

平成 21 年 3 月 9 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. 研究計画の概要

共役リノール酸は発ガン抑制や抗肥満などの効果が報告されている。本研究では共役リノール酸の生成に関わる遺伝子を家畜に導入してやれば、畜肉や乳汁中に共役リノール酸が蓄積し、それを摂取することで人の健康によい家畜を作出できるのではないかと考えた。

2. 研究の進捗状況

ウシの腸内嫌気性細菌 (*Propionibacterium acnes*) から単離されたリノール酸異性化酵素遺伝子 (*PAISOM*) を哺乳類細胞で発現でき、かつその発現を容易に EGFP 蛍光でトレースできるように、アクチンプロモーターの下流に *PAISOM*、*IRES* および *EGFP* さらに *neo r* を連結したベクターを作成した (*act/PAISOM/IRES/EGFP/(neo r)*)。一方、遺伝子を導入する細胞には、脂肪を蓄積する脂肪細胞への分化能を有する筋衛星細胞を用いた。筋衛星細胞は、と殺した子ウシの頸部の筋組織から得た。*act/PAISOM/IRES/EGFP/(neo r)* を単離したウシ筋衛星細胞に GeneJammer を用いて導入した。遺伝子導入細胞はまず G418 で選択した。さらに EGFP 蛍光を調べることで細胞株の遺伝子発現の確認を行ない、4 継代した後も EGFP 蛍光が確認できる細胞を得て、安定的に遺伝子が導入された細胞株とした。これら遺伝子導入細胞は染色体数が正常で、アポトーシスを起こしていない正常な細胞であることを確認した後、さらに培養を継続した。これら細胞を、インスリン、デキサメタゾンおよびオクタン酸で処理して脂肪細胞へ分化させて脂質蓄積の有無を確認した。遺伝子導入の有無にかかわらず、細胞内の脂質蓄積が確認できた。さらに、これら脂質を蓄積した細胞を 10cm ディッシュ 100 枚規模で大量培養し、脂質を抽出した。現在、脂質中の共役リノール酸量を解析している。

さらに、この遺伝子導入細胞を用いてクローン胚を作製している。

3. 現在までの達成度

やや遅れている。

共役リノール酸生成酵素遺伝子の取得に思いの外時間を要した。また、ガスクロマトグラフィーによる共役脂肪酸の濃度測定は極めて大量の脂質量を要することから、細胞の大量培養に経費と時間を割かざるを得なくなっている。

4. 今後の研究の推進方策

得られた細胞株での共役リノール酸含量について検討している。ガスクロマトグラフィーによる共役脂肪酸の濃度測定は極めて大量の脂質量を要するため、現在遺伝子導入細胞の大量培養を行っている。また、共役リノール酸生成量の多い細胞について、ウシ卵子に核移植しクローン胚を生産する予定である。

5. 代表的な研究成果

（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 7 件)

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 ω -3 fatty acid desaturase from scarlet flax in transfected bovine adipocytes and bovine embryos cloned from the cells. *Biochim Biophys Acta*. 1791 (2009) 183-190
Ikeda S, Tatemizo A, Iwamoto D, Taniguchi S, Hoshino Y, Amano T, Matsumoto K, Hosoi

Y. Iritani, A. Saeki, K. Saeki. 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* 2009; in press.

Y Nagao, R Iijima, K Saeki. Interaction between embryos and culture conditions during in vitro development *Zygote*, 2008, 16, 127-133.

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, 22, 33-41, 2008

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. 12.25-31 (2007)

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* 2007; 9: 571-580.

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, Vol.11-12. 91-96 (2006)

〔学会発表〕(計 5 件)

岩本太作, 松井 孝徳, 中野 達也, 高橋 千明, 谷口 俊仁, 加藤 暢宏, 佐伯 和弘. ポリジメチルシロキサン製マイクロウェルを用いたウシ胚の体外培養の検討. 第 15 回日本胚移植研究会(仙台市, 2008 年 9 月 4 日 ~ 5 日)

K. Saeki, N. Kato, D. Iwamoto and S. Taniguchi. Successful Culture of Single Bovine Embryos Using Polydimethylsiloxane (PDMS) Micro-Well Plates Cured under Low Pressure. 10th World Conference on Animal Production, Cape Town, South Africa, 23-28 November, 2008.

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

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

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. 6th Int'l Congress on Animal Reproduction, 13-17 July 2008 Budapest, Hungary

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

佐伯 和弘・印藤頼子・松本 和也・細井 美彦・入谷 明. 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. 特願 2007-227818.

取得状況(計 0 件)