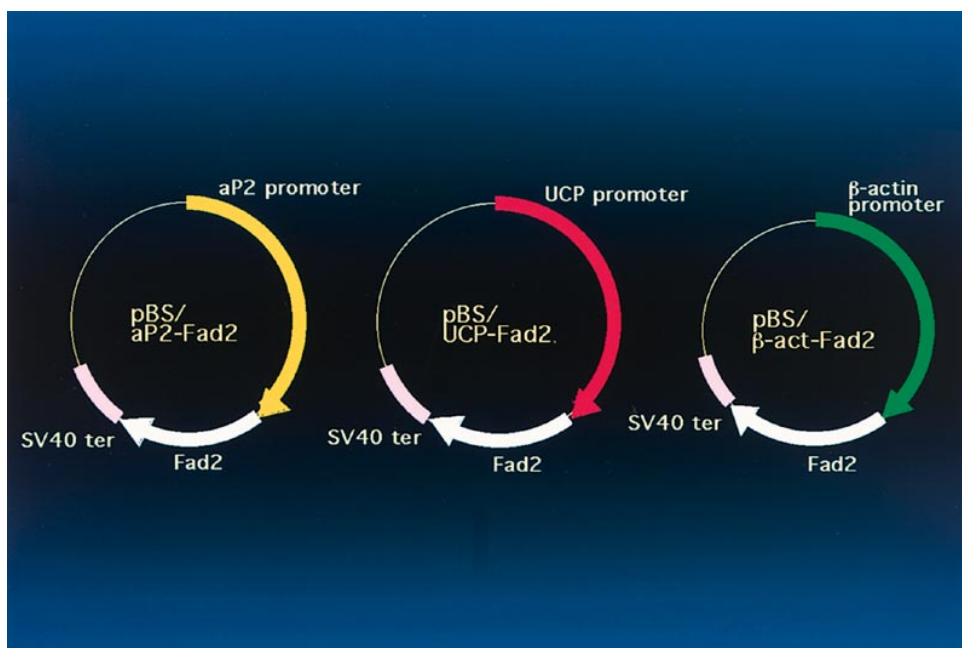


Control of the Useful Genes by Genetic Engineering in Food Animals 食資源動物の利用形質の遺伝子工学的制御

プロジェクトリーダー 駒 野 徹

近畿大学 生物理工学部 教授



動物の脂肪組織で特異的に発現するプロモーター（aP2及びUCP）、及び色々な組織で発現するプロモーター（ β -アクチン）と脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子を結合した組換えDNA

1. 研究の目的

先進諸国においては、家畜や食鳥類等を含む食資源動物から有用な遺伝子を探索し、単離した遺伝子を育種に利用することにより、将来の良質な動物性食資源を得ることを目指して、様々な基礎研究、及び応用研究が積極的に進められています。有用遺伝子とは、食資源動物をより良好な状態で成長を促進させたり、栄養学的に重要な成分の生産を促すような遺伝子のことを指しています。このような有用遺伝子を食資源動物、特に家畜に導入して形質転換動物を得ることにより、優れた食資源動物を遺伝子工学的に作出できると考えられます。しかし、我が国の食資源動物の遺伝子工学的改良に関する研究はまだまだ少ないのが現状です。諸外国の状況をみてもスーパーマウスの生産に刺激されて1980年代後半にヒツジ、ブタ、ヤギなどについて、体型の大型化を目指した研究が活発に行われました。しかし、導入された成長ホルモン遺伝子の発現時期の制御が困難で、期待したような成果が得られていません。将来、地球規模で食糧問題、特にタンパク質資源を考えると、新しい生命科学に基づく食資源動物の育成技術を確立し、これを利用することは極めて重要であると考えられます。本研究プロジェクトは、将来の我が国の食資源動物において、遺伝子レベルでの解析から遺伝子導入技術や発生工学の発展に向けて、主導的役割を果たすべく、基礎的及び応用的研究を推進しようとするものです。



新しく作出することに成功した形質転換ブタ

2. 研究の内容

(1) 食資源動物の組換え体の作出

食資源動物に植物由来の脂肪酸合成酵素を導入することにより、食肉中の脂肪酸の組成を変化させ、栄養のバランスの上でより有利な肉質を持つ家畜を作成しようと試みています。そこでまず、ホウレンソウから小胞体型の $\Delta 12$ 脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子を単離しました。この種の脂肪酸不飽和化酵素は植物にしか存在しないからです。そのcDNAを、全身で遺伝子の発現を誘導できる β -アクチンプロモーター、脂肪組織特異的に遺伝子の発現を誘導するaP2プロモーター及びUCPプロモーターの下流にそれぞれ組み込んで、卵子に注入するためのDNAを作製しました。これらをマウス卵子に注入して、形質転換マウスを複数個体作出しました。そして、これらのマウスにおいて植物由来の脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子が発現していることを確認しました。さらに、この注入用DNAをブタへ導入し、形質転換ブタの作出に成功しました。現在、形質転換ブタは特殊な施設で飼育されています。

(2) 有用遺伝子の探索と単離

有用遺伝子として、大型鳥類の一種で、将来、家禽の成長を促進することが期待されるダチョウの成長ホルモン遺伝子、及びインスリン様成長因子-I等の遺伝子の単離に成功し、それらの構造の解析を行っています。また、ヤギの成長ホルモン遺伝子を植物で発現させることに成功し、家畜の食餌となる植物で成長ホルモンを産生させることによって、家畜の大型化を計る可能性も示唆されました。

(3) 形質転換体の識別方法の開発

ウシの遺伝子組換えにおいて、従来の前核への遺伝子注入法では、注入胚数当たりの形質転換動物の生産効率は極めて低いので、移植前の初期胚の段階でDNAの導入の有無を判別し、形質転換胚のみを移植することにより、形質転換動物生産率の飛躍的向上を最終目標とした基礎的研究を行っています。 β -アクチン/ホタルルシフェラーゼ融合遺伝子を前核に注入した受精卵におけるルシフェラーゼ遺伝子の発現をシングルフォトカンウンターを用いて経時的に調べた結果、授精後72時間以降にその活性が検出されました。この結果より、ルシフェラーゼ遺伝子をマーカー遺伝子として形質転換胚を移植前に判別する方法は、中大動物での形質転換動物の生産効率の向上に大きく貢献しうることが示唆されました。

(4) 生殖細胞の有効利用

ほ乳類の卵巣では、生後99.9%の卵子が卵胞閉鎖を介して死滅し、排卵に至るのはわずかの卵子のみです。これは、卵子を取り囲む顆粒膜細胞のアポトーシスに起因しています。貴重な生殖細胞である卵子の有効利用を目的として、顆粒膜細胞のアポトーシスに関与するアポトーシス抑制関連遺伝子を卵巣内卵胞で特異的に発現させた形質転換動物を作成し、顆粒膜細胞のアポトーシスを抑制して、卵胞閉鎖によって失われる予定の卵子を大量に生存させる可能性を検討しています。まず、顆粒膜細胞特異的な遺伝子発現を誘導する卵胞刺激ホルモンレセプター遺伝子のプロモーターを単離しました。現在、このプロモーター領域を使って、体外培養した顆粒膜細胞での遺伝子発現が行われるかどうか検討を行っています。

(5) 新しい食資源動物の形質転換方法の開発

形質転換ニワトリの作出に向けての基礎研究として、その射出精子をベクターとした外来遺伝子導入法を検討しています。精子をDNA溶液を含む形質転換試薬で処理した後人工授精させたところ、産卵された受精卵のうち約60%の初期胚に導入遺伝子が入り込まれていることが確認されました。一方、ニワトリの有用遺伝子を評価するための系として、ニワトリBリンパ球系で高頻度に起こる相同組換えを利用し、任意のニワトリ遺伝子を標的破壊することにより、その遺伝子の機能を調べる実験系を確立しました。この方法を用いて、有用な遺伝子を有する形質転換ニワトリの作出が可能になるものと期待されています。

3. 研究の体制等

期 間：1997年8月～2002年3月

構 成：遺伝子の単離・解析1名、形質転換動物関係2名の計3名がコアメンバーとなり、全体で9名が協力して研究を推進しています。

実施場所：近畿大学生物理工学部遺伝子工学科で研究を行っています。



形質転換生物を育てるための遺伝子実験施設（近畿大学）