

## 近縁種を介したキジ科鳥類の個体復元

富山大学大学院理工学研究部（工学）・特命助教 水島 秀成

### ■ 目的

熱帯雨林などに代表される野生動物の生息地・繁殖地の急速な破壊や外来種の導入に伴い、絶滅危惧にある鳥種は増加している。除核卵細胞への体細胞核移植技術は、これら絶滅危惧鳥種の救済に有効な手段として未来を切り拓く可能性があるだけでなく、絶滅鳥種の復元にも応用が可能になると考えられる。本研究では、発生のモデル動物であるウズラとニワトリの卵を用いて、特に雌性核が消失している放卵卵(未受精卵)が核移植用卵として利用可能か検討することとした。次いで、ニワトリ体細胞核をウズラ卵に、ウズラ体細胞核をニワトリ卵に移植し、近縁種卵を介して体細胞クローン家禽を作出することができるか検証した。

### ■ 方法

動物卵の発生は卵細胞質内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇がトリガーとなって開始し、そのトリガー分子として、ホスホリパーゼ C $\zeta$  (PLC $\zeta$ )、クエン酸合成酵素 (CS)、アコニット酸ヒドラーゼ (AH) がウズラで同定されている。本研究では、PLC $\zeta$ 、CS および AH をウズラおよびニワトリの放卵卵に投与し、卵細胞質内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の変化を確認するとともに、単為発生が誘起されるか観察した。またニワトリ、ウズラの卵割球細胞核、孵卵 10-12 日胚の皮膚細胞核を両種の放卵卵に顕微注射した。その注入卵を、サイトカラシン B 添加培養液中で 5 時間の処理を行った後、胚が死亡するまで体外培養を行った。さらに発生胚から DNA を抽出し、ニワトリ、ウズラに特異的な DNA 配列を利用した PCR 法を駆使して、移植核由来の胚であるかを評価した。

### ■ 結果および考察

PLC $\zeta$ 、CS および AH を投与したウズラ、ニワトリ卵ともに卵細胞質内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇が確認され、その上昇は少なくとも 1 時間以上継続した。しかしながら、注入前に空胞が見られた放卵卵では、その  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇能が著しく低下していることが分かった。また単為発生を指標にした場合においても、PLC $\zeta$ 、CS および AH の投与によって、ウズラ卵、ニワトリ卵ともに、空胞のない卵の約 8 割が細胞質分裂を示すとともに、発生開始を抑制しているタンパク群が不活性化されることが分かった。これらのことから、空胞を持たない両種の放卵卵では、PLC $\zeta$ 、CS および AH、あるいは  $\text{Ca}^{2+}$  に応答する発生関連タンパク群が、排卵時と変わらず保持されていることが推測され、これらの卵は、移植核用代理卵として、利用できる可能性が高いことが分かった。またウズラまたはニワトリ卵割球細胞核、皮膚細胞核を移植したウズラ卵群において、5%前後が卵割を開始し、その一部は胚ステージまで発生が進行した。一方、ニワトリまたはウズラ卵割球細胞、皮膚細胞核を移植したニワトリ卵群において、2%が卵割を開始した。また得られた卵割卵および胚の全てが移植核由来のものであることが明らかとなった。

### ■ 結語

鳥類の放卵卵は、クローン動物を作出する際に必須である除核操作を必要とせず、発生能も保持している点から、移植核用代理卵として利用が可能であることが分かり、また近縁種放卵卵を介した体細胞クローン鳥種の作出にも光明を見いだした。しかしながら、核移植卵の発生率が低いことから、いかに本来の受精・発生様式に疑似させるか、その技術改良が今後の課題である。