

平成 22 年 4 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18380169
 研究課題名（和文）抗肥満作用を有する共役脂肪酸を生合成する家畜の生産に関する研究
 研究課題名（英文）Study on production domestic animals biosynthesized conjugated fatty acids that carries anti-obesity effects
 研究代表者 佐伯 和弘（SAEKI KAZUHIRO）
 近畿大学・生物理工学部・教授
 研究者番号：10298937

研究成果の概要（和文）：

共役リノール酸に発ガン抑制や抗肥満などの効果が報告されている。本課題では、共役リノール酸の合成酵素遺伝子(*PAISOM*)をウシ体細胞へ導入し、共役リノール酸含量の多い家畜の生産を目指した。*PAISOM* 遺伝子をウシ細胞に導入した遺伝子導入細胞を得、導入遺伝子の発現も確認できた。また、遺伝子導入細胞によるクローンウシ胚の作製にも成功した。*PAISOM* 遺伝子の機能的発現を調べた結果、ガスクロマトグラフィーによる脂肪酸組成解析の結果では目的の *trans-10,cis-12* 型共役リノール酸を検出できなかったものの、共役リノール酸の代謝産物である共役アラキドン酸と思われるピークを確認した。

研究成果の概要（英文）：

Conjugated linoleic acid has been reported to be effective for cancers and obesity. In this study, a gene for an isomerase for conjugated linoleic acid (*PAISOM*) was introduced into bovine cells. We obtained cells stably transfected with *PAISOM* gene. We also successfully produced cloned embryos from the *PAISOM*-cells. However, Gas chromatography of fatty acids in the *PAISOM*-cells did not indicate the conjugated linoleic acid, but we detected a peak unknown but likely to be conjugated arachidonic acid that were elongated from conjugated linoleic acid.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|------------|-----------|------------|
| 2006年度 | 2,800,000 | 840,000 | 3,640,000 |
| 2007年度 | 3,200,000 | 960,000 | 4,160,000 |
| 2008年度 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |
| 2009年度 | 2,700,000 | 810,000 | 3,510,000 |
| 年度 | | | |
| 総計 | 12,200,000 | 3,660,000 | 15,860,000 |

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用動物科学

キーワード：クローン家畜・トランスジェニック家畜

1. 研究開始当初の背景

陸生哺乳動物や植物の過食すなわち飽和脂肪酸の過剰摂取と多価不飽和脂肪酸の摂取不足による肥満などの生活習慣病が大きな

問題となっている。近年、共役脂肪酸には微量の摂取でも抗肥満作用などがあることが示されている。この共役脂肪酸の内共役リノール酸の一つである *10t,12c-C_{18:2}* に強い抗肥

満および抗ガン作用があることが示された。

2. 研究の目的

共役脂肪酸を哺乳動物の脂肪組織で生合成させるために共役脂肪酸合成酵素遺伝子を哺乳動物に導入して動物の脂肪内の共役脂肪酸含量を増加させれば、肥満の予防ができると考えた。本研究では、共役脂肪酸合成酵素遺伝子としてリノール酸 (9c,12c-C_{18:2}) を共役リノール酸 (10t,12c-C_{18:2}) に異性化する酵素の遺伝子をウシの体細胞に導入し、その遺伝子導入細胞からクローン技術で共役リノール酸含量の多い遺伝子組換え動物が生産できないかを検討した。

3. 研究の方法

(1) ウシ筋衛星細胞への共役リノール酸合成酵素遺伝子(PAISOM)の導入

Propionibacterium acnes (P. acnes) 由来共役リノール酸合成酵素遺伝子 (PAISOM) は、玉川大学今村順教授よりご提供頂いた。まず、哺乳動物細胞で PAISOM を発現させる発現ベクターのプロモーターには、構成的に過剰発現させる CAG プロモーター (Niwa et al., 1991) を用いた。CAG プロモーターに目的遺伝子である PAISOM を連結し、その下流に IRES (Internal ribosomal entry site, Molla et al., 1992) 配列さらにその下流に EGFP を連結した。IRES 配列はキャップ構造非依存的に翻訳することができるため、2種類の遺伝子配列の間に配置することで融合タンパク質ではなく2種類の遺伝子産物を翻訳することができる。さらに本ベクターには、ネオマイシン耐性遺伝子を組み込んだ。まずネオマイシン耐性遺伝子により遺伝子導入細胞を G418 で選択し、そのうち EGFP 蛍光が観察された細胞株のみを単離した。これにより、遺伝子導入細胞のうち発現している細胞のみを単離できた。遺伝子を導入する細胞には、脂肪細胞での PAISOM の機能的発現を検討したいので、脂肪細胞にも分化できるウシ筋衛星細胞を用いた。この細胞に PAISOM 遺伝子を導入した。

(2) PAISOM 遺伝子導入ウシ体細胞によるクローン胚の生産

PAISOM 遺伝子を導入したウシ筋衛星細胞の内、導入遺伝子の発現量の強い細胞を選択しドナー細胞としてクローン胚を作製した。胚盤胞へ発生したクローン胚は、EGFP 蛍光および RT-PCR 法により PAISOM 遺伝子の発現を調べた。

(3) ウシ脂肪細胞における導入遺伝子の発現の検討

遺伝子導入細胞での PAISOM の発現は、EGFP 蛍光の定量と RT-PCR 法により確認した。また、脂肪細胞への分化後に脂質を抽出

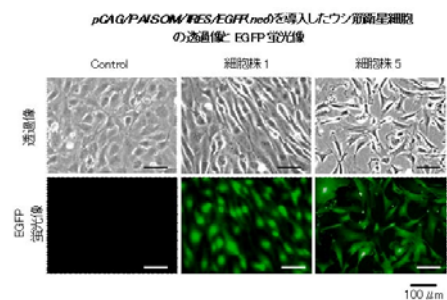
しガスクロマトグラフィーにより全脂質の脂肪酸組成を調べることで共役リノール酸の定量と定性を試みた。

4. 研究成果

(1) ウシ筋衛星細胞への共役リノール酸合成酵素遺伝子(PAISOM)の導入

研究当初、共役脂肪酸合成酵素遺伝子の単離を試みたが成功しなかったため、PAISOM 遺伝子は玉川大学今村順教授よりご提供頂いた。この PAISOM 遺伝子の哺乳動物細胞発現ベクター pCAG/PAISOM/IRES/EGFP/SV40(neo^r) を構築し、ウシ筋衛星細胞に導入した。その結果、導入後継代を繰り返しても安定的に EGFP が発現している細胞を獲得した(図 1)。

図 1.



導入直後に強い EGFP 蛍光を示す細胞株を 4 回継代し、EGFP 蛍光を調べた。その結果、5 つの細胞株が得られ、そのうち細胞株 1、2 および 5 は、4 回継代後も EGFP 蛍光細胞の割合が高く遺伝子が安定的に導入されていた(表 1)。

表 1. 遺伝子導入株における EGFP 蛍光を示す細胞の割合

| 細胞株 | 継代数 | EGFP 蛍光の割合(%) | |
|-----|-----|---------------|------------|
| | | 1 継代目 | 4 継代目 |
| 1 | 4 | 100 | 96.3 |
| 2 | 4 | 100 | 92.4 |
| 3 | 2 | 78.7 | 継代後、細胞が肥大化 |
| 4 | 2 | 94.8 | 増殖能の異常 |
| 5 | 4 | 98.5 | 94.9 |

しかし、細胞株 2 はさらに数継代した後、増殖能がなくなり、EGFP 蛍光細胞の割合も低下した。細胞株 1 と 5 の細胞を、RT-PCR 法により遺伝子発現を調べた結果、これら遺伝子導入細胞で、PAISOM の mRNA 発現を確認した(図 2)。

これら遺伝子導入細胞株 1 および 5 を分化誘

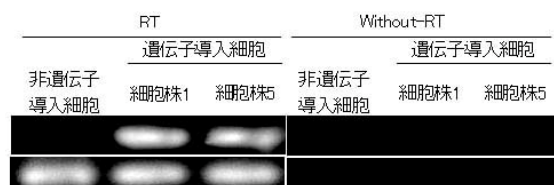
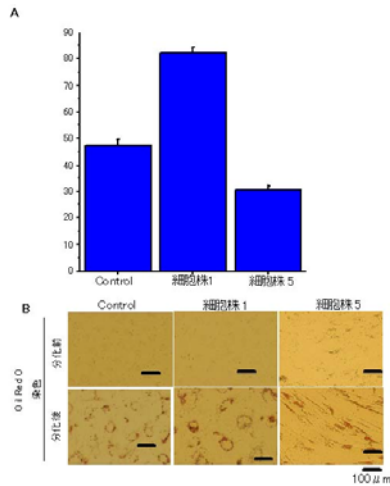


図 2 RT-PCR による PAISOM 遺伝子の発現解析

導し、脂質蓄積量を Oil Red O 染色で調べた。その結果、図 3A および B に示すように、遺伝子導入細胞においても脂質が蓄積していたが、脂質蓄積量には差がみられた ($P < 0.01$)。

図 3. *pCAG/PAISOM/IRES/EGFP(neo')* を導入したウシ筋衛星細胞の分化誘導による脂質蓄積



(2) PAISOM 遺伝子導入ウシ体細胞によるクローン胚の生産

遺伝子導入細胞株 1 を用いてクローン胚を作製し、その発生を観察した。その結果、表 2 に示すようにクローン胚の胚盤胞への発生率は、22%と対照区の子遺伝子導入細胞 (23%) と同等だった ($P > 0.05$)。

表 2. PAISOM 遺伝子導入細胞クローン胚の初期発生

| ドナー | 再構築胚数 | 卵割胚数 (%) | 胚盤胞数 (%) |
|---------|-------|----------|----------|
| Control | 146 | 106(72) | 33(23) |
| 細胞株1 | 144 | 86(60) | 32(22) |

$P < 0.05$ (n=3)

Control: 非遺伝子導入細胞クローン胚 (n=3)

細胞株1: 遺伝子導入細胞クローン胚 (n=3)

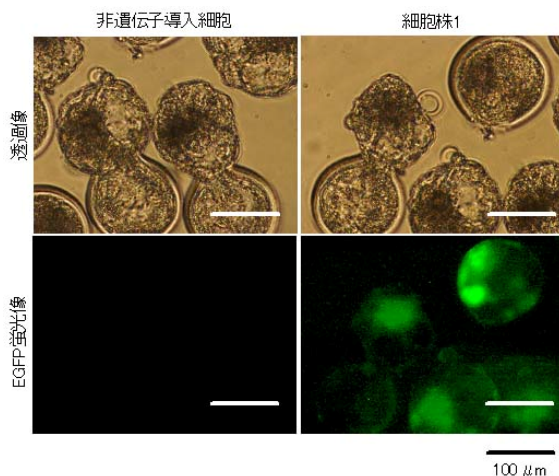


図 4 遺伝子導入細胞株核移植胚の透過光像と EGFP 蛍光像

また、遺伝子導入クローン胚の EGFP 蛍光を観察したところ、図 4 に示すように全ての胚で EGFP 蛍光を確認した。

さらに、RT-PCR 法で PAISOM 遺伝子の発現を調べたところ、全ての遺伝子導入細胞株によるクローン胚で PAISOM の発現が認められた。

(3) ウシ脂肪細胞における導入遺伝子の発現の検討

PAISOM 導入ウシ筋衛星細胞を脂肪細胞へ分化させ、全脂質を抽出した。この脂質をガスクロマトグラフィーで脂肪酸組成を調べ PAISOM 遺伝子の機能的発現を検討した。対照区である培養した *P. acnes* 菌体では共役リノール酸が検出できたが、遺伝子導入細胞で

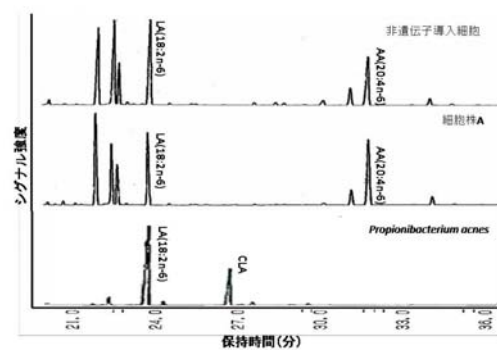


図 5. 脂質蓄積した PAISOM 遺伝子導入脂肪細胞の脂肪酸組成: ガスクロマトグラフィーのチャート図の一部

は検出できなかった (図 5)。

しかし、PAISOM 遺伝子の基質であるリノール酸は、細胞株 5 で 9.7%と対照区の子遺伝子導入細胞 (12.5%) に比べ減少していた。また、アラキドン酸が細胞株 5 で 12.0%と非遺伝子導入細胞 (8.7%) より増加していた。次に、培養培地への共役脂肪酸の漏出があると考え培養培地の全脂質を抽出しガスクロマトグラフィーで脂肪酸組成を調べた。その結果、図 6 に示すように、共役リノール酸は検出できなかったが、PAISOM の基質であるリノール酸は、遺伝子導入細胞株 5 で 3.2%と対照区の子遺伝子導入細胞 (4.6%) より減少していた。さらに、興味深いことに遺伝子導入筋衛星細胞株 5 で対照区の子遺伝子導入筋衛星細胞株および遺伝子導入筋衛星細胞株 1 とは異なるピーク (peak84) がアラキドン酸の近位に認められた。

以上より、PAISOM 遺伝子の導入により上述の脂肪酸組成の変化が認められた。しかし、目的の共役リノール酸は検出できず、さらに代謝産物と思われる共役アラキドン酸についてもガスクロマトグラフィーによる脂肪酸組成解析ではその標準品がないことから、同定できなかった。TLC によりシス型とトランス型を同定する (Privett, 1965) には、現時点の培養細胞レベルでは脂質量から考えて困

難である。

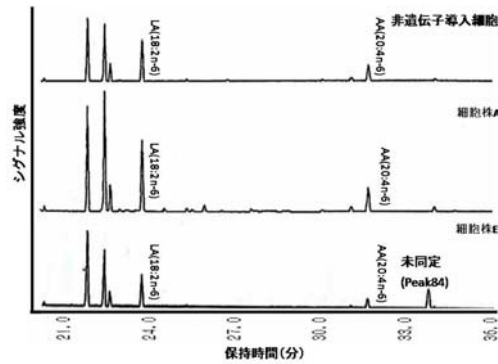


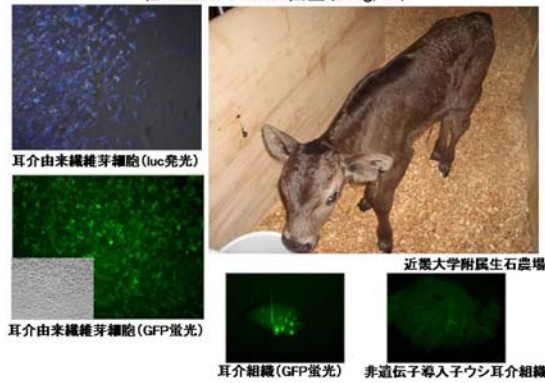
図6. 脂質蓄積した分化誘導培地の脂肪酸組成: ガスクロマトグラフィーのチャート図の一部

(4) まとめ

本課題では、共役リノール酸を畜肉や乳中に蓄積させ、それを摂取することで人の健康により家畜を作出できるのではないかと考えた。そこで本実験では、PAISOM の機能的発現の確認および、PAISOM 遺伝子導入細胞を用いたクローン胚の作出を行った。

PAISOM 遺伝子を筋衛星細胞に導入し、高い割合でEGFP 蛍光を示す遺伝子導入細胞株が2株得られ、RT-PCR 法により遺伝子導入細胞内で PAISOM 遺伝子が発現していることが確認できた。さらに、これら細胞株の脂肪細胞への分化させたところ、脂質蓄積能を保持していることが分かった。つぎに、得られた遺伝子導入筋衛星細胞をドナー細胞に用いてクローン胚を作製し、その発生率および遺伝子発現について調べた。その結果、対照区の子遺伝子導入クローン胚と同等の発生率を示した。また、EGFP 蛍光の観察と RT-PCR 法を用いて導入遺伝子の発現を調べた結果、胚盤胞期胚まで発生したすべての胚で EGFP 蛍光が確認され、RT-PCR においても PAISOM 遺伝子の発現が確認された。このことから、PAISOM 遺伝子導入細胞を用いたクローン胚を作出できることが示された。PAISOM 遺伝子導入細胞ではないが、予備実験により Luc+/EGFP 遺伝子導入細胞によるクローンウシの生産 (図7., 2008.8.17 出生、未発表) に成功した。

図7. β -act/luc⁺/IRES/EGFP遺伝子導入クローンウシ (2008.8.17 PM9:30出生 (37kg, ♂))



ガスクロマトグラフィーによる脂肪酸組成解析により、PAISOM 遺伝子の機能的発現について調べた。その結果、細胞培養液の脂肪酸組成解析の遺伝子導入筋衛星細胞株5で対照区の子遺伝子導入筋衛星細胞株および遺伝子導入筋衛星細胞株1とは異なるピークが確認できた。しかし、このピークは目的の trans-10,cis-12 型共役リノール酸ではなく、その代謝産物と考えられる共役アラキドン酸は不明である。今後はこのピークの詳細な解析が必要と考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計13件)

- ① Ideta A, Hayama K, Urakawa M, Tsuchiya K, Aoyagi Y, Saeki K. Comparison of early development in utero of cloned fetuses derived from bovine fetal fibroblasts at the G1 and G0/G1 Phases. Anim Reprod Sci, 査読有 accepted, 2010.
- ② Iwamoto D, Ogi M, Tomita S, Kasamatsu A, Tamari T, Ideta A, Urakawa M, Matsumoto K, Hosoi Y, Iritani A, Aoyagi Y, Saeki K. Synchronization of cell cycle at late G1 phase for evaluating embryonic development of bovine somatic cell nuclear transfer embryos. Mem School BOST Kinki Univ, 査読有 accepted, 24, 2010.
- ③ Ikeda S, Tatemizo A, Iwamoto D, Taniguchi S, Hoshino Y, Amano T, Matsumoto K, Hosoi Y, Iritani A, Saeki K. Enhancement of histone acetylation by trichostatin A during in vitro fertilization of bovine oocytes affects cell number of the inner cell mass of the resulting blastocysts. Zygote, 査読有 17, 209-215, 2009.
- ④ 星野洋一郎, 林 登, 傍島英雄, 谷口俊仁, 小林直彦, 坂口慎一, 佐伯和弘, 黒毛和種雄牛「安福」号の体細胞クローン「望安福」誕生. 日本胚移植学雑誌, 査読無 31, 169-175, 2009.
- ⑤ Indo Y, Tatemizo A, Abe Y, Suzuki I, Matsumoto K, Hosoi Y, Kinoshita M, Mikami K, Murata N, Iritani A, Saeki K. Functional expression of a humanized gene for an omega-3 fatty acid desaturase from scarlet flax in transfected bovine adipocytes and bovine embryos cloned from the cells. Biochim Biophys Acta. 査読有 1791, 183-190, 2009.
- ⑥ Ikeda S, Tatemizo A, Iwamoto D, Taniguchi S, Hoshino Y, Amano T, Matsumoto K, Hosoi Y, Iritani A, Saeki K. Enhancement of histone acetylation by

- trichostatin A during in vitro fertilization of bovine oocytes affects cell number of the inner cell mass of the resulting blastocysts. *Zygote*, 査読有 17, 209-215, 2009.
- ⑦ Hoshino Y, Hayashi N, Taniguchi S, Kobayashi N, Sakai K, Otani T, Iritani A, Saeki K. Resurrection of a bull by cloning from organs frozen without cryoprotectant in a -80 oC freezer for a decade. 査読有 PLoS ONE, 4, e4142, 2009.
- ⑧ 印藤頼子, 松本和也, 細井美彦, 鈴木石根, 村田紀夫, 入谷明, 佐伯和弘. 植物由来脂肪酸不飽和化酵素遺伝子を哺乳動物細胞において高発現させるためのコドン使用頻度の最適化. 近畿大学生物理工学部紀要, 査読有 22, 33-41, 2008
- ⑨ Nagao Y, Iijima R, Saeki K. Interaction between embryos and culture conditions during in vitro development. *Zygote*, 査読有 16, 127-133, 2008.
- ⑩ 岩本太作, 笠松礼, 立溝篤宏, 谷口俊仁, 中本善之, 谷口俊仁, 出田篤司, 浦川真実, 青柳敬人, 細井美彦, 松本和也, 入谷明, 佐伯和弘. 初期G1期細胞によるウシ核移植胚におけるDNAのメチル化レベルの検討. 近畿大学先端技術総合研究所紀要. 査読有 12.25-31 (2007)
- ⑪ Kishi M, Takakura R, Nagao Y, Saeki K, Y Takahashi. Effect of embryonic cell cycle of nuclear donor embryos on the efficiency of nuclear transfer in Japanese black cattle. *Zygote*, 査読有 15, 165-171, 2007.
- ⑫ Ideta A, Urakawa M, Aoyagi Y, Saeki K. Early development in utero of bovine nuclear transfer embryos using early G1 and G0 phase cells. *Cloning Stem Cells*. 査読有 9, 571-580, 2007.
- ⑬ 佐伯和弘. 最近の遺伝子改変家畜の現況, とくに植物遺伝子を利用した家畜の脂質の改変. 麻布大学雑誌. 査読無 Vol.11-12 .91-96 (2006)
- [学会発表] (計16件)
- ① 岩本太作, 加藤暢宏, 谷口俊仁, 松井孝徳, 高橋千明, 中野達也, 庄隼生, 岸昌生, 細井美彦, 松本和也, 入谷明, 佐伯和弘. ポリジメチルシロキサン製マイクロウェルの容積と胚数がウシ胚の初期発生に及ぼす影響. 日本畜産学会第112回大会, 明治大学駿河台キャンパス東京都千代田区, 2010年03月29日.
- ② 佐伯和弘. 健康に寄与できる組換え動物性食品開発を目指して: 植物由来脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の哺乳動物での機能的発現. 第8回脂質工学研究部会講演会. (大阪市立工業研究所, 大阪市, 1月22日, 2010年).
- ③ 加藤暢宏, 佐伯和弘, 橋本周, 森本義晴. 無孔性PDMS製マイクロウェルプレートによるヒト体外受精卵の培養. 第31回日本バイオマテリアル学会大会, 京都市民総合交流プラザ 京都市, 2009年11月16-17日
- ④ 中野達也, 印藤頼子, 庄隼生, 細井美彦, 松本和也, 入谷明, 佐伯和弘. 微生物由来リノール酸異性化酵素遺伝子(PAISOM)の哺乳動物細胞における発現とPAISOM導入核移植胚の発生. 日本畜産学会第111回大会 (琉球大学, 沖縄県中頭郡西原町, 2009年9月28-29日)
- ⑤ Saeki K, Indo Y, T Nakano, Suzuki I, Matsumoto K, Hosoi Y, Kinoshita M, Mikami K, Murata N, Iritani A. Modification of fatty acid profiles in bovine adipocytes by introduction of genes for an ω -3 fatty acid desaturase and a linoleate isomerase. World Congress on Oils and Fats and the 28th ISF Congress, Sydney, Australia, 27-30 Sept, 2009
- ⑥ Ideta A, Hayama K, Urakawa M, Tsuchiya K, Nakamura Y, Aoyagi Y, Saeki K. Comparison of in vivo development during early pregnancy of cloned fetuses derived from bovine fetal fibroblasts at the early G1 and G0 phases. 2009 Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, San Diego, California, USA, 3-7 January 2009
- ⑦ Iwamoto D, Kishigami S, Taniguchi S, Abe Y, Matsui T, Kasamatsu A, Tatemizo A, Mitani T, Kato H, Matsumoto K, Hosoi Y, Wakayama T, Iritani A, Saeki K. Effects of trichostatin A on DNA methylation in cloned bovine embryos. Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, January 05 -09, 2008, Denver, CO, USA.
- ⑧ Iwamoto D, Kishigami S, Taniguchi S, Matsumoto K, Hosoi Y, Iritani A, Wakayama T, Saeki K. Effects of trichostatin A on gene expression and in-vitro development of bovine embryos cloned from transfected fibroblasts carrying a luciferase gene. 16th Int'l Congress on Animal Reproduction, 13-17 July 2008 Budapest, Hungary
- ⑨ K Saeki, Y Indo, A Tatemizo, I Suzuki, K Matsumoto, Y Hosoi, N Murata, and A Iritani. Expression of an ω -3 fatty acid desaturase gene from scarlet flax in bovine transgenic embryos cloned from transfected somatic cells. The 16th International Congress on Animal Reproduction, in Budapest, Hungary, 13-17 July 2008.

- ⑩ Iwamoto D, Kishigami S, Taniguchi S, Matsumoto K, Hosoi Y, Iritani A, Wakayama T, Saeki K. Effects of trichostatin A on gene expression and in-vitro development of bovine embryos cloned from transfected fibroblasts carrying a luciferase gene. The 16th International Congress on Animal Reproduction, in Budapest, Hungary, 13–17 July 2008.
- ⑪ Taniguchi S, Hayashi N, Abe Y, Iwamoto D, Kishigami S, Kishi M, Kato H, Mitani T, Matsumoto K, Hosoi Y, Iritani A, Nagao Y, Saeki K. Production of cloned bovine embryos derived from amniotic cells of pregnant cows. Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, January 05 -09, 2008 , Denver, CO, USA
- ⑫ Iwamoto D, Kishigami S, Taniguchi S, Abe Y, Matsui T, Kasamatsu A, Tatemizo A, Mitani T, Kato H, Matsumoto K, Hosoi Y, Wakayama T, Iritani A, Saeki K. Effects of trichostatin A on DNA methylation in cloned bovine embryos. Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, January 05 -09, 2008 , Denver, CO, USA
- ⑬ Indo Y, Tatemizo A, Suzuki I, Matsumoto K, Hosoi Y, Kinoshita M, Mikami K, Murata N, Iritani A, Saeki K. Expression of transgene in bovine embryos cloned from somatic cells transfected with a humanized FAD3 gene from scarlet flax. A Joint Meeting of the Second Asian Symposium on Plant Lipids & the 20th Japanese Symposium on Plant Lipids. The Second Asian Symposium on Plant Lipids, Tokyo, Japan, November 30-December 2, 2007
- ⑭ 印藤頼子、立溝篤宏、阿部悠季、佐伯和弘、松本和也、細井美彦、鈴木石根、木下幹朗、三上浩司、村田紀夫、入谷明。アマ由来のω3 脂肪酸不飽和過酵素遺伝子を導入したウシ筋衛星細胞によるクローン胚の発生。第100回日本繁殖生物学会大会（東京、2007年10月18日～22日）
- ⑮ Indo Y, Tatemizo A, Suzuki I, Matsumoto K, Hosoi Y, Kinoshita M, Mikami K, Murata N, Iritani A, Saeki K. Elevated level of n-3 fatty acids in bovine adipocytes transfected with a humanized FAD3 gene from scarlet flax. 48th International Conference on the Bioscience of Lipids, Turku, Finland, September 4-8, 2007
- ⑯ 佐伯和弘。遺伝子改変家畜の現状、とくに植物遺伝子を利用した家畜の改変。第13回日本胚移植研究会大会シンポジウム（広島市、8月2日-3日2006年）

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：脂肪酸不飽和化酵素遺伝子、組換え発現ベクター、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子が導入された、非ヒト動物細胞および非ヒト動物。発明者：佐伯和弘・印藤頼子・松本 和也・細井美彦・入谷 明。

権利者：近畿大学

種類：特許

出願番号：特願 2007-227818。

出願年月日：平成 18 年 2 月 27 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐伯 和弘 (SAEKI KAZUHIRO)

近畿大学・生物理工学部・教授

研究者番号：10298937

(2)研究分担者

細井 美彦 (YOSHIHIKO HOSOI)

近畿大学・生物理工学部・教授

研究者番号：70192739

松本 和也(MATSUMOTO KAZUYA)

近畿大学・生物理工学部・教授

研究者番号：20298938

三谷 匡 (MITANI TASUKU)

近畿大学・先端技術総合研究所・准教授

研究者番号：10322265

田口 善智(TAGUCHI YOSHITOMO)

近畿大学・生物理工学部・講師

研究者番号：70309269