

ゲノムワイド関連解析を基にした食肉における 遺伝性肉質制御因子の解明

名古屋大学大学院生命農学研究科・准教授 灘野 大太

■ 目的

食肉の肉質は骨格筋を構成する筋繊維によって左右されることが知られているが、司る内因性因子については不明な点が多い。肉質は多数の因子の複雑な相互作用によって最終的に決まってくるものと推察される。このような複雑系の解析法としてゲノムレベルでの解析(GWAS)が進められている。商用食用豚における肉の品質について影響を与える因子についても GWAS が行われ有力遺伝子が報告されている。我々は乳腺発達に関する遺伝子の網羅的解析を進めてきた。この過程で同定された遺伝子のひとつは上記の食肉に関する GWAS を基にした有力遺伝子であった。これを我々の研究を畜産において新たに展開する好機ととらえ、この遺伝性因子を分子レベルで解明することとした。

■ 方法

対象遺伝子の翻訳産物の哺乳類細胞発現用ベクターを作製しベクターを細胞株へ導入した。目的タンパク質の発現を免疫ブロッティングにより確認した。蛍光免疫染色法により解析対象のタンパク質の細胞内局在を観察することとし、上記の発現ベクターを免疫ブロッティングの場合と同様に細胞へと導入した。遺伝子導入後 24 時間培養した細胞をパラホルムアルデヒドまたは冷メタノールを用いて固定した。F-アクチンには蛍光標識ファロイジン、他の細胞骨格についてもそれぞれに対する特異抗体を用いて検出した。蛍光染色像を共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。なお EGFP タグ付きタンパク質の場合には EGFP 由来の緑色蛍光を検出した。

■ 結果および考察

本遺伝子には、選択的スプライシングの違いにより二つのフォーム(ここでは A および B と呼ぶことにする)が翻訳産物として存在することがわかった。細胞内局在が本遺伝子の産物の機能および肉質との関連を解明する手掛かりになると考え、フォーム A およびフォーム B を培養細胞にそれぞれ発現させ蛍光顕微鏡観察を行った。いずれのフォームも繊維状の観察像を示したことから、細胞骨格との関連が推定された。フォーム A の発現細胞をアクチン重合阻害剤で処理して細胞観察を行なうと、同フォームが断片化された繊維のように観察された。F-アクチンを蛍光検出用に染めると、フォーム A および F-アクチンが共局在した。他方フォーム B についてはそのような局在は観察されなかった。さらに、二つのフォームを同時に細胞に導入して観察した結果二つのフォームは共局在した。今回の実験により翻訳産物のひとつであるフォーム A はアクチンと会合すると考えられた。またフォームの違いにより細胞内局在が一部異なることが示された。加えて両者の共発現細胞を含む観察結果から、フォーム A および B は二つのフォームに共通な領域を介して細胞内で相互作用して会合すると推測された。

■ 結語

アクチンとミオシンは筋肉の全タンパク質の約 70% を占めており、両タンパク質の結合強度が食肉の熟成と関連するなどアクチンの特性が味覚を大きく作用することが明らかになっている。このようにアクチンを含む細胞骨格とのその関連タンパク質は肉の品質管理という点から重要なタンパク質と考えられる。今回対象とした新規遺伝子の翻訳産物は細胞骨格結合タンパク質として 2 種類のフォームが相互作用しながらアクチンフィラメントに作用することが示唆された。この遺伝子のこうした細胞骨格関連の特性のさらなる解明により、食肉の味覚等品質向上への展開が期待される。