

分泌性因子のプロテオミクス解析による 骨格筋細胞サイズ制御因子の探索

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所・主任研究員 尾嶋 孝一

■ 目的

食肉は家畜骨格筋が由来である。家畜飼養期間が長くなるほど食肉生産効率が悪化するため、家畜飼養期間を短縮し、効率的な食肉の生産技術を確立することは極めて重要な課題である。この課題を具体化するためには食肉の主体である家畜骨格筋肥大のメカニズムを解明することが必須となる。そこで、本研究では骨格筋細胞が分泌する因子に焦点を当て、その分泌性因子の中から骨格筋細胞のサイズ制御を調節する作用を持つ因子を見出すために、分泌性因子の発現プロファイルを作成することを目的とした。

■ 方法

培養骨格筋細胞が分泌するタンパク質/ペプチドの網羅的な同定および定量的な解析を差分質量分析法により行った。すなわち、増殖→分化→成長の各過程で骨格筋細胞が培養液中に分泌するタンパク質を回収し質量分析用に試料調製した。その後 Strong Cation Exchange カラム、および Reverse Phase カラムを用いることで二次元的に試料を分画した。MALDI TOF/TOF 型質量分析計を用いた MS および MS/MS の測定、タンパク質/ペプチドの同定、さらに発現プロファイルの作成を行った。

■ 結果および考察

質量分析計にて合計 8,814 本の MS/MS スペクトルを取得し、437 個のタンパク質/ペプチドを同定した。そして、骨格筋細胞が増殖→分化→成長の各過程で培養液中に分泌するタンパク質/ペプチドの発現プロファイルを作成した。同定されたタンパク質/ペプチドをその分子の局在部位で分類した結果、約 74% は本来細胞内に存在するタンパク質であった。本研究の目的である細胞外に分泌される分子は約 10% であった。この中で成長因子に関連する分子が 12 個、細胞外マトリックス構成成分が 7 個、タンパク質分解酵素を阻害する分子が 5 個、細胞接着・受容体関係が 6 個、Ca²⁺ 結合タンパク質が 3 個、その他が 5 個であった。細胞増殖期の発現量で各成長過程での発現量を標準化することで各成長段階の発現量の相対定量を行った結果、分化誘導以後に 2 倍以上の上昇を示す分泌性因子は 20 個であった。一方、0.5 倍以下の発現量を示す分子は 4 個のみであった。本研究で作成した骨格筋細胞の増殖→分化→成長段階の発現プロファイルにリストアップされた分泌性の因子は、骨格筋細胞の増殖あるいは分化・成長を促進する候補因子になる可能性を持つと考えている。

■ 結語

本研究では骨格筋細胞が分泌する因子に焦点を当て、骨格筋細胞の増殖・分化・成長の各過程において分泌されるタンパク質/ペプチドの網羅的かつ定量的な解析を行うことで発現プロファイルを作成した。同定した 437 個のタンパク質/ペプチドのうち、分泌性のものは 38 個であった。その内訳は成長因子、細胞外マトリックス、およびタンパク質分解酵素阻害剤でおおよそ 2/3 を占めていた。見出した分泌性因子の機能の詳細を今後検討する必要がある。