の着床前の胚で、ゲノムのサテライト領域の脱メチ
10 ル化が適正に行われず、ドナー細胞によく似たメチル化レベルが維持されると
11 の報告がある(参照 153 (355))。

12
13 豚の生殖細胞及び体細胞では、動原体(染色体の長腕と短腕が交差する部位)
14 のサテライト DNA 配列やユークロマチンに存在する PRE-1 配列の脱メチル化
15 を比較すると、卵子はごくわずかに、精子は高度にメチル化されており、体細
16 胞(線維芽細胞)は高度にメチル化されていた。体細胞クローン胚においては、
17 4~8 細胞期までは、高いメチル化状態が維持されていた。それ以降は、体外受
18 精胚や体内受精胚と同様に、脱メチル化が始まり、胚盤胞ではメチル化部位の
19 数が明らかに減少していた(参照 154 (356))。この報告から、豚体細胞クロ
20 ーン胚では、通常の受精胚と同じように着床前に脱メチル化が起こると考えら
21 れた。

22 23 (胎盤及び胎子)

24 牛やマウスにおける体細胞クローンの胎盤の肥大については、栄養膜細胞
25 (trophoblast) におけるリプログラミングの相違に起因するものと考えられて
26 いる。

27
28 体細胞クローンマウスでは、胎盤の肥大と胎子体重の減少が認められるが、
29 胎盤の過形成は、主に海綿栄養芽細胞 (spongiotrophoblast) 層の肥厚による
30 ことが示されている(参照 155 (745))。

31 体細胞クローンマウスの胎盤と胎子皮膚の細胞を用いてゲノムの CpG アイ
32 ランドのメチル化状態について調べた。その結果、大部分の領域(胎盤の 99.5%
33 と皮膚の 99.8%)は、有性生殖による対照と同一であったが、異なるメチル化
34 パターンも認められた。メチル化のパターンが異なる領域は、組織特異的な遺
35 伝子の発現に対応する領域と一致していた(参照 156 (554))。

36 さらに、体細胞クローンマウスの胎盤の過形成と、特定の遺伝子の DNA の
37 メチル化及び遺伝子発現の関連が調べられ、体細胞クローンマウスの胎盤で、
38 高度にメチル化される領域として、*Sall3* 遺伝子座が同定された。*Sall3* 遺伝子
39 座のメチル化の割合は胎盤肥大の程度に相関していることから、*Sall3* 遺伝子
40 座は、核移植に起因するエピジェネティックな変化が起きやすい遺伝子座であ

1 ると結論づけられた（参照 157（555））。

2
3 牛体細胞クローンと受精由来の胎子のメチル化の相違も認められており、発
4 達異常との関係が推定されている。

5 体細胞クローン牛の胎子、流産胎子及び成牛について、DNA 中の 5-メチル
6 シトシンの量を測定した結果から、体細胞クローン牛胎子の低メチル化と流産
7 胎子の著しい低メチル化が示されている。しかし、体細胞クローンの成牛では、
8 対照牛と同程度のメチル化が示された。このことから、グローバルな DNA メ
9 チル化の欠失が胎子の発達障害に関係している可能性がある」と結論づけられて
10 いる（参照 158（114））。

11 移植後 40 日目の体細胞クローン胎子の胎盤では、胎盤葉の発達がなく、絨
12 毛膜で *Xist* 遺伝子座の刷り込み（インプリンティング）の異常、サテライト
13 DNA 配列及び表皮サイトケラチン（epidermal cytokeatin）遺伝子プロモー
14 ター領域の高メチル化が見いだされ、リプログラミングの違いが栄養外胚葉由
15 来組織の遺伝子発現パターンに影響を与えるものと報告された（参照 159
16（173））。

17 体細胞クローン牛と人工授精の流産胎子（妊娠 60～90 日）、成牛（生後 18
18 ～24 ヲ月）について、サテライト I 反復配列、IL-3 及びサイトケラチン遺伝子
19 のプロモーター領域のメチル化を解析した。その結果、成牛では、いずれの遺
20 伝子座においても、体細胞クローンと人工授精でメチル化レベルに相違がない
21 が、流産胎子では非常に低いメチル化を示す群と人工授精の流産胎子と類似の
22 メチル化パターンを呈する群が確認された。これらのことから、少なくともゲ
23 ノムのある領域での適切なメチル化が正常な発達と相関しているとされた（参
24 照 160（126））。

25 移植後 48 又は 59 日目の体細胞クローン牛と人工授精牛の胎子の胎盤組織
26（intercotyledonal fetal membranes, ICFM）及び脳について、比較した結果、
27 複数の特定の遺伝子領域で DNA メチル化の違いが見いだされている（参照 161
28（392））。

29 体細胞クローン牛の胎子の肝臓、脳、心臓、肺の組織について、インプリ
30 ト遺伝子 *Igf-2r* のメチル化を解析した結果でも、正常胎子との相違が見いださ
31 れ、胎子組織の異常との関係が示されている（参照 162（470））。

32 33 （出生後）

34 体細胞クローン牛の組織（心臓、肝臓、脾臓）で *Xist* 遺伝子のメチル化を調
35 べたところ、生後直後に死亡した体細胞クローン牛ではメチル化の程度が低い
36 ものがみられたとの報告がある（参照 8（870））。

37 マウスの新生子、成体（8～11 ヲ月）、加齢体（23～27 ヲ月）の腎臓細胞の
38 ゲノムのメチル化について 2,000 箇所調べた。その結果、マウスの体細胞クロ
39 ーン胚と体外受精胚では、2,000 ヲ所中わずか 3 ヲ所しかメチル化パターンの
40 差は認められなかった。このことから、体細胞クローンマウスのメチル化につ

1 いては、体外受精由来のマウスとほとんど同等と考えられる。また、体細胞ク
2 ローンマウスと有性生殖マウスの間で認められたメチル化の差異は、生後 11
3 ヶ月では 1 箇所のみで認められ、生後 23~27 ヶ月までには消失した。このこ
4 とから、DNA メチル化のエラーは、加齢に伴い消失する可能性があると考え
5 られた (参照 163 (674))。

6
7 健康な体細胞クローン豚 (15 又は 27 週齢) で、体重と血液学的パラメータ
8 に対象豚との有意な相違はないが、中には、変動が大きいパラメータもあるこ
9 と、また皮膚 DNA の非転写領域 (PRE-1 SINE 及び動原体サテライト配列)
10 のメチル化に局所的な相違が認められることが示されている (参照 111 (14))。

11 (2) 遺伝子の発現解析

12 (着床前・胚盤胞まで)

13 牛の体細胞クローンの桑実胚及び胚盤胞における X 染色体連鎖遺伝子
14 (*G6PD*、*Xist*) の発現量が体内受精胚と異なることが報告されている (参照
15 164 (863))。

16
17 マイクロアレイによる網羅的発現解析により、牛体細胞クローンの胚盤胞の
18 発現パターンは、ドナー細胞とは著しく異なり、受精により得られた胚盤胞の
19 発現パターンによく似ていることが示された。このことから、リプログラミング
20 がある程度なされているものと考えられた。従って、胚におけるそれ以降の
21 分化を妨げる小さなリプログラミングのエラーがあるものと推定されている
22 (参照 165 (708))。

23 体細胞クローン、受精卵クローン、体外受精及び体内受精により作製した牛
24 の胚盤胞において、IGF 受容体と IGF 結合タンパクの mRNA 発現を調べた結
25 果、体細胞クローン胚で IGF-2 受容体及び IGFBP-3 の発現低下が示された (参
26 照 166 (659))。一方、牛の体細胞クローン胚で、IGF-2 受容体遺伝子の発現
27 の有意差は認められないとする報告もある (参照 167 (864))。

28 体細胞クローン牛の 8 細胞期胚で 11 個の遺伝子 (*Oct-4* 遺伝子を含む) の発
29 現解析を行った。その結果、11 個の遺伝子の発現パターンは、体外受精と体細
30 胞クローン由来の胚の間に大きな相違は認められなかった。体外受精由来及び
31 体細胞クローン由来の胚での発現レベルは、体内受精由来胚と比べて、乳酸脱
32 水素酵素を除く全ての遺伝子で高かった (参照 168 (94))。

33 牛体細胞クローン胚では、ドナー細胞の相違と時期 (桑実胚、胚盤胞等) に
34 依存するヒストン脱アセチル化酵素、DNA メチル化酵素 (*Dnmt3*) 及び転写
35 因子 (*Oct-4*) 発現量の変化が認められている (参照 169 (51))

36
37 雌マウス体細胞クローンにおいては、正常胚と同様、卵割期 (8 細胞期まで)
38 に 2 つの染色体はともに活性化されており、桑実胚 (*morula*) 以降、ランダム
39 な X 染色体の不活性化が起きていることが示されている。しかし、栄養外胚葉
40 (*trophectoderm*) では、ドナー体細胞のアレル特異的な不活性化状態が維持

1 されことが示されている (参照 170 (191))。

2 体細胞クローンマウスの胚盤胞における *Oct-4* 遺伝子の発現レベルを
3 mRNA と *Oct-4-GFP* 発現により調べた結果、体外受精由来の胚盤胞と比較し
4 て、*Oct-4* 遺伝子の異常な発現が認められた。このことから、*Oct-4* 遺伝子の異
5 常発現が体細胞クローニングにおける不成功の原因となっている可能性が示唆
6 された (参照 171 (65))。

7 マウスの *Oct-4* 遺伝子と類似の発現パターンを呈する候補遺伝子 (10 個) を
8 同定し、着床前の体細胞クローン胚における発現を調べた。胚性幹細胞由来体
9 細胞クローンの全ての胚で、11 個の遺伝子全ての発現が認められたが、卵丘細
10 胞由来の体細胞クローン胚では、62%の胚が全ての遺伝子を発現するに留まっ
11 た (参照 172 (75))。

12 体細胞核移植及び体外受精によって作製したマウス胚において、*Hpr*、*Tsx*、
13 *Bex1*、*Bax*、*Cpt2*、*Oct4* 遺伝子の転写は、作製法によらず、ほぼ同時に開始
14 したが、分裂が進むにつれて遺伝子の発現レベルに相違が認められ、特に胚盤
15 胞では、発現レベル比に大きなクローン間での変動が認められた。このことか
16 ら、着床前の段階ではリプログラミングが完全でないものと考えられた (参照
17 173 (672))。

18
19 豚の体細胞クローン胚及び細胞質内精子注入 (ICSI) 胚の 2~4 細胞期及び
20 胚盤胞について、*FGFr2IIIc*、*FGFr72IIIb*、*Xist*、*IL6*、*IL6r*、*c-kit* リガンド
21 遺伝子の発現を比較した。体細胞クローン胚のドナー細胞は、2 種類の細胞系
22 列に由来し、活性化の手順も 2 種類の方法を用いた。その結果、遺伝子の発現
23 の程度は体細胞クローン胚と ICSI 胚で類似していたが、体細胞クローン胚盤
24 胞で、*FGFr72IIIb* の低下及び *IL6r* の上昇が認められた。2~4 細胞期で、
25 *FGFr72IIIb* と *Xist* では、活性化の手順により異なる発現を示した。また、体
26 細胞クローンの 2 種類のドナー細胞間では、2~4 細胞期では遺伝子発現の有意
27 差はみられなかった (参照 174 (523))。

28 (胎盤及び胎子)

29
30 マウス胚性幹細胞をドナーとしたクローンの胎盤では、重量の増加が著しく、
31 インプリント遺伝子 (*H19*、*Igf2*、*Peg1/Mcs1*、*Meg1/Grb10*) のクローン間の
32 発現量の変動も非常に大きい (参照 175 (325))。

33 体細胞クローンマウスの妊娠末期の胎盤について、組織学的変化及び胎盤特
34 異的な遺伝子及びインプリント遺伝子の発現が調べられた。その結果、体細胞
35 クローンマウスの胎盤は、対照よりサイズが大きく、組織レベルでは胎盤を構
36 成する全部の層、栄養膜巨大細胞層 (trophoblast giant cells)、海綿栄養芽層
37 (spongiotrophoblast)、迷路層 (labyrinth layer) で変化が認められ、特に海
38 綿栄養芽層の肥厚が著しかった。胎盤の遺伝子発現では、重大な変化はみられ
39 なかった。牛や羊では、体細胞クローン胎子は大きくなる傾向があるが、マウ
40 スの体細胞クローン胎子の平均体重はコントロールよりも低かった。このこと

1 から、体細胞クローニングによる胎盤の異常が胎子の成長にマイナスの影響を
2 与えたと考えられた (参照 155 (745))。

3 体細胞クローンマウス (胚性幹細胞又は卵丘細胞由来) の胎盤について、マ
4 イクロアレイ解析により 10,000 個を超える遺伝子の発現を評価した。その結
5 果、体細胞クローンマウスの胎盤で発現している遺伝子について、約 4%は対
6 照群と比較して発現レベルが異なっていた。卵丘細胞由来の体細胞クローンと
7 胚性幹細胞由来の体細胞クローンでは、286 個の遺伝子の発現量が同じように
8 変化した。このことから体細胞クローンマウスの胎盤における遺伝子の発現の
9 異常には、体細胞クローンマウスの胎盤に共通して生ずるものがあると考えら
10 れた。また、胎盤の大きさと遺伝子発現の異常とは関連がなかった (参照 176
11 (324))。

12 体細胞クローンマウスの妊娠末期の胎盤は、ドナー細胞の種類によらず、対
13 照のマウスの胎盤と比べて 2~3 倍大きかった。また、インプリント遺伝子を
14 含む複数の遺伝子の発現の異常な低下が認められた。このことから胎盤細胞の
15 遺伝子発現は、ゲノムインプリンティング機構とは独立に調節されていると結
16 論づけられた (参照 177 (333))。

17 マイクロアレイによる網羅的発現解析により、牛体細胞クローン胎子と正常
18 胎子の肝臓の発現パターンには、対象遺伝子の約 5%で相違がみられたが、個
19 体差が大きいとされている (参照 178 (290))。

20 (出生後)

21 X染色体上の 10 種の遺伝子の発現を体細胞クローン牛で調べたところ、生
22 後直後に死亡した体細胞クローン牛では、複数の器官で 9 種の遺伝子の発現異
23 常性が認められている (参照 8 (870))。

24 同じドナー細胞に由来する体細胞クローン牛の生後直死した新生子と健康
25 な成牛について、3 つの遺伝子 (*Igf2*、*Igf2r*、*H19*) の発現レベルを検討した
26 結果、生後直死した新生子の遺伝子発現には異常が認められ、クローン間の変
27 動が大きかった (参照 179 (878))。

28 生後直死した体細胞クローン牛と対照牛の 6 つの器官 (心臓、肝臓、腎臓、
29 脾臓、肺及び脳) について、発生学的に重要な 8 つの遺伝子 (*PCAF*、*Xist*、
30 *FGFR2*、*PDGFRa*、*FGF10*、*BMP4*、*Hsp70.1*、*VEGF*) の発現レベルを比較
31 した。死亡した体細胞クローン牛では、遺伝子に応じて、組織特異的な異常発
32 現性が認められた。そのような異常は、心臓に最も多く (遺伝子 8 個中 5 個)、
33 腎臓には最も少なかった (遺伝子 8 個中 2 個) (参照 180 (446))。

34 雌の体細胞クローンマウスで、X染色体不活性化に異常が見いだされることが
35 あったとされている (参照 181 (675))。

36 マイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析により、外見上正常なク
37 ローンマウス新生子の脳、肝臓、腎臓において、受精由来の産子には見られない
38 顕著な遺伝子発現の変化が認められ、複数の遺伝子の発現異常が連動しておき
39
40

1 る染色体領域があることが示された（参照 182）。
2

3 (3) エピジェネティックな変化に影響を及ぼす因子

4 エピジェネティックな状況は、培養条件の相違やドナー細胞の種類の影響を
5 受けることが報告されている。体細胞クローン技術によるクローン動物産出の
6 成功率を上げるため、多くの検討がなされているが、重要な点として、ドナー
7 細胞のタイプや性質（参照 169, 183 (51, 332)）、細胞周期（参照 167 (864)）、
8 培養条件（参照 167, 184 (864, 76)）、染色体安定性（参照 185, 186 (248, 492)）、
9 レシピエントである卵母細胞の採取時期（参照 187 (93)）や採取後の時間（参
10 照 188 (459)）、細胞周期（参照 189 (73)）、細胞融合時の活性化のタイミン
11 グ（参照 167 (864)）、クローン胚の培養条件（参照 167 (864)）等が挙げら
12 れている。

13 (4) 後代

14 哺乳類の胎子のエピジェネティックな変化の一部が、後代に伝達しうること
15 が報告されているが（参照 190, 191 (251, 252)）、体細胞クローンマウスで認
16 められた異常な表現型（胎盤過形成、胎子の過体重、出生子の眼瞼の開口 open
17 eyelids、加齢に伴う肥満等）はその子孫（F1）には伝達されない（参照 192, 193,
18 78 (740, 742)）。また、同一の体細胞クローン雄牛から生まれた後代牛（メス
19 11 頭、オス 19 頭）では、父牛の出生時や出生後に見られた異常が全ての後代
20 牛で認められなかった（参照 118 (563)）。これらのことから体細胞クローン
21 産出の際のエピジェネティックな変化は可逆的であり、配偶子形成のリプログ
22 ラミングにより、除去されうると考えられる（参照 193, 194 (740, 236)）。従
23 って、体細胞クローン動物の後代は、従来の繁殖技術による動物と同様な健全
24 性を有すると考えられている（参照 195）。
25
26

27 4. その他

28 (1) DNA 変異及び染色体異常

29 体細胞クローン技術は、除核した成熟卵に体細胞又は体細胞の核を移植し、
30 電氣的刺激により融合させるものであり、遺伝子を組換えたものではない。

31 一方、自然発生的に生じる DNA の突然変異が、体細胞クローン動物におい
32 ても核移植後に生じる可能性があるが、これは通常の繁殖技術においても生じ
33 る可能性がある。
34

35 マイクロサテライト多型マーカーを用いたドナー牛、ドナー培養細胞、体細
36 胞クローン牛の遺伝子型の調査によると、遺伝子型は全て一致しており（参照
37 196, 86, 197, 198, 199, 48 (J-6, J-7, J-8, J-9, J-10, J-24)）、体細胞クローン牛
38 から産出された再クローン牛についても完全に一致していた（参照 196 (J-6)）。

39 牛の体細胞クローンの着床前の胚盤胞では、核型異常（2 倍体以外のもの）
40 が高率に認められる（参照 200 (71)）。体細胞クローン牛の末梢リンパ球を用

1 いた検査でも、20頭のうち2頭に、2倍体以外の染色体数を示す細胞が約20%
2 認められた（対照では、5%前後）（参照201（278））。

3 一方、同一の体細胞クローン牛から得た30頭の後代牛の末梢リンパ球の核
4 型分布を調べたが、対照牛との相違は認められなかった（参照118（563））。

5
6 マウスの体細胞クローン胚（卵丘細胞由来）では、90%以上が正常な染色体
7 構成を呈したことが言及されている（参照202（875））。

8 マウスの体細胞クローン胚及び体外受精胚（細胞質内精子注入）の8細胞期
9 までの染色体分離を調べると、クローン胚の中に異常が見いだされるものがあ
10 ったが、胚盤胞ではクローン胚の方が染色体数の異常が少なかった。このこと
11 から、クローン胚における欠陥は主にエピジェネティックな原因に起因すると
12 推定された。しかし、稀に遺伝しうる染色体異常がクローンマウスで見いださ
13 れることもある（参照203（26））。

14 15 (2) ミトコンドリア DNA

16 体細胞クローン動物産出の成功率が低い原因として、不完全又は不適切なり
17 プログラミングに加え、移植後の体細胞由来ミトコンドリア DNA (mtDNA)
18 の伝達パターンの変化が挙げられている。精子はほとんどミトコンドリアを持
19 たないため、通常の受精卵のミトコンドリアは卵子由来の単一のタイプとなる
20 （ホモプラスミー）が、体細胞クローン胚では、ドナー細胞とレシピエント卵
21 子に由来する mtDNA が混在しうる（ヘテロプラスミー）。体細胞核移植に由
22 来する胚、胎子及び産子の異常の一部が、このミトコンドリアのヘテロプラス
23 ミーに起因する可能性も指摘されている（参照204, 205, 206(301, 718, 79)）。

24 核移植に関与する因子（胚の培養条件、ドナー細胞のタイプ、卵母細胞レシ
25 ピエントの質等）がヘテロプラスミーのレベルに影響を及ぼす可能性があるが、
26 体細胞クローン動物（牛、豚、羊）は、ほとんどホモプラスミー（ドナー核と
27 レシピエント細胞の mtDNA が同じ）であるか、軽度のヘテロプラスミー（ド
28 ナー由来の mtDNA が混在）である。また、ヘテロプラスミーの程度は組織に
29 依存する（参照207（300））。

30 体細胞クローン動物にヘテロプラスミーが認められた場合でも、体細胞クロ
31 ーン動物の健康や摂食リスクへの影響の程度を決めることは困難である。体細
32 胞クローン動物のヘテロプラスミーの程度によらず、表現型としては正常な場
33 合もある。現在のところ、核移植に起因するヘテロプラスミーが、個体発生に
34 有害であることを示す明確な証拠はない（参照208（706））。

35 36 (3) テロメア長

37 テロメアは、染色体の末端部に位置し、グアニン塩基に富む短い反復配列の
38 繰り返しよりなる5-20 kbにも及ぶDNAであり、染色体の安定性に貢献して
39 いる。テロメアは、末端に一本鎖DNA部分を有するため、DNA複製時に、細
40 胞分裂当たり50~200塩基ほど短くなる。そのため、テロメアは「分裂時計

1 (mitotic clock)」とも呼ばれる。また、DNA 複製や染色体の分離等に関与す
2 と云われている。

3
4 体細胞クローン羊（ドリー）では、同年齢の羊に比べて、テロメア長が有意
5 に短く、体細胞クローン羊（ドリー）のテロメアの長さは、ドナー核を提供し
6 た動物の年齢と核移植の前に細胞を培養した期間を合わせた年齢のテロメア長
7 となっていたと報告された（参照 209（679））。また、他の報告においても、
8 体細胞クローン羊は同年齢の羊と比べてテロメア長が短いと報告されている
9（参照 210（48））。

10 しかし、牛、豚、山羊の体細胞クローンのテロメア長は、老化した細胞をド
11 ナー細胞に使用した場合でも、同年齢の対照動物と比較して、同等又は長かつ
12 たとされる（参照 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216（48, 412, 767, 347, 50, 345,
13 662））。

14 また、同一の体細胞クローン牛（ドナーは線維芽細胞）から生まれた 30 頭
15 の後代のテロメア長は、同年代の牛と同じ長さであった（参照 118（563））。

16 体細胞クローン動物のテロメア長は、動物種、用いた体細胞の種類、培養条
17 件により大きな相違が認められるが、体細胞クローン動物の寿命との関係は明
18 らかにされてはいない（参照 209, 217, 218, 214（679, 397, 522, 50））。

19
20 一方、テロメラーゼは、生殖細胞や胚細胞、不死化した培養細胞等に存在し、
21 テロメアを伸長させ、複数回の細胞分裂を経たテロメアの長さを維持する能力
22 がある。テロメアを再建、伸長させる酵素であるテロメラーゼは、胚の形成期
23 に活性化している。テロメラーゼの活性は出生後ほとんどの体細胞で抑制され
24 ているが、生殖細胞、腫瘍細胞及び幹細胞においては活性が維持されている（参
25 照 219, 216, 220（869, 662, 49））。

26 牛胎子線維芽細胞のテロメラーゼ活性は、成体由来線維芽細胞よりもはるか
27 に高いが、ES 様細胞に比較すると著しく低い。牛胎子線維芽細胞のテロメラ
28 ーゼ活性は、継代や血清除去により低下した。核移植により得られた体細胞ク
29 ローン牛の胚ではテロメラーゼ活性が対照胚と同様に上昇する。得られた体細
30 胞クローン動物のテロメア長は同年齢の対照牛より長いほぼ同程度であった。
31（参照 210（48））。

32 牛とマウスでは、桑実胚から胚盤胞への時期に、テロメラーゼ依存性のテロ
33 メア伸長が認められている（参照 221（661））。

34
35 体細胞クローン羊の胎子から得た初代培養線維芽細胞は、ドナー細胞に用い
36 た胎子の初代培養線維芽細胞と同じ増殖能力、同じテロメアの短縮率を示した
37（参照 222（142））。この現象から、細胞分裂能の老化は遺伝的に決められた
38 もので、テロメア長に依存するものではないと推測されている（参照 128（320））。

5. 体細胞クローン動物のエピジェネティクス等のまとめ

同一の遺伝子構成をもつ細胞は、エピジェネティックな変化に基づき、必要とされる遺伝子の適切な発現調節を行い、種々の機能や性質を有する体細胞へと分化することができる。

1. ～4. で述べたように、体細胞クローン動物の産出に至る種々の過程に関するエピジェネティクス研究によって、通常の受精を介した動物の産出との間に、エピジェネティックな変化や遺伝子発現プロファイルの違いがあることが数多く報告されている。

通常、分化の進んだ体細胞は、既定外の細胞に分化しないように制御されている。体細胞を利用する体細胞クローン動物の産出においては、再構築された胚においてリプログラミングがうまく進むことが、その後の体細胞クローン胚の発生と胎児の正常な発育に重要であると考えられている。しかし、多くの場合、体細胞クローン動物においてはエピジェネティック制御が完全に卵型に行われない場合が多く（すなわち、体細胞側の正常なエピジェネティクス制御が強いため）、発生がうまくいかず、正常な出産に至らないことが多い。即ち、体細胞クローン動物産出の成功率が低いことの原因の一つとして、ドナー細胞の核のリプログラミングが、受精卵における精子由来の核のリプログラミングの場合のようにうまく進まないことが挙げられている。

しかし、健全に発育したクローン動物ではエピジェネティックな変化の違いは少ない。また、そのような体細胞クローン動物に、エピジェネティックな変化の違いが一部残っている場合があるが、その相違は個体間で異なり、殆どの表現型は正常である。この場合、エピジェネティックな変化の違いが残っているにせよ、遺伝子発現に影響を与えないゲノム領域であると考えられる。

このように、エピジェネティックな変化の制御が適正に行われないことが、体細胞クローン動物における発生と分化が適正に行われないことの主な原因と考えられる。

エピジェネティックな変化の制御の異常は体細胞クローン動物に限ったことではなく、自然交配や人工受精も含めて、全ての生殖過程で認められるものであるが、特に *in vitro* での操作が多い生殖補助技術における人工的な生殖では、その頻度も高い。

体細胞クローン動物はドナー動物とゲノム DNA の塩基配列が同一であり、体細胞クローン動物においても、DNA の突然変異の可能性が考えられるが、体細胞クローン動物の産出過程では、遺伝子組換え操作は行われていないことから、自然発生的に生じる DNA の突然変異は、通常の繁殖技術において生じるものと同様であると考えられる。いくつかの報告においても、DNA の突然変異及び染色体異常については、検出されていないか、受精を介した従来の繁殖の場合と差はなかったとされている。

体細胞クローン動物では、理論上、核と細胞質のミトコンドリア DNA が混在

1 する(ヘテロプラスミー)。現在のところ、核移植に起因するヘテロプラスミーが、
2 個体発生に有害であることを示す明確な証拠はない。

3 テロメア長については、多くの研究の結果、テロメアの長さは、個体により様々
4 であり、細胞によってはテロメアの長さが回復することが示されている。従って、
5 体細胞クローン技術の開発当初に懸念された「体細胞クローン動物のテロメア長
6 が特に短い」ということはないと考えられる。

7
8 体細胞クローン動物の後代では、両親(クローン動物)に残存しうるすべての
9 エピジェネティックな変化の違いは、受精を介した従来の繁殖の場合と同様に、
10 細胞の核が生殖細胞系列を経る時にリプログラミングされると考えられる。その
11 ため、体細胞クローン動物の後代におけるエピジェネティックな制御は、受精を
12 介した従来の繁殖技術によって得られた産子と同様であると考えられる。

1 <参照>

- 2 1 (社) 家畜改良事業団, ニュースレター 2008; 32
- 3 2 363 Kato Y, Tani T, Sotomaru Y, Kurokawa K, Kato J, Doguchi H, Yasue H,
4 Tsunoda Y. Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. *Science*
5 1998; 282: 2095-2098
- 6 3 Scientific Opinion of the Scientific Committee. Food Safety, Animal Health
7 and Welfare and Environmental Impact of Animals¹ derived from Cloning
8 by Somatic Cell Nucleus Transfer (SCNT) and their Offspring and Products
9 Obtained from those Animals, *The EFSA Journal* 2008; 767: 1-49
- 10 4 568 Panarace M, Agüero JI, Garrote M, Jauregui G, Segovia A, Cane L,
11 Gutierrez J, Marfil M, Rigali F, Pugliese M, Young S, Lagioia J, Garnil C,
12 Forte Pontes JE, Ereno Junio JC, Mower S, Medina M. How healthy are
13 clones and their progeny: 5 years of field experience. *Theriogenology* 2007;
14 67: 142-151
- 15 5 819 Walker SC, Shin T, Zaunbrecher GM, Romano JE, Johnson GA, Bazer
16 FW, Piedrahita JA. A highly efficient method for porcine cloning by nuclear
17 transfer using in vitro-matured oocytes. *Cloning Stem Cells* 2002; 4:
18 105-112
- 19 6 Codex Alimentarius, Guideline for the Conduct of Food Safety Assessment
20 of Foods Derived from Recombinant-DNA Animals, 2008; CAC/GL 68
- 21 7 (社) 日本家畜人工授精師協会, 家畜人工授精講習会テキスト (家畜人工授精
22 編) ,1980
- 23 8 870 Xue F, Tian XC, Du F, Kubota C, Taneja M, Dinnyes A, Dai Y, Levine H,
24 Pereira LV, Yang X. Aberrant patterns of X chromosome inactivation in
25 bovine clones. *Nat Genet* 2002; 31: 216-220
- 26 9 255 Gong G, Dai Y, Zhu H, Wang H, Wang L, Li R, Wan R, Liu Y, Li N.
27 Generation of cloned calves from different types of somatic cells. *Sci China*
28 *C Life Sci* 2004; 47: 470-476
- 29 10 302 Hiendleder S, Prelle K, Bruggerhoff K, Reichenbach HD, Wenigerkind
30 H, Bebbere D, Stojkovic M, Muller S, Brem G, Zakhartchenko V, Wolf E.
31 Nuclear-cytoplasmic interactions affect in utero developmental capacity,
32 phenotype, and cellular metabolism of bovine nuclear transfer fetuses. *Biol*
33 *Reprod* 2004; 70: 1196-1205
- 34 11 886 Yonai M, Kaneyama K, Miyashita N, Kobayashi S, Goto Y, Bettpu T,
35 Nagai T. Growth, reproduction, and lactation in somatic cell cloned cows
36 with short telomeres. *J Dairy Sci* 2005; 88: 4097-4110
- 37 12 326 Ideta A, Urakawa M, Aoyagi Y, Saeki K. Early morphological nuclear
38 events and developmental capacity of embryos reconstructed with fetal
39 fibroblasts at the M or G1 phase after intracytoplasmic nuclear injection in
40 cattle. *J Reprod Dev* 2005; 51: 187-194

1 13 831 Wells DN, Laible G, Tucker FC, Miller AL, Oliver JE, Xiang T, Forsyth
2 JT, Berg MC, Cockrem K, L'Huillier PJ, Tervit HR, Oback B. Coordination
3 between donor cell type and cell cycle stage improves nuclear cloning
4 efficiency in cattle. *Theriogenology* 2003; 59: 45-59

5 14 493 Mastromonaco GF, Semple E, Robert C, Rho GJ, Betts DH, King WA.
6 Different culture media requirements of IVF and nuclear transfer bovine
7 embryos. *Reprod Domest Anim* 2004; 39: 462-467

8 15 758 Thompson JG. Comparison between in vivo-derived and in
9 vitro-produced pre-elongation embryos from domestic ruminants. *Reprod*
10 *Fertil Dev* 1997; 9: 341-354

11 16 795 van Wagtenonk-de Leeuw AM, Mullaart E, de Roos AP, Merton JS, den
12 Daas JH, Kemp B, de Ruigh L. Effects of different reproduction techniques:
13 AI MOET or IVP, on health and welfare of bovine offspring. *Theriogenology*
14 2000; 53: 575-597

15 17 244 Gardner DK, Lane M. Ex vivo early embryo development and effects on
16 gene expression and imprinting. *Reprod Fertil Dev* 2005; 17: 361-370

17 18 216 Farin PW, Piedrahita JA, Farin CE. Errors in development of fetuses
18 and placentas from in vitro-produced bovine embryos. *Theriogenology* 2006;
19 65: 178-191

20 19 422 Le Bourhis D, Chesne P, Nibart M, Marchal J, Humblot P, Renard JP,
21 Heyman Y. Nuclear transfer from sexed parent embryos in cattle: efficiency
22 and birth of offspring. *J Reprod Fertil* 1998; 113: 343-348

23 20 432 Lee RS, Peterson AJ, Donnison MJ, Ravelich S, Ledgard AM, Li N,
24 Oliver JE, Miller AL, Tucker FC, Breier B, Wells DN. Cloned cattle fetuses
25 with the same nuclear genetics are more variable than contemporary
26 half-siblings resulting from artificial insemination and exhibit fetal and
27 placental growth deregulation even in the first trimester. *Biol Reprod* 2004;
28 70: 1-11

29 21 281 Hashizume K, Ishiwata H, Kizaki K, Yamada O, Takahashi T, Imai K,
30 Patel OV, Akagi S, Shimizu M, Takahashi S, Katsuma S, Shiojima S,
31 Hirasawa A, Tsujimoto G, Todoroki J, Izaike Y. Implantation and placental
32 development in somatic cell clone recipient cows. *Cloning Stem Cells* 2002;
33 4: 197-209

34 22 119 Chavatte-Palmer P, de SN, Laigre P, Camous S, Ponter AA, Beckers JF,
35 Heyman Y. Ultrasound fetal measurements and pregnancy associated
36 glycoprotein secretion in early pregnancy in cattle recipients carrying
37 somatic clones. *Theriogenology* 2006; 66: 829-840

38 23 214 Farin PW, Crosier AE, Farin CE. Influence of in vitro systems on
39 embryo survival and fetal development in cattle. *Theriogenology* 2001; 55:
40 151-170

- 1 24 121 Chavatte-Palmer P, Heyman Y, Richard C, Monget P, LeBourhis D,
2 Kann G, Chillard Y, Vignon X, Renard JP Clinical, hormonal, and
3 hematologic characteristics of bovine calves derived from nuclei from
4 somatic cells. *Biol Reprod* 2002; 66: 1596-1603
- 5 25 297 Heyman Y, Chavatte-Palmer P, LeBourhis D, Camous S, Vignon X,
6 Renard JP. Frequency and occurrence of late-gestation losses from cattle
7 cloned embryos. *Biol Reprod* 2002; 66: 6-13
- 8 26 31 Batchelder CA, Hoffert KA, Bertolini M, Moyer AL, Mason JB, Petkov
9 SG, Famula TR, Anderson GB. Effect of the nuclear-donor cell lineage, type,
10 and cell donor on development of somatic cell nuclear transfer embryos in
11 cattle. *Cloning Stem Cells* 2005; 7: 238-254
- 12 27 833 Wells DN, Misica PM, Tervit HR. Production of cloned calves following
13 nuclear transfer with cultured adult mural granulosa cells. *Biol Reprod*
14 1999; 60: 996-1005
- 15 28 284 Hasler JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauley AD, Mower
16 SA, Neely B, Shuey LS, Stokes JE, Trimmer SA. Production, Freezing and
17 Transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results.
18 *Theriogenology* 1995; 43: 141-152
- 19 29 63 Block J, Drost M, Monson RL, Rutledge JJ, Rivera RM, Paula-Lopes FF,
20 Ocon OM, Krininger CE, III, Liu J, Hansen PJ. Use of insulin-like growth
21 factor-I during embryo culture and treatment of recipients with
22 gonadotropin-releasing hormone to increase pregnancy rates following the
23 transfer of in vitro-produced embryos to heat-stressed, lactating cows.
24 *J Anim Sci* 2003; 81: 1590-1602
- 25 30 228 Forsyth JT, Wells DN. Health and neonatal care of bovine clones.
26 *Methods Mol Biol* 2006; 348: 91-108
- 27 31 151 Constant F, Guillomot M, Heyman Y, Vignon X, Laigre P, Servely JL,
28 Renard JP, Chavatte-Palmer P. Large offspring or large placenta syndrome?
29 Morphometric analysis of late gestation bovine placentomes from somatic
30 nuclear transfer pregnancies complicated by hydrallantois. *Biol Reprod*
31 2006; 75: 122-130
- 32 32 30 Batchelder CA, Bertolini M, Mason JB, Moyer AL, Hoffert KA, Petkov
33 SG, Famula TR, Angelos J, George LW, Anderson GB. Perinatal physiology
34 in cloned and normal calves: physical and clinical characteristics. *Cloning*
35 *Stem Cells* 2007; 9: 63-82
- 36 33 29 Batchelder CA, Bertolini M, Mason JB, Moyer AL, Hoffert KA, Petkov
37 SG, Famula TR, Angelos J, George LW, Anderson GB Perinatal physiology
38 in cloned and normal calves: hematologic and biochemical profiles. *Cloning*
39 *Stem Cells* 2007; 9: 83-96
- 40 34 (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所. 体細胞クローン牛・

- 1 後代牛の健全性ならびに生産物性状に関する国内調査報告書. 2008
- 2 35 J-2 比嘉 直志、山城 在、千葉 好夫 クローン牛生産技術の確立 体細胞クロー
3 ン牛の生産 沖縄県畜産試験場研究報告 2002 ; 40: 5-10
- 4 36 J-13 谷山 敦、中里 敏、廣川 順太、小笠原 俊介、松尾 信明 体細胞クロー
5 ン子牛の生時体重および血液性状 長崎県畜産試験場研究報告 2006 ; 12: 4-5
- 6 37 J-5 森 浩一郎、窪田 力、児島 浩貴、寺脇 志朗、轟木 淳一、太田 均、佐藤 真
7 澄、上宮田 正己、山下 光則. 体細胞クローン牛の作出状況 鹿児島県畜産試験
8 場研究報 2002; 35: 52-57
- 9 38 J-15 長野 京子、森 浩一郎、窪田 力、岡本 光司、寺脇 志朗、児島 浩貴、
10 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
11 島県畜産試験場研究報告 2002; 35: 83-88
- 12 39 J-16 長谷川 清寿、佐々木 恵美、安部 亜津子、村尾 克之、高仁 敏光. ホル
13 スタイン雌牛由来卵丘細胞から作出したクローン個体とその後代産子に関す
14 る生理学的小および病理組織学的観察 島根県畜産試験場研究報告 2005; 38: 1-8
- 15 40 J-25 長谷川 清寿、佐々木 恵美、安部 亜津子、高仁 敏光. 黒毛和種種雄牛候
16 補に一次選抜された子牛からの体細胞クローン牛生産手法の検討 島根県畜産
17 試験場研究報告 2004; 37: 1-5
- 18 41 396 Kubota C, Yamakuchi H, Todoroki J, Mizoshita K, Tabara N, Barber M,
19 Yang X. Six cloned calves produced from adult fibroblast cells after
20 long-term culture. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97: 990-995
- 21 42 393 Kruip T, den Daas JHG. In vitro produced and cloned embryos: Effects
22 on pregnancy, parturition and offspring. Theriogenology 1997; 47: 43-52
- 23 43 36 Behboodi E, Anderson GB, BonDurant RH, Cargill SL, Kreuzer BR,
24 Medrano JF, Murray JD. Birth of large calves that developed from in-vitro
25 derived bovine embryos. Theriogenology 1995; 44: 227-232
- 26 44 538 Nix JM, Spitzer JC, Grimes LW, Burns GL, Plyler BB. A retrospective
27 analysis of factors contributing to calf mortality and dystocia in beef cattle.
28 Theriogenology 1998; 49: 1515-1523
- 29 45 USDA/NAHMS 1997 (<http://nahms.aphis.usda.gov/>)
- 30 46 468 Lombard JE, Garry FB, Tomlinson SM, Garber LP. Impacts of dystocia
31 on health and survival of dairy calves. J Dairy Sci 2007; 90: 1751-1760
- 32 47 651 Sanderson MW, Dargatz DA. Risk factors for high herd level calf
33 morbidity risk from birth to weaning in beef herds in the USA. Prev Vet
34 Med 2000; 44: 97-106
- 35 48 J-24 上田 淳一、小林 章二、武井 真理、加藤 泰之. 経膈採取した卵丘細胞を
36 用いたウシ体細胞クローン産子生産 愛知県農業総合試験場研究報告 2000;
37 32: 197-202
- 38 49 J-36 神藤 学、大町 雅則、菊島 一人、高橋 照美、清水 景子、小尾 一夫、
39 小柴 哲也、高木 優二. 受精卵および体細胞由来クローン牛の生産と発育・繁
40 殖状況 山梨県酪農試験場研究報告 2005; 16: 1-8

- 1 50 364 Kato Y, Tani T, Tsunoda Y. Cloning of calves from various somatic cell
2 types of male and female adult, newborn and fetal cows. *J Reprod Fertil*
3 2000; 120: 231-237
- 4 51 239 Galli, C., Duchi, R., Moor, R. M. and Lazzari, G.. Mammalian leukocytes
5 contain all the genetic information necessary for the development of a new
6 individual. *Cloning* 1999; 1 (3): 161-70
- 7 52 889 Young LE, Fairburn HR. Improving the safety of embryo technologies:
8 possible role of genomic imprinting. *Theriogenology* 2000; 53: 627-648
- 9 53 41 Bertolini M, Anderson GB. The placenta as a contributor to production of
10 large calves. *Theriogenology* 2002; 57: 181-187
- 11 54 42 Bertolini M, Mason JB, Beam SW, Carneiro GF, Sween ML, Kominek DJ,
12 Moyer AL, Famula TR, Sainz RD, Anderson GB. Morphology and
13 morphometry of in vivo- and in vitro-produced bovine concepti from early
14 pregnancy to term and association with high birth weights. *Theriogenology*
15 2002; 58: 973-994
- 16 55 494 Matsuzaki M, Shiga K. Endocrine characteristics of cloned calves.
17 *Cloning Stem Cells* 2002; 4: 261-267
- 18 56 J-23 (社) 家畜改良事業団、(株) ミック. クローン牛生産技術の効率化・安
19 定化のための技術開発に関する研究 受精卵及び体細胞を用いたクローン牛生
20 産のための核移植に関する研究—その1— 農林水産業・食品産業等先端産業技
21 術開発事業 (体細胞等を利用したクローン家畜生産技術の開発) 平成 13 年度
22 研究開発報告書 2002; 83-93
- 23 57 122 Chavatte-Palmer P, Remy D, Cordonnier N, Richard C, Issenman H,
24 Laigre P, Heyman Y, Mialot JP. Health status of cloned cattle at different
25 ages. *Cloning Stem Cells* 2004; 6: 94-100
- 26 58 J-11 窪田 力、岡本 光司、轟木 淳一、溝下 和則、山口 浩、田原 則雄. 体細
27 胞クローン雄牛の血液成分 (生後 1 ヶ月令までの生化学成分) 鹿児島県肉用
28 牛改良研究所研究報告 2001; 6: 32-41
- 29 59 J-32 山口 大輔、戸塚 豊、渡辺 晃行、足立 憲隆、赤木 悟史、高橋 清也、
30 久保 正法. クローン家畜生産技術利用による優良家畜作出試験 茨城県畜産セ
31 ンター研究報告 2005; 38: 5-12
- 32 60 Center for Veterinary Medicine U. S. Food and Drug Administration
33 Department of Health and Human Services 7500 Standish Place Rockville,
34 MD 20855, Animal Cloning: A Risk Assessment, Appendix E, The Cyagra
35 Dataset, 2008
- 36 61 830 Wells DN, Forsyth JT, McMillan V, Oback B. The health of somatic cell
37 cloned cattle and their offspring. *Cloning Stem Cells* 2004; 6: 101-110
- 38 62 312 Hill JR, Winger QA, Long CR, Looney CR, Thompson JA, Westhusin
39 ME. Development rates of male bovine nuclear transfer embryos derived
40 from adult and fetal cells. *Biol Reprod* 2000; 62: 1135-1140

- 1 63 USDA/NAHMS 1994 (<http://nahms.aphis.usda.gov/>)
- 2 64 295 Heyman Y, Chavatte-Palmer P, Berthelot V, Fromentin G, Hocquette JF,
3 Martignat L, Renard JP. Assessing the quality of products from cloned
4 cattle: an integrative approach. *Theriogenology* 2007; 67: 134-141
- 5 65 622 Renard JP, Chastant S, Chesne P, Richard C, Marchal J, Cordonnier N,
6 Chavatte P, Vignon X. Lymphoid hypoplasia and somatic cloning. *Lancet*
7 1999; 353: 1489-1491
- 8 66 407 Laible G, Brophy B, Knighton D, Wells DN. Compositional analysis of
9 dairy products derived from clones and cloned transgenic cattle.
10 *Theriogenology* 2007; 67: 166-177
- 11 67 818 Walker SC, Christenson RK, Ruiz RP, Reeves DE, Pratt SL, Arenivas F,
12 Williams NE, Bruner BL, Polejaeva IA. Comparison of meat composition
13 from offspring of cloned and conventionally produced boars. *Theriogenology*
14 2007; 67: 178-184
- 15 68 871 Yamaguchi M, Ito Y, Takahashi S. Fourteen-week feeding test of meat
16 and milk derived from cloned cattle in the rat. *Theriogenology* 2007; 67:
17 152-165
- 18 69 296 Heyman, Y., Chavatte-Palmer, P., Fromentin, G., Berthelot, V., Jurie, C.,
19 Bas, P., Dubarry, M., Mialot, J. P., Remy, D., Richard, C., Martignat, L.,
20 Vignon, X. and Renard, J. P. Quality and safety of bovine clones and their
21 products. *Animal* 2007; (1): 963-972
- 22 70 Watanabe, S. and Nagai, T. Health status and productive performance of
23 somatic cell cloned cattle and their offspring produced in Japan. *The*
24 *Journal of reproduction and development* 54 (2): 2008 (1):6-17
- 25 71 J-27 谷山 敦、中里 敏、廣川 順太、小笠原 俊介、松尾 信明. 体細胞クロー
26 ン雄牛の発育性および精液性状 長崎県畜産試験場研究報告 2006; 12: 6-7
- 27 72 J-33 中里 敏、井上 哲郎、谷山 敦、清松 邦章. ウシ体細胞クローン胚の体外
28 発生と移植成績 長崎県畜産試験場研究報告 2001; 10: 4-6
- 29 73 J-35 井上 一之、斉藤 武志、安部 好文、吉田 周司、高木 喜代文、渋谷 清
30 忠、平井 康夫. 体細胞クローン牛生産技術の確立に関する研究 乳用牛におけ
31 る体細胞クローン利用技術の確立 平成 13 年度大分県畜産試験場試験成績報告
32 書 2002; 31: 69-71
- 33 74 J-22 長谷川 清寿、佐々木 恵美、安部 亜津子、中村 亮一、高仁 敏光. 黒毛
34 和種種雄牛候補に一次選抜された子牛からの体細胞クローン牛生産手法の検
35 討 (第 2 報) 島根県立畜産技術センター研究報告 2006; 39: 1-6
- 36 75 J-49 小岩井農牧(株). クローン家畜の発育性・繁殖性の検証事業 クローン牛の
37 泌乳試験及び繁殖試験 先端技術を活用した畜産技術研究開発推進事業 (体細
38 胞クローン技術安定化・体系化事業) 平成 16 年度研究開発報告書 2005; :
39 105-118
- 40 76 298 Heyman Y, Richard C, Rodriguez-Martinez H, Lazzari G,

- 1 Chavatte-Palmer P, Vignon X, Galli C. Zootechnical performance of cloned
2 cattle and offspring: preliminary results. *Cloning Stem Cells* 2004; 6:
3 111-120
- 4 77 551 Ogonuki N, Inoue K, Yamamoto Y, Noguchi Y, Tanemura K, Suzuki O,
5 Nakayama H, Doi K, Ohtomo Y, Satoh M, Nishida A, Ogura A. Early death
6 of mice cloned from somatic cells. *Nat Genet* 2002; 30: 253-254
- 7 78 742 Tamashiro KL, Wakayama T, Yamazaki Y, Akutsu H, Woods SC, Kondo
8 S, Yanagimachi R, Sakai RR. Phenotype of cloned mice: development,
9 behavior, and physiology. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228: 1193-1200
- 10 79 744 Tanaka S, Miyazawa K, Watanabe K, Ohwada S, Aso H, Yonai M, Saito
11 N, Yamaguchi T. Comparison of T cell subsets between somatic cloned and
12 normal cow. *Am J Reprod Immunol* 2006; 55: 28-35
- 13 80 829 Wells DN. Animal cloning: problems and prospects. *Rev Sci Tech* 2005;
14 24: 251-264
- 15 81 J-38 窪田 力、野崎 聡、西 浩二、新福 由香、川久保 耕三、轟木 淳一、溝
16 下 和則、山口 浩、田原 則雄. 体細胞クローン雄牛の繁殖性 鹿児島県肉用牛
17 改良研究所研究報告 2001; 6: 42-45
- 18 82 J-44 谷口 雅律、住尾 善彦. 牛の体細胞クローン技術の確立 平成 16 年度試験
19 成績書 (熊本県農業研究センター畜産研究所) 2005; : 84-89
- 20 83 J-37 本多 巖、坂本 秀樹、丹治 敏夫、原 恵、石川 雄治、志賀 美子、管野 美
21 樹夫. 体細胞クローン雄牛の繁殖性調査 福島県畜産試験場研究報告 2003; 10:
22 17-19
- 23 84 J-39 早坂 駿哉、高田 直和. 牛体外受精に関する研究 体細胞クローン牛生産
24 技術の確立 平成 14 年度宮城県畜産試験場成績書 2002; : 56-58
- 25 85 J-40 佐藤 亘、梅木 英伸、志賀 一穂、山口 弘之. 体細胞クローン牛生産技術
26 の確立に関する研究 体細胞クローン牛の性能調査 平成 11 年度大分県畜産試
27 験場試験成績報告書 2000; 29: 108-109
- 28 86 J-7 志賀 一穂、梅木 英伸、志村 英明、藤田 達男、赤峰 正雄. 体細胞クロー
29 ン牛生産技術の確立に関する研究 体細胞クローン牛の遺伝的相同性調査 (第
30 2 報) 平成 12 年度大分県畜産試験場試験成績報告 2001; 30: 55-61
- 31 87 J-29 佐藤 亘、吉田 秀幸、梅木 英伸、志賀 一穂. 体細胞クローン牛生産技術
32 の確立に関する研究 体細胞クローン牛の性能調査 平成 12 年度大分県畜産試
33 験場試験成績報告書 2001; 30: 62-64
- 34 88 682 Shiga K, Umeki H, Shimura H, Fujita T, Watanabe S, Nagai T. Growth
35 and fertility of bulls cloned from the somatic cells of an aged and infertile
36 bull. *Theriogenology* 64 2005; : 334-343
- 37 89 J-31 轟田 洋一、野崎 聡、窪田 力、上村 利久、西 浩二、新福 由香、内山 正
38 二、横山 喜世志. クローン検定の実証試験 (第 7 報 体細胞クローン牛の発
39 育および精液性状) 鹿児島県肉用牛改良研究所研究報告 2003; 8: 1-5
- 40 90 202 Enright BP, Taneja M, Schreiber D, Riesen J, Tian XC, Fortune JE,

- 1 Yang X. Reproductive characteristics of cloned heifers derived from adult
2 somatic cells. *Biol Reprod* 2002; 66: 291-296
- 3 91 J-46 森 浩一郎、長野 京子、窪田 力、岡本 光司、寺脇 志朗、児島 浩貴、
4 上宮田 正己、上原 修一、高橋 清也、徳永 智之. 体細胞クローン牛の初産分
5 娩時までの繁殖状況 鹿児島県畜産試験場研究報告 2002; 36: 34-40
- 6 92 J-18 山口 大輔、根本 聡美、渡辺 晃行、蕨澤 圭二郎、足立 憲隆、赤木 悟
7 史、高橋 清也、久保 正法. クローン家畜生産技術利用による優良家畜作出試
8 験 (第4報) - 体細胞クローン牛の繁殖能力およびその後代産子に関する調査
9 - 茨城県畜産センター研究報告 2004; 37: 79-83
- 10 93 J-45 笠井 裕明、福見 善之、渡辺 裕恭、立川 進. ホルスタイン種体細胞クロー
11 ン育成雌牛の過排卵処理成績及び後代牛の生産 徳島県立農林水産総合技術
12 センター畜産研究所報告 2003; 3: 14-19
- 13 94 J-51 全国農業協同組合連合会. クローン家畜の発育性・繁殖性の検証事業 ク
14 ローン牛産子等の繁殖性等試験 先端技術を活用した畜産技術研究開発事業
15 (体細胞クローン技術安定化・体系化事業)平成17年度研究開発報告書 2006; :
16 163-173
- 17 95 227 Forsberg EJ, Strelchenko NS, Augenstein ML, Betthausen JM, Childs
18 LA, Eilertsen KJ, Enos JM, Forsythe TM, Golueke PJ, Koppang RW, Lange
19 G, Lesmeister TL, Mallon KS, Mell GD, Misica PM, Pace MM,
20 Pfister-Genskow M, Voelker GR, Watt SR, Bishop MD. Production of cloned
21 cattle from in vitro systems. *Biol Reprod* 2002; 67: 327-333
- 22 96 754 Tecirlioglu, R. T. and Trounson, A. O.. Embryonic stem cells in
23 companion animals (horses, dogs and cats): present status and future
24 prospects. *Reprod Fertil Dev* 2007; 19 (6): 740-7
- 25 97 J-48 小岩井農牧(株). クローン家畜の発育性・繁殖性の検証事業 クローン牛の
26 泌乳試験及び繁殖試験 先端技術を活用した畜産技術研究開発推進事業 (体細
27 胞クローン技術安定化・体系化事業)平成15年度研究開発報告書 2004;
28 111-118
- 29 98 594 Polge C, Rowson LE, CHANG MC. The effect of reducing the number of
30 embryos during early stages of gestation on the maintenance of pregnancy
31 in the pig. *J Reprod Fertil* 1966; 12: 395-397
- 32 99 46 Betthausen J, Forsberg E, Augenstein M, Childs L, Eilertsen K, Enos J,
33 Forsythe T, Golueke P, Jurgella G, Koppang R, Lesmeister T, Mallon K, Mell
34 G, Misica P, Pace M, Pfister-Genskow M, Strelchenko N, Voelker G, Watt S,
35 Thompson S, Bishop M. Production of cloned pigs from in vitro systems. *Nat*
36 *Biotechnol* 2000; 18: 1055-1059
- 37 100 558 Onishi A, Iwamoto M, Akita T, Mikawa S, Takeda K, Awata T, Hanada
38 H, Perry AC. Pig cloning by microinjection of fetal fibroblast nuclei. *Science*
39 2000; 289: 1188-1190
- 40 101 590 Polejaeva IA, Chen SH, Vaught TD, Page RL, Mullins J, Ball S, Dai Y,

- 1 Boone J, Walker S, Ayares DL, Colman A, Campbell KH. Cloned pigs
2 produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nature* 2000; 407:
3 86-90
- 4 102 188 Dziuk P. Effect of migration, distribution and spacing of pig embryos on
5 pregnancy and fetal survival. *J Reprod Fertil Suppl* 1985; 33: 57-63
- 6 103 788 van der LT, van Rens BT. Critical periods for foetal mortality in gilts
7 identified by analysing the length distribution of mummified foetuses and
8 frequency of non-fresh stillborn piglets. *Anim Reprod Sci* 2003; 75: 141-150
- 9 104 102 Carroll JA, Carter DB, Korte SW, Prather RS. Evaluation of the acute
10 phase response in cloned pigs following a lipopolysaccharide challenge.
11 *Domest Anim Endocrinol* 2005; 29: 564-572
- 12 105 573 Park MR, Cho SK, Lee SY, Choi YJ, Park JY, Kwon DN, Son WJ, Paik
13 SS, Kim T, Han YM, Kim JH. A rare and often unrecognized
14 cerebro meningitis and hemodynamic disorder: a major cause of sudden
15 death in somatic cell cloned piglets. *Proteomics* 2005; 5: 1928-1939
- 16 106 849 Williams NE, Walker SC, Reeves DE, Sherrer E, Galvin JM, Polejaeva I,
17 Rampacek G, Benyshek L, Christenson RK, Graves WM, Pratt SL. A
18 comparison of reproductive characteristics of boars generated by somatic
19 cell nuclear transfer to highly related conventionally produced boars.
20 *Cloning Stem Cells* 2006; 8: 130-139
- 21 107 181 Du, Y., Kragh, P. M., Zhang, Y., Li, J., Schmidt, M., Bogh, I. B., Zhang,
22 X., Purup, S., Jorgensen, A. L., Pedersen, A. M., Villemoes, K., Yang, H.,
23 Bolund, L. and Vajta, G.. Piglets born from handmade cloning, an
24 innovative cloning method without micromanipulation. *Theriogenology*
25 2007; 68 (8): 1104-1110
- 26 108 J-61 柴田 昌利、土屋 聖子、大竹 正剛、河原崎 達男. 体細胞クローン金華豚
27 の発育と繁殖能力 静岡県中小家畜試験場研究報告 2003; 14: 13-16
- 28 109 205 Estrada J, Sommer J, Collins B, Mir B, Martin A, York A, Petters RM,
29 Piedrahita JA. Swine generated by somatic cell nuclear transfer have
30 increased incidence of intrauterine growth restriction (IUGR). *Cloning Stem*
31 *Cells* 2007; 9: 229-236
- 32 110 435 Lee SY, Park JY, Choi YJ, Cho SK, Ahn JD, Kwon DN, Hwang KC,
33 Kang SJ, Paik SS, Seo HG, Lee HT, Kim JH. Comparative proteomic
34 analysis associated with term placental insufficiency in cloned pig.
35 *Proteomics* 2007; 7(8): 1303-1315
- 36 111 14 Archer GS, Dindot S, Friend TH, Walker S, Zaunbrecher G, Lawhorn B,
37 Piedrahita JA. Hierarchical phenotypic and epigenetic variation in cloned
38 swine. *Biol Reprod* 2003; 069: 430-436
- 39 112 517 Mir B, Zaunbrecher G, Archer GS, Friend TH, Piedrahita JA. Progeny
40 of somatic cell nuclear transfer (SCNT) pig clones are phenotypically

- 1 similar to non-cloned pigs. *Cloning Stem Cells* 2005; 7: 119-125
- 2 113 15 Archer GS, Friend TH, Piedrahita J, Nevill CH, Walker S. Behavioral
3 variation among cloned pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 2003; 82:
4 151-161
- 5 114 16 Archer, G. S., Friend, T. H., Piedrahita, J., Nevill, C. H. and Walker, S..
6 Behavioral variation among cloned pigs. *Applied Animal Behaviour Science*
7 2003; 081 (4): 321
- 8 115 489 Martin M, Adams C, Wiseman B. Pre-weaning performance and health
9 of pigs born to cloned (fetal cell derived) swine versus non-cloned swine.
10 *Theriogenology* 2004; 62: 113-122
- 11 116 J-17 長野 京子、森 浩一郎、窪田 力、今村 正昭、寺脇 志朗、上原 修一. 体
12 細胞クローン牛 (ホルスタイン種) 後代産子の発育性 鹿児島県畜産試験場研
13 究報告 2005; 39: 53-58
- 14 117 J-42 (株)ミック. クローン家畜の発育性・繁殖性の検証事業 クローン牛の発育
15 及び繁殖試験 先端技術を活用した畜産技術研究開発推進事業 (体細胞クロー
16 ン技術安定化・体系化事業) 平成 16 年度研究開発報告書 2005; 119-125
- 17 118 563 Ortegon H, Betts DH, Lin L, Coppola G, Perrault SD, Blondin P, King
18 WA. Genomic stability and physiological assessments of live offspring sired
19 by a bull clone, Starbuck II. *Theriogenology* 2007; 67: 116-126
- 20 119 J-56 坂下 邦仁、窪田 力、西 博巳、田原 則雄、別府 成、岡野 良一. 体細胞
21 クローン牛後代産子の肥育成績 鹿児島県畜産試験場研究報告 2003; 37: 34-40
- 22 120 678 Shibata M, Otake M, Tsuchiya S, Chikyu M, Horiuchi A, Kawarasaki T.
23 Reproductive and growth performance in Jin Hua pigs cloned from somatic
24 cell nuclei and the meat quality of their offspring. *J Reprod Dev* 2006; 52:
25 583-590
- 26 121 Center for Veterinary Medicine U. S. Food and Drug Administration
27 Department of Health and Human Services 7500 Standish Place Rockville,
28 MD 20855, Animal Cloning: A Risk Assessment, Appendix F The ViaGen
29 Dataset, 2008
- 30 122 J-60 柴田 昌利、大竹 正剛、土屋 聖子、河原崎 達男. 体細胞クローン金華豚
31 後代産子の食品としての安全性 静岡県中小家畜試験場研究報告 2007; 17:
32 13-23
- 33 123 J-62 柴田 昌利、土屋 聖子、大竹 正剛、河原崎 達男. 体細胞クローン金華豚
34 産子の産肉性と肉質 I クローン産子の発育と枝肉成績 静岡県中小家畜試験
35 場研究報告 2004; 15: 35-38
- 36 124 Riggs A.D, Martienssen R.A, and Russo, V.E.A. In introduction, Riggs, A. D.
37 Martienssen, R. A. Russo V. E. A. (eds), *Epigenetic mechanisms of gene*
38 *regulation*, Cold Spring Harbor Laboratory Press Cold Spring Harbor, NY,
39 1996; 1-4
- 40 125 57 Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev*

1 2002; 16: 6-21

2 126 686 Shiota, K. and Yanagimachi, R.. Epigenetics by DNA methylation for
3 development of normal and cloned animals. *Differentiation* 2002; 69 (4-5):
4 162-166

5 127 336 Jaenisch R. Human cloning - the science and ethics of nuclear
6 transplantation. *N Engl J Med* 2004; 351: 2787-2791

7 128 320 Holliday R. DNA methylation and epigenotypes. *Biochemistry (Mosc)*
8 2005; 70: 500-504

9 129 660 Scarano MI, Strazzullo M, Matarazzo MR, D'Esposito M. DNA
10 methylation 40 years later: Its role in human health and disease. *J Cell*
11 *Physiol* 2005; 204: 21-35

12 130 360 Kanka J. Gene expression and chromatin structure in the
13 pre-implantation embryo. *Theriogenology* 2003; 59: 3-19

14 131 608 Quivy V, Calomme C, Dekoninck A, Demonte D, Bex F, Lamsoul I,
15 Vanhulle C, Burny A, Van Lint C. Gene activation and gene silencing: a
16 subtle equilibrium. *Cloning Stem Cells* 2004; 6: 140-149

17 132 130 Cheung P, Lau P. Epigenetic regulation by histone methylation and
18 histone variants. *Mol Endocrinol* 2005; 19: 563-573

19 133 233 Fuks F. DNA methylation and histone modifications: teaming up to
20 silence genes. *Curr Opin Genet Dev* 2005; 15: 490-495

21 134 805 Verschure PJ, van dK, I, de Leeuw W, van d, V, Carpenter AE, Belmont
22 AS, van Driel R. In vivo HP1 targeting causes large-scale chromatin
23 condensation and enhanced histone lysine methylation. *Mol Cell Biol* 2005;
24 25: 4552-4564

25 135 Hattori N, Nishino K, Ko YG, Hattori N, Ohgane J, Tanaka S, Shiota K.
26 Epigenetic control of mouse Oct-4 gene expression in embryonic stem cells
27 and trophoblast stem cells. *J Biol Chem.* 2004; 279 (17): 17063-17069

28 136 528 Morgan HD, Santos F, Green K, Dean W, Reik W. Epigenetic
29 reprogramming in mammals. *Hum Mol Genet* 2005; 14 Spec No 1: R47-R58

30 137 630 Rideout WM, III, Eggan K, Jaenisch R. Nuclear cloning and epigenetic
31 reprogramming of the genome. *Science* 2001; 293: 1093-1098

32 138 339 Jaenisch R, Eggan K, Humpherys D, Rideout W, Hochedlinger K.
33 Nuclear cloning, stem cells, and genomic reprogramming. *Cloning Stem*
34 *Cells* 2002; 4: 389-396

35 139 486 Mann MR, Bartolomei MS. Epigenetic reprogramming in the
36 mammalian embryo: struggle of the clones. *Genome Biol* 2002; 3:
37 REVIEWS1003

38 140 113 Cezar GG. Epigenetic reprogramming of cloned animals. *Cloning Stem*
39 *Cells* 2003; 5: 165-180

40 141 276 Han YM, Kang YK, Koo DB, Lee KK. Nuclear reprogramming of cloned

1 embryos produced in vitro. *Theriogenology* 2003; 59: 33-44
 2 142 354 Jouneau A, Renard JP. Reprogramming in nuclear transfer. *Curr Opin*
 3 *Genet Dev* 2003; 13: 486-491
 4 143 705 Smith LC, Murphy BD. Genetic and epigenetic aspects of cloning and
 5 potential effects on offspring of cloned mammals. *Cloning Stem Cells* 2004;
 6 6: 126-132
 7 144 888 Young LE, Beaujean N. DNA methylation in the preimplantation
 8 embryo: the differing stories of the mouse and sheep. *Anim Reprod Sci* 2004;
 9 82-83: 61-78
 10 145 861 Wrenzycki C, Herrmann D, Lucas-Hahn A, Korsawe K, Lemme E,
 11 Niemann H. Messenger RNA expression patterns in bovine embryos derived
 12 from in vitro procedures and their implications for development. *Reprod*
 13 *Fertil Dev* 2005; 17: 23-35
 14 146 17 Armstrong L, Lako M, Dean W, Stojkovic M. Epigenetic modification is
 15 central to genome reprogramming in somatic cell nuclear transfer. *Stem*
 16 *Cells* 2006; 24: 805-814
 17 147 194 Eilertsen KJ, Power RA, Harkins LL, Misica P. Targeting cellular
 18 memory to reprogram the epigenome, restore potential, and improve
 19 somatic cell nuclear transfer. *Anim Reprod Sci* 2007; 98: 129-146
 20 148 De Rycke M, Liebaers I, Van Steirteghem A. Epigenetic risks related to
 21 assisted reproductive technologies: risk analysis and epigenetic inheritance.
 22 *Hum Reprod.* 2002 17 (10): 2 487-494
 23 149 Niemann H, Wrenzycki C, Lucas-Hahn A, Brambrink T, Kues WA,
 24 Carnwath JW. Gene expression patterns in bovine in vitro-produced and
 25 nuclear transfer-derived embryos and their implications for early
 26 development. *Cloning Stem Cells.* 2002; 4 (1): 29-38
 27 150 Powell K. Fertility treatments: Seeds of doubt. *Nature.* 2003; 422 (6933):
 28 656-658
 29 151 171 Dean W, Santos F, Stojkovic M, Zakhartchenko V, Walter J, Wolf E, Reik
 30 W. Conservation of methylation reprogramming in mammalian
 31 development: aberrant reprogramming in cloned embryos. *Proc Natl Acad*
 32 *Sci U S A* 2001; 98: 13734-13738
 33 152 77 Bourc'his D, Le Bourhis D, Patin D, Niveleau A, Comizzoli P, Renard JP,
 34 Viegas-Pequignot E. Delayed and incomplete reprogramming of
 35 chromosome methylation patterns in bovine cloned embryos. *Curr Biol*
 36 2001; 11: 1542-1546
 37 153 355 Kang YK, Koo DB, Park JS, Choi YH, Chung AS, Lee KK, Han YM.
 38 Aberrant methylation of donor genome in cloned bovine embryos. *Nat Genet*
 39 2001; 28: 173-177
 40 154 356 Kang YK, Koo DB, Park JS, Choi YH, Kim HN, Chang WK, Lee KK,

1 Han YM. Typical demethylation events in cloned pig embryos. Clues on
2 species-specific differences in epigenetic reprogramming of a cloned donor
3 genome. *J Biol Chem* 2001; 276: 39980-39984

4 155 745 Tanaka S, Oda M, Toyoshima Y, Wakayama T, Tanaka M, Yoshida N,
5 Hattori N, Ohgane J, Yanagimachi R, Shiota K. Placentomegaly in cloned
6 mouse concepti caused by expansion of the spongiotrophoblast layer. *Biol*
7 *Reprod* 2001; 65: 1813-1821

8 156 554 Ohgane J, Wakayama T, Kogo Y, Senda S, Hattori N, Tanaka S,
9 Yanagimachi R, Shiota K. DNA methylation variation in cloned mice.
10 *Genesis* 2001; 30: 45-50

11 157 555 Ohgane J, Wakayama T, Senda S, Yamazaki Y, Inoue K, Ogura A, Marh
12 J, Tanaka S, Yanagimachi R, Shiota K. The Sall3 locus is an epigenetic
13 hotspot of aberrant DNA methylation associated with placentomegaly of
14 cloned mice. *Genes Cells* 2004; 9: 253-260

15 158 114 Cezar GG, Bartolomei MS, Forsberg EJ, First NL, Bishop MD,
16 Eilertsen KJ. Genome-wide epigenetic alterations in cloned bovine fetuses.
17 *Biol Reprod* 2003; 68: 1009-1014

18 159 173 Dindot SV, Farin PW, Farin CE, Romano J, Walker S, Long C,
19 Piedrahita JA. Epigenetic and genomic imprinting analysis in nuclear
20 transfer derived *Bos gaurus*/*Bos taurus* hybrid fetuses. *Biol Reprod* 2004;
21 71: 470-478

22 160 126 Chen T, Jiang Y, Zhang YL, Liu JH, Hou Y, Schatten H, Chen DY, Sun
23 QY. DNA hypomethylation of individual sequences in aborted cloned bovine
24 fetuses. *Frontiers in Bioscience* 2005; 10: 3002-3008

25 161 392 Kremenskoy M, Kremenska Y, Suzuki M, Imai K, Takahashi S,
26 Hashizume K, Yagi S, Shiota K. DNA methylation profiles of donor nuclei
27 cells and tissues of cloned bovine fetuses. *J Reprod Dev* 2006; 52: 259-266

28 162 470 Long JE, Cai X. *Igf-2r* expression regulated by epigenetic modification
29 and the locus of gene imprinting disrupted in cloned cattle. *Gene* 2007; 388:
30 125-134

31 163 674 Senda S, Wakayama T, Arai Y, Yamazaki Y, Ohgane J, Tanaka S,
32 Hattori N, Yanagimachi R, Shiota K. DNA methylation errors in cloned mice
33 disappear with advancement of aging. *Cloning Stem Cells* 2007; 9: 293-302

34 164 863 Wrenzycki, C., Lucas-Hahn, A., Herrmann, D., Lemme, E., Korsawe, K.
35 and Niemann, H.. In vitro production and nuclear transfer affect dosage
36 compensation of the X-linked gene transcripts *G6PD*, *PGK*, and *Xist* in
37 preimplantation bovine embryos. *Biol Reprod* 2002; 66 (1): 127-134

38 165 708 Smith SL, Everts RE, Tian XC, Du F, Sung LY, Rodriguez-Zas SL, Jeong
39 BS, Renard JP, Lewin HA, Yang X. Global gene expression profiles reveal
40 significant nuclear reprogramming by the blastocyst stage after cloning.

1 Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 102: 17582-17587
2 166 659 Sawai K, Kageyama S, Moriyasu S, Hirayama H, Minamihashi A, Onoe
3 S. Analysis of mRNA transcripts for insulin-like growth factor receptors and
4 binding proteins in bovine embryos derived from somatic cell nuclear
5 transfer. Cloning Stem Cells 2005; 7: 189-198
6 167 864 Wrenzycki C, Wells D, Herrmann D, Miller A, Oliver J, Tervit R,
7 Niemann H. Nuclear transfer protocol affects messenger RNA expression
8 patterns in cloned bovine blastocysts. Biol Reprod 2001; 65: 309-317
9 168 94 Camargo LS, Powell AM, Filho VR, Wall RJ. Comparison of gene
10 expression in individual preimplantation bovine embryos produced by in
11 vitro fertilisation or somatic cell nuclear transfer. Reprod Fertil Dev 2005;
12 17: 487-496
13 169 51 Beyhan Z, Forsberg EJ, Eilertsen KJ, Kent-First M, First NL. Gene
14 expression in bovine nuclear transfer embryos in relation to donor cell
15 efficiency in producing live offspring. Mol Reprod Dev 2007; 74: 18-27
16 170 191 Eggen, K., Akutsu, H., Hochedlinger, K., Rideout, W., 3rd, Yanagimachi,
17 R. and Jaenisch, R.. X-Chromosome inactivation in cloned mouse embryos.
18 Science 2000; 290 (5496): 1578-1581
19 171 65 Boiani M, Eckardt S, Scholer HR, McLaughlin KJ. Oct4 distribution and
20 level in mouse clones: consequences for pluripotency. Genes Dev 2002; 16:
21 1209-1219
22 172 75 Bortvin A, Eggen K, Skaletsky H, Akutsu H, Berry DL, Yanagimachi R,
23 Page DC, Jaenisch R. Incomplete reactivation of Oct4-related genes in
24 mouse embryos cloned from somatic nuclei. Development 2003; 130:
25 1673-1680
26 173 672 Sebastiano V, Gentile L, Garagna S, Redi CA, Zuccotti M. Cloned
27 pre-implantation mouse embryos show correct timing but altered levels of
28 gene expression. Mol Reprod Dev 2005; 70: 146-154
29 174 523 Miyazaki K, Tomii R, Kurome M, Ueda H, Hirakawa K, Ueno S,
30 Hiruma K, Nagashima H. Evaluation of the quality of porcine somatic cell
31 nuclear transfer embryo by gene transcription profiles. J Reprod Dev 2005;
32 51: 123-131
33 175 325 Humpherys D, Eggen K, Akutsu H, Hochedlinger K, Rideout WM, III,
34 Biniszkiewicz D, Yanagimachi R, Jaenisch R. Epigenetic instability in ES
35 cells and cloned mice. Science 2001; 293: 95-97
36 176 324 Humpherys D, Eggen K, Akutsu H, Friedman A, Hochedlinger K,
37 Yanagimachi R, Lander ES, Golub TR, Jaenisch R. Abnormal gene
38 expression in cloned mice derived from embryonic stem cell and cumulus
39 cell nuclei. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 12889-12894
40 177 333 Inoue K, Kohda T, Lee J, Ogonuki N, Mochida K, Noguchi Y, Tanemura

1 K, Kaneko-Ishino T, Ishino F, Ogura A. Faithful expression of imprinted
 2 genes in cloned mice. *Science* 2002; 295: 297
 3 178 290 Herath CB, Ishiwata H, Shiojima S, Kadowaki T, Katsuma S, Ushizawa
 4 K, Imai K, Takahashi T, Hirasawa A, Takahashi S, Izaike Y, Tsujimoto G,
 5 Hashizume K. Developmental aberrations of liver gene expression in bovine
 6 fetuses derived from somatic cell nuclear transplantation. *Cloning Stem*
 7 *Cells* 2006; 8: 79-95
 8 179 878 Yang L, Chavatte-Palmer P, Kubota C, O'Neill M, Hoagland T, Renard
 9 JP, Taneja M, Yang X, Tian XC. Expression of imprinted genes is aberrant
 10 in deceased newborn cloned calves and relatively normal in surviving adult
 11 clones. *Mol Reprod Dev* 2005; 71: 431-438
 12 180 446 Li S, Li Y, Du W, Zhang L, Yu S, Dai Y, Zhao C, Li N. Aberrant gene
 13 expression in organs of bovine clones that die within two days after birth.
 14 *Biol Reprod* 2005; 72: 258-265
 15 181 675 Senda, S., Wakayama, T., Yamazaki, Y., Ohgane, J., Hattori, N., Tanaka,
 16 S., Yanagimachi, R. and Shiota, K.. Skewed X-inactivation in cloned mice.
 17 *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 321 (1): 38-44
 18 182 Kohda T, Inoue K, Ogonuki N, Miki H, Naruse M, Kaneko-Ishino T, Ogura A,
 19 Ishino F. Variation in gene expression and aberrantly regulated
 20 chromosome regions in cloned mice. *Biol Reprod.* 2005; 73 (6): 1302-1311
 21 183 332 Inoue F, Matsuda J, Ohkoshi K, Furusawa T, Takahashi S, Sasada H,
 22 Sato E, Tokunaga T. Differences in gene expression patterns between
 23 somatic cell nuclear transfer embryos constructed with either rabbit
 24 granulosa cells or their derivatives. *Anim Reprod Sci* 2006; 93: 76-87
 25 184 76 Bosch P, Pratt SL, Stice SL. Isolation, characterization, gene
 26 modification, and nuclear reprogramming of porcine mesenchymal stem
 27 cells. *Biol Reprod* 2006; 74: 46-57
 28 185 248 Giraldo AM, Lynn JW, Godke RA, Bondioli KR. Proliferative
 29 characteristics and chromosomal stability of bovine donor cells for nuclear
 30 transfer. *Mol Reprod Dev* 2006; 73: 1230-1238
 31 186 492 Mastromonaco GF, Perrault SD, Betts DH, King WA. Role of
 32 chromosome stability and telomere length in the production of viable cell
 33 lines for somatic cell nuclear transfer. *BMC Dev Biol* 2006; 10: 13-16
 34 187 93 Camargo, L. S., Viana, J. H., Sa, W. F., Ferreira, A. M. and Vale Filho, V.
 35 R.. Developmental competence of oocytes from prepubertal *Bos indicus*
 36 crossbred cattle. *Anim Reprod Sci* 2005; 85 (1-2): 53-59
 37 188 459 Liu G, Kato Y, Tsunoda Y. Aging of Recipient Oocytes Reduces the
 38 Development of Cloned Embryos Receiving Cumulus Cells. *J Reprod Dev*
 39 2007
 40 189 73 Bordignon V, Smith LC. Telophase-stage host ooplasts support complete

- 1 reprogramming of roscovitine-treated somatic cell nuclei in cattle. *Cloning*
2 *Stem Cells* 2006; 8: 305-317
- 3 190 251 Gluckman, P. D., Hanson, M. A. and Beedle, A. S.. Early life events and
4 their consequences for later disease: a life history and evolutionary
5 perspective. *Am J Hum Biol* 2007; 19 (1): 1-19
- 6 191 252 Gluckman, P. D., Hanson, M. A. and Beedle, A. S.. Non-genomic
7 transgenerational inheritance of disease risk. *Bioessays* 2007; 29 (2): 145-54
- 8 192 Shimosawa N, Ono Y, Kimoto S, Hioki K, Araki Y, Shinkai Y, Kono T, Ito M.
9 Abnormalities in cloned mice are not transmitted to the progeny. *Genesis*.
10 2002; 34 (3): 203-207
- 11 193 740 Tamashiro KL, Wakayama T, Akutsu H, Yamazaki Y, Lachey JL,
12 Wortman MD, Seeley RJ, D'Alessio DA, Woods SC, Yanagimachi R, Sakai
13 RR. Cloned mice have an obese phenotype not transmitted to their offspring.
14 *Nat Med* 2002; 8: 262-267
- 15 194 236 Fulka J, Jr., Miyashita N, Nagai T, Ogura A. Do cloned mammals skip a
16 reprogramming step? *Nat Biotechnol* 2004; 22: 25-26
- 17 195 Committee on Defining Science-Based Concerns Associated with Products
18 of Animal Biotechnology, Committee on Agricultural Biotechnology, Health,
19 and the Environment, National Research Council, *Animal Biotechnology :
20 Science-Based Concerns (NAS), 2002*
- 21 196 J-6 山口 浩、窪田 力、溝下 和則、轟木 淳一、田原 則雄. 牛核移植技術の開
22 発 (個体識別) 鹿児島県肉用牛改良研究所研究報告 2000; 5: 27-30
- 23 197 J-8 本多 巖、篠木 忠、原 恵、石川 雄治、志賀 美子、管野 美樹夫. 体細胞
24 クローン牛の遺伝的相同性および発育性について 福島県畜産試験場研究報告
25 2003; 10: 13-16
- 26 198 J-9 谷口 俊仁、柏木 敏孝、野口 浩和、山本 喜彦. 体細胞クローン牛の作出
27 および相似性の検討 和歌山県農林水産総合技術センター研究報告 2002; 4:
28 57-61
- 29 199 J-10 加藤 誠二、林 登、林 尚徳、平尾 一平、傍島 英雄、小林 直彦、大谷 健.
30 体細胞クローン牛の正常性について (第1報) ~体細胞クローン雌牛の発育
31 性・繁殖性とその産子の発育性について~ 岐阜県畜産研究所研究報告 2003;
32 3: 27-36
- 33 200 71 Booth, P. J., Viuff, D., Tan, S., Holm, P., Greve, T. and Callesen, H..
34 Numerical chromosome errors in day 7 somatic nuclear transfer bovine
35 blastocysts. *Biol Reprod* 2003; 68 (3): 922-928
- 36 201 278 Hanada H, Takeda K, Tagami T, Nirasawa K, Akagi S, Adachi N,
37 Takahashi S, Izaike Y, Iwamoto M, Fuchimoto D, Miyashita N, Kubo M,
38 Onishi A, King WA. Chromosomal instability in the cattle clones derived by
39 somatic cell nuclear-transfer. *Mol Reprod Dev* 2005; 71: 36-44
- 40 202 875 Yanagimachi R. Cloning: experience from the mouse and other animals.

1 Mol Cell Endocrinol 2002; 187: 241-248

2 203 26 Balbach, S. T., Jauch, A., Bohm-Steuer, B., Cavaleri, F. M., Han, Y. M.
3 and Boiani, M.. Chromosome stability differs in cloned mouse embryos and
4 derivative ES cells. Dev Biol 2007; 308 (2): 309-321

5 204 301 Hiendleder S, Mund C, Reichenbach HD, Wenigerkind H, Brem G,
6 Zakhartchenko V, Lyko F, Wolf E. Tissue-specific elevated genomic cytosine
7 methylation levels are associated with an overgrowth phenotype of bovine
8 fetuses derived by in vitro techniques. Biol Reprod 2004; 71: 217-223

9 205 718 St John JC, Moffatt O, D'Souza N. Aberrant heteroplasmic
10 transmission of mtDNA in cloned pigs arising from double nuclear transfer.
11 Mol Reprod Dev 2005; 72: 450-460

12 206 79 Bowles EJ, Campbell KH, St John JC. Nuclear transfer: preservation of
13 a nuclear genome at the expense of its associated mtDNA genome(s). Curr
14 Top Dev Biol 2007; 77: 251-290

15 207 300 Hiendleder S. Mitochondrial DNA inheritance after SCNT. Adv Exp
16 Med Biol 2007; 591: 103-116

17 208 706 Smith LC, Thundathil J, Filion F. Role of the mitochondrial genome in
18 preimplantation development and assisted reproductive technologies.
19 Reprod Fertil Dev 2005; 17: 15-22

20 209 679 Shiels PG, Kind AJ, Campbell KH, Waddington D, Wilmut I, Colman A,
21 Schnieke AE. Analysis of telomere lengths in cloned sheep. Nature 1999;
22 399: 316-317

23 210 48 Betts D, Bordignon V, Hill J, Winger Q, Westhusin M, Smith L, King W.
24 Reprogramming of telomerase activity and rebuilding of telomere length in
25 cloned cattle. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98: 1077-1082

26 211 412 Lanza RP, Cibelli JB, Blackwell C, Cristofalo VJ, Francis MK,
27 Baerlocher GM, Mak J, Schertzer M, Chavez EA, Sawyer N, Lansdorp PM,
28 West MD. Extension of cell life-span and telomere length in animals cloned
29 from senescent somatic cells. Science 2000; 288: 665-669

30 212 767 Tian XC, Xu J, Yang X. Normal telomere lengths found in cloned cattle.
31 Nat Genet 2000; 26: 272-273

32 213 347 Jiang L, Carter DB, Xu J, Yang X, Prather RS, Tian XC. Telomere
33 lengths in cloned transgenic pigs. Biol Reprod 2004; 70: 1589-1593

34 214 50 Betts DH, Perrault SD, Petrik J, Lin L, Favetta LA, Keefer CL, King WA.
35 Telomere length analysis in goat clones and their offspring. Mol Reprod Dev
36 2005; 72: 461-470

37 215 345 Jeon HY, Hyun SH, Lee GS, Kim HS, Kim S, Jeong YW, Kang SK, Lee
38 BC, Han JY, Ahn C, Hwang WS. The analysis of telomere length and
39 telomerase activity in cloned pigs and cows. Mol Reprod Dev 2005; 71:
40 315-320

1 216 662 Schaetzlein S, Rudolph KL. Telomere length regulation during cloning,
2 embryogenesis and ageing. *Reprod Fertil Dev* 2005; 17: 85-96

3 217 397 Kuhholzer-Cabot B, Brem G. Aging of animals produced by somatic cell
4 nuclear transfer. *Exp Gerontol* 2002; 37: 1317-1323

5 218 522 Miyashita N, Shiga K, Yonai M, Kaneyama K, Kobayashi S, Kojima T,
6 Goto Y, Kishi M, Aso H, Suzuki T, Sakaguchi M, Nagai T. Remarkable
7 differences in telomere lengths among cloned cattle derived from different
8 cell types. *Biol Reprod* 2002; 66: 1649-1655

9 219 869 Xu J, Yang X. Will cloned animals suffer premature aging--the story at
10 the end of clones' chromosomes. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 105

11 220 49 Betts DH, King WA. Genetic regulation of embryo death and senescence.
12 *Theriogenology* 2001; 55: 171-191

13 221 661 Schaetzlein S, Lucas-Hahn A, Lemme E, Kues WA, Dorsch M, Manns
14 MP, Niemann H, Rudolph KL. Telomere length is reset during early
15 mammalian embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 8034-8038

16 222 142 Clark AJ, Ferrier P, Aslam S, Burl S, Denning C, Wylie D, Ross A, de SP,
17 Wilmut I, Cui W. Proliferative lifespan is conserved after nuclear transfer.
18 *Nat Cell Biol* 2003; 5: 535-538

19 223 35 Beaujean N, Taylor J, Gardner J, Wilmut I, Meehan R, Young L. Effect of
20 limited DNA methylation reprogramming in the normal sheep embryo on
21 somatic cell nuclear transfer. *Biol Reprod* 2004; 71: 185-193

22