

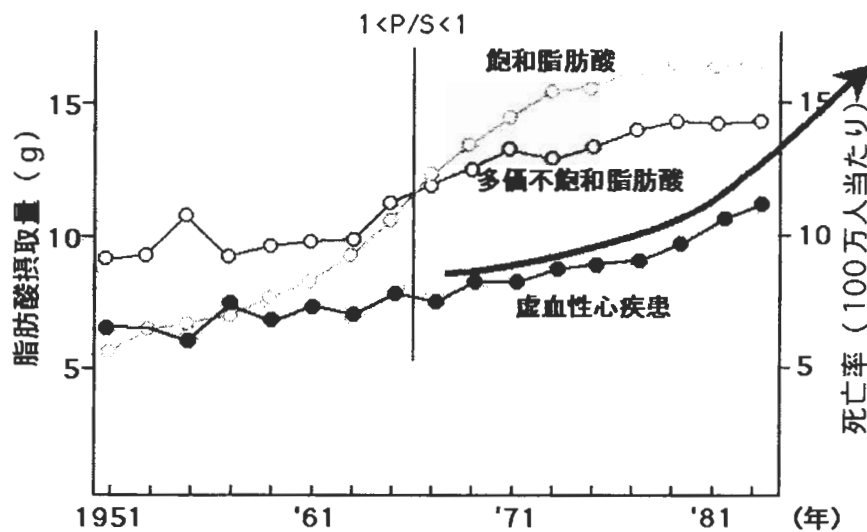
組換え動物性食品開発にむけて-ホウレンソウ由来 FAD2 導入ブタ におけるリノール酸レベルの上昇-

近畿大学生物理工学部遺伝子工学科
先端技術総合研究所
佐伯和弘

1. はじめに

21世紀を迎え、この地球上の人口は60億人を超え、2025年には80億人を突破すると予想されている。このことは、現時点での農業生産能力に頼る限り確実な食糧枯渇を意味している。最近、トウモロコシや大豆などの食用植物において、除草剤耐性や耐虫性などの生産性向上を目的とした遺伝子改変作物が商業目的で生産されるようになった。さらに、これらの目的に加え、耐寒性、耐塩性、耐乾燥性などの地球上の今まで生育できなかった環境に対応できる作物の作出に関する研究が進んでいる。このような地球規模的な食糧枯渇に対応する遺伝子改変作物が開発される一方で、先進国を中心とした飽食による生活習慣病の蔓延が問題視されている。日本においても、近年の食習慣の北米化傾向により、飽和脂肪酸が多く不飽和脂肪酸の少ないウシやブタなどの動物性脂肪を過剰に摂取することで冠動脈疾患や血栓性疾患の罹患率が上昇している（図1）。また、私たちの研究グループでは、今までの育種改良技術では解決できない食糧問題を遺伝子工学的手法による家畜の改変により達成できないかと考えている（図2）。

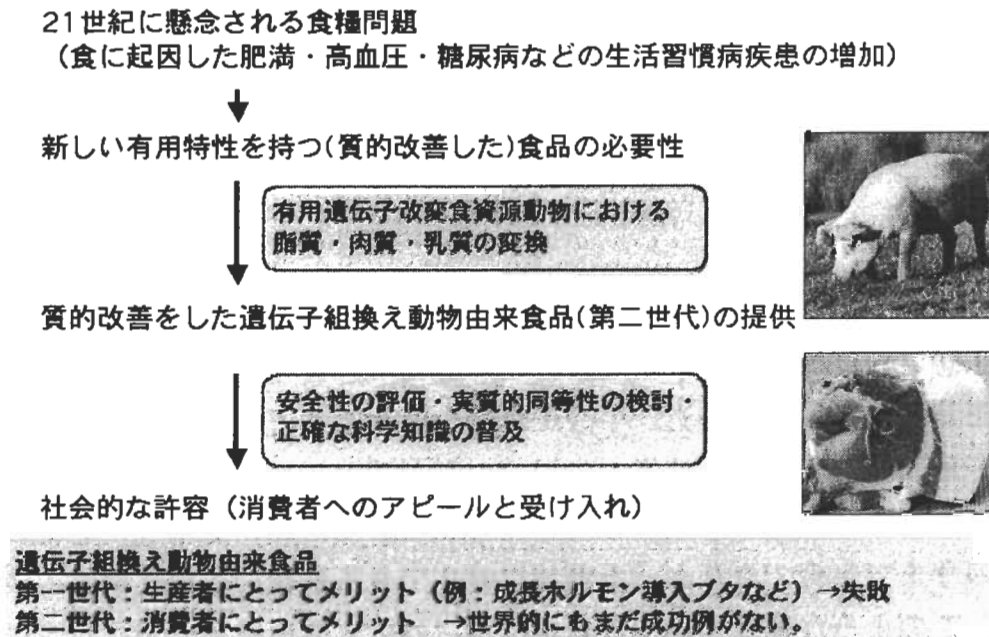
図1. 日本における脂肪酸摂取量と死亡率



(板倉ら, 第3回心臓血管薬物療法国際会議サテライトシンポジウム, 1989)

図 2.

「遺伝子工学による家畜の改良」の将来

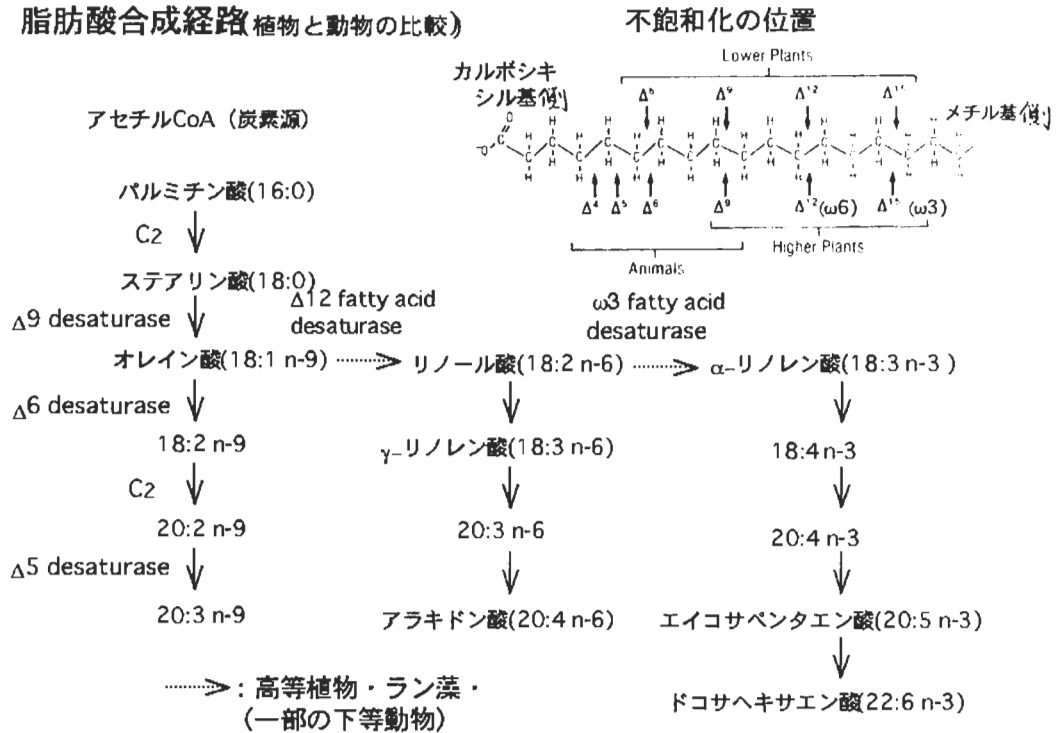


2. 脂肪を構成する脂肪酸

ウシやブタなどの畜肉を中心に食事をするデンマーク人には心筋梗塞で死亡する人が多いが、同じデンマークでも主に魚を食するイヌイットの人たちには心筋梗塞での死亡率が非常に低いことが知られていた。1960~70年代に行われた疫学的な調査の結果、イヌイットの人たちは、エイコサペンタエン酸(EPA, 20:5n-3)とドコサヘキサエン酸(DHA, 22:6n-3)といわれる高度不飽和脂肪酸を魚や海獣から多く摂取していたことが分かった。それでは、なぜウシやブタなどの陸生動物の脂肪には不飽和脂肪酸が少ないのだろうか。図3に脂肪酸合成経路を示した。ふつう、パルミチン酸(16:0)から、炭素鎖延長と不飽和結合の導入により、数多くの脂肪酸が合成される。哺乳動物には脂肪酸の $\Delta 5$ 、 $\Delta 6$ および $\Delta 9$ の位置に不飽和結合を導入する酵素活性があるため、オレイン酸(18:1)が生合成できる。しかしながら、 $\Delta 12$ ($\omega 6$) および $\Delta 15$ ($\omega 3$)の位置に不飽和結合を導入する酵素を欠いているため、リノール酸(18:2n-6)やリノレン酸(18:3n-3)等のn-6系およびn-3系脂肪酸を合成できない。そのため、ヒトを含む哺乳動物は、それらの脂肪酸を必須脂肪酸として食餌から摂取する必要がある。高等植物やラン藻、下等動物の線虫やゴキブリには、n-6系およびn-3系脂肪酸を合成できる酵素活性を有している。魚類や海獣に高度不飽

和脂肪酸が多いのは、それら動物自身が合成しているのではなく、植物プランクトンを原点とする食物連鎖の頂点にあるため、食事摂取により EPA や DHA などの高度不飽和脂肪酸をその体脂肪に多く蓄積しているためと考えられている。

図 3. 脂肪酸合成経路(植物と動物の比較)



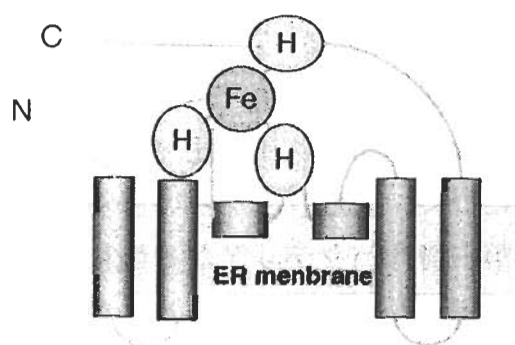
このイヌイットの食事と心筋梗塞との関連を示した研究結果をもとに、アメリカの高コレステロール血症の食餌療法指針では、飽和脂肪酸の多い動物性脂肪の摂取量を下げ、不飽和脂肪酸が多く含まれる植物性脂肪摂取量を増加させることが推奨されている。現状の技術では、肉類の摂取を控え、魚肉や植物性油の摂取を増やす以外に、多価不飽和脂肪酸摂取割合を増加させることは不可能である。しかしながら、その魚資源も近年の乱獲により枯渇が危惧されている。すでにイワシなどの大衆魚もすでにスーパーの店頭から消えかかっている有様である。今まで、家畜の脂肪中の多価不飽和脂肪酸含量を増大させるため多くの研究がなされてきた。ブタに常時大量に魚油を摂取させると脂肪組織中の多価不飽和脂肪酸含量が一過性に増大することが分かったが、魚の匂いが肉につく。またウシなどの反芻動物では不飽和脂肪酸含量の多い飼料を投与しても、第一胃内バクテリアが不飽和脂肪酸へ水素添加を行うため、多価不飽和脂肪酸含量はほとんど増大しないことが知られている。そこで私たちは、植物がもつ脂肪酸不飽和化酵素遺伝子を動物に導入することで、

体内でその遺伝子を発現させ、新規に不飽和脂肪酸を産生させることを考えた。

3. 植物由来脂肪酸不飽和化酵素遺伝子は哺乳動物で機能するか？

脂肪酸不飽和化酵素には、acyl-ACP 不飽和化酵素、acyl-CoA 不飽和化酵素、および acyl-lipid 不飽和化酵素の 3 種類が知られている。acyl-ACP 不飽和化酵素は、植物の葉緑体（あるいはプラスチド）のストロマに存在し、アシルキャリアータンパク質(ACP)と結合した脂肪酸を基質とし電子供与体としてフェレドキシンを利用している。acyl-CoA 不飽和化酵素は、動物、酵母および真菌にみられ、小胞体膜に結合したタンパク質で、補酵素 A(CoA)と結合した脂肪酸を基質とする。電子供与体としては、シトクロム b_5 を利用している。acyl-lipid 不飽和化酵素は、高等植物とラン藻に存在し、リン脂質などの極性脂質の脂肪酸を基質とする。この酵素は小胞体膜あるいは葉緑体膜に結合したタンパク質（図 4）で、電子供与体として、それぞれ、シトクロム b_5 あるいはフェレドキシンを利用する 2 種類が知られている。これら 3 種類の酵素は、基質特性が極めて高く、不飽和結合を導入する位置も極めて限定的であることが知られている。また、acyl-CoA 不飽和化酵素は、脂肪酸炭素鎖の $\Delta 9$ 位以降に不飽和結合を導入する酵素が存在しない。acyl-ACP 不飽和化酵素は電子供与体としてフェレドキシンを利用するため、動物細胞内では機能しないと考えられる。したがって、今回、私たちは植物の脂肪酸不飽和化酵素のうち動物と共通する小胞体膜結合型の acyl-lipid 不飽和化酵素を利用することを考えた。不飽和結合の位置としては、動物細胞が脂肪酸炭素鎖の $\Delta 9$ 位まで不飽和化させる酵素活性を有しているので、 $\Delta 12$ を不飽和化する acyl-lipid 不飽和化酵素(FAD2)を選択した。また、植物でも私たちが野菜として良く摂取するホウレンソウからこの FAD2 酵素の遺伝子を取得して用いた。

図 4. Spinach $\Delta 12$ acyl-lipid desaturase (FAD2:Fatty Acid Desaturation 2)



構造)

- ・鉄イオンと結合する3つのヒスチジン・ボックスを持ち、脂肪酸不飽和化酵素の触媒部位を形成している。
- ・ $\Delta 9,6,5$ desaturaseに見られるチトクロム b_5 ドメイン (HPGG) を持たない。

4. ホウレンソウ由来 *FAD2* 遺伝子のブタへの導入

ホウレンソウ由来 *FAD2* 遺伝子を導入する動物には、脂肪を多く蓄積し食肉として最も一般的なブタを選んだ。*FAD2* 遺伝子は、脂肪細胞で発現するように、脂肪細胞特異的プロモーターである adipocyte P2 (*aP2*)プロモーターと連結した融合遺伝子(*aP2/FAD2*)を用いた。図 5 に示すように、過剰排卵したブタから受精卵を回収し、受精卵前核に *aP2/FAD2* 遺伝子を注入し、直ちに受卵雌に移植した。これら受卵雌を分娩まで飼育し、産子を得たところ、数頭の遺伝子導入ブタが得られた。

図 5.

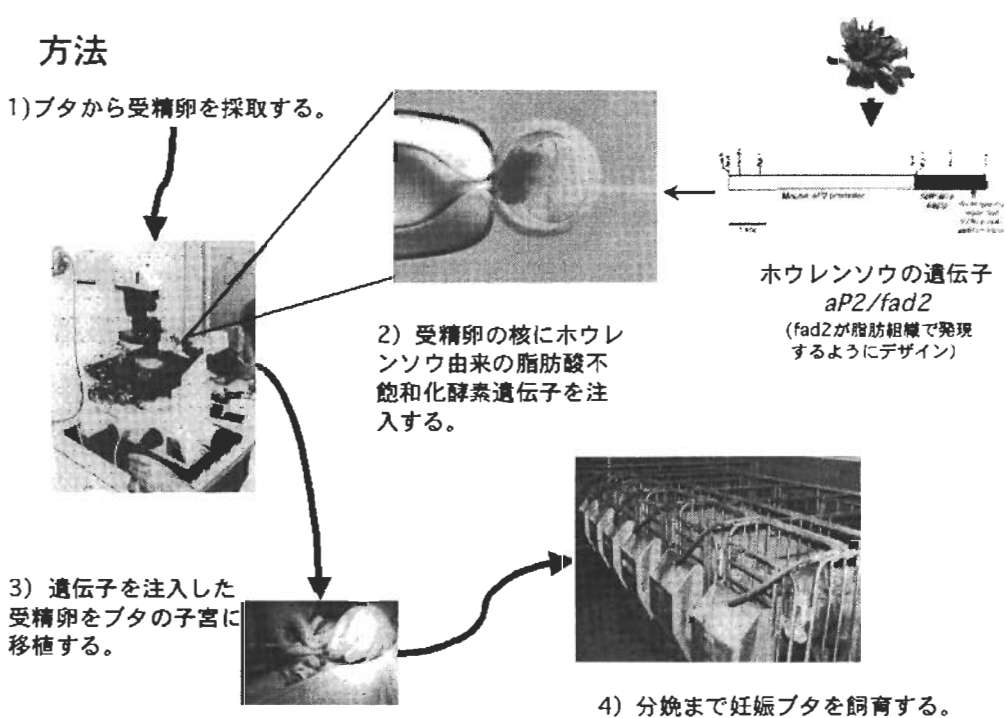
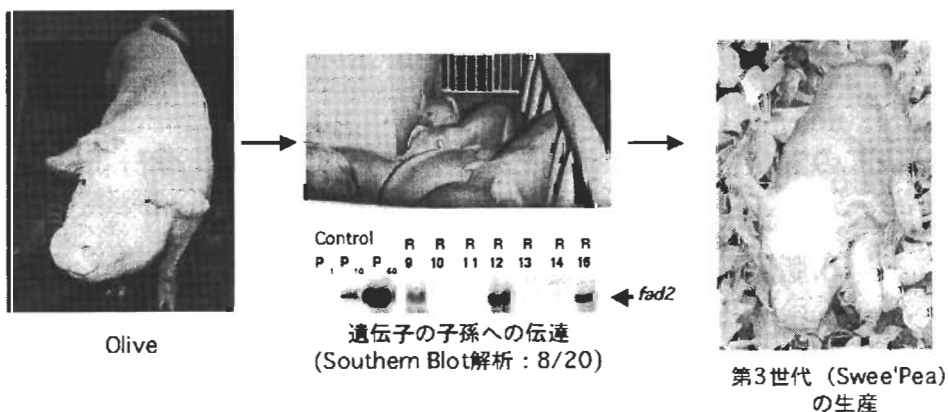


図 6. *FAD2*遺伝子の次世代への伝達



この *aP2/FAD2* 遺伝子導入ブタの発現解析の結果、発現が認められたブタから、次世代を生産して、遺伝子の機能的発現、すなわち、リノール酸が新規に生成されているかを調べた。ブタの脂肪を調べたところ、リノール酸含量が普通のブタに比べ、約 20% 多いことが分かった。その後培養細胞などで詳細な検討を進めたところ、この遺伝子導入ブタが、今まで哺乳動物が作れなかったリノール酸を体内で新規に合成することが明らかとなり、植物遺伝子が哺乳動物体内で機能することを世界で初めて実証した。

5. 今後の展開

それでは、このリノール酸を新規に合成するブタを家畜として生産し、私たちが食することが健康によいのだろうか。実はリノール酸は必須脂肪酸であるので必ず摂取しなければならないが、先進国では摂取過剰になっている。我々人類の文明は驚くべき進歩を遂げたが、動物種としてのヒトは太古の狩猟時代から生物学的にはほとんど進化していない。約 100-150 年前まで、人類はリノール酸やアラキドン酸などの n-6 系脂肪酸と α -リノレン酸、EPA や DHA などの n-3 系脂肪酸をほぼ等量ずつ摂取してきた。しかし、最近の農作物の改良による大量生産と搾油技術の進歩により、サラダ油に代表される陸生植物油が安価かつ大量に流通し、摂取できるようになってきた。ダイズやトウモロコシなどの陸生植物はリノール酸を含む n-6 系脂肪酸を高率に含有している。その結果、現在の人類は n-6 系脂肪酸を 150 年前の 20~30 倍も摂取している。この過剰摂取がアレルギー疾患などを引き起こしていると言われている。このことから、私たちの研究グループでは、脂肪に n-3 系脂肪酸を多く蓄積させた家畜を作れば、脂肪酸をバランス良く摂取できるようになり生活習慣病の予防に寄与できると考え多。現在、動物には存在しないもう一つの脂肪酸不飽和化酵素である ω 3 脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子 (*FAD3*) を家畜に導入することを計画している。しかし、私たちが目指すこのような食品生産を目的とした遺伝子導入動物の開発の過程では、次に述べるようないくつかのハードルを超える必要がある。

1. 植物遺伝子の動物体内での発現効率や酵素の基質特異性を向上させるような遺伝子のデザインを検討する。
2. 食としての安全性を確保するため、作製した動物の化学分析や実験動物への投与による安全性を検討する。
3. 高度不飽和脂肪酸は自動酸化しやすく種々の病気を引き起こす原因の一つで

ある活性酸素源でもあるので、ビタミンEなどの抗酸化剤の動物体内での生合成などを検討する。

生産性向上を目的とした遺伝子改変生物を第一世代とすれば、ここで述べてきた消費者の健康に寄与できる遺伝子改変生物は第二世代の遺伝子改変技術といえる。すでに、分解されるとビタミンAや抗酸化物質となるβ-カロチンを多く含むイネやオレイン酸を多く含むダイズが遺伝子組換え技術で商業的に生産され、消費されている。これら遺伝子改変食品の研究開発は、今までの品種改良技術と組み合わせることとで、食糧増産はもとより消費者の健康に寄与する食品を生産できると確信している。