

学位論文要旨 Dissertation Abstract

氏名： 中辻 伸嘉
Name

学位論文題目： コラーゲン代謝関連遺伝子発現量を指標とした
Title of Dissertation マダイ肉の物性評価に関する研究

学位論文要旨：
Dissertation Abstract

マダイ (*Pagrus major*) は我が国の主要な養殖海産魚種である。一般的に刺身として食されることが多く、肉の歯ごたえ (物性) は重要な肉質評価の指標となる。魚肉の物性には筋肉中のコラーゲンが関与することが知られており、コラーゲン含量を分析することは肉質評価の重要な項目の1つである。しかし、同分析は抽出操作が煩雑のため手間がかかること、試料の必要量 (1-10 g以上) が多いことや筋肉組織内での結合組織の局在性によりばらつきが生じやすいこと等の問題点がある。そこで本研究では、コラーゲン代謝関連因子の遺伝子発現量に着目し、簡便かつ少量の試料で肉質評価が可能な新たな肉質評価手法の可能性について検証した。

コラーゲン代謝関連因子として Prolyl 4-hydroxylase (P4H) はコラーゲン合成に関与しコラーゲンに特異的構成アミノ酸であるヒドロキシプロリンを生合成する。一方、コラーゲン分解酵素として Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9)、内因性の MMPs 阻害因子として Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) が知られている。また、定量PCR (qPCR) を用い上記の遺伝子発現量を測定する際、十分な質のRNAを必要とする。しかし、現場養殖魚を対象とするとサンプリングの際、迅速にRNA抽出を行えず、操作中に同分子は分解する可能性がある。そのため、魚体筋肉RNAの分解動態を評価する必要がある。

第1章では、氷蔵したマダイの筋肉RNAの安定性を調べた。その結果、氷蔵した死後0及び5日の筋肉RNAのRNA Integrity Number (RIN)は8.0以上であり、RNAは安定であったが、死後10日のRIN値は4.3まで減少し、RNAが分解していることが示された。特定の遺伝子発現量 (TIMP-2及び β -actin) に関しても、上記同様に死後5日まで安定であったが、死後10日で減少し、RNAの分解が示された。このことから死後数日 (5日以内) 経過したマダイを対象としてもqPCRに供する質のRNAを抽出することができることが示された。

第2章では、養殖マダイを対象として肉の物性、筋肉コラーゲン含量及び同分子代謝関連遺伝子発現量を養殖業者及び季節間で比較し、それらの関連性について検討した。養殖業者A (RA) の肉の破断強度及び筋肉コラーゲン含量は養殖業者B (RB) のそれらと比べて有意に高い値を示した。RAではコラーゲン分解酵素であるMMP-9遺伝子発現量はRBと比べて有意に低い値を示した。一方、コラーゲン合成に関与するP4H α (I)及びMMP阻害因子であるTIMP-2遺伝子発現量においてはRAで高くなるとの想定に反して、RAでRBと比べて有意に低い値を示した。季節間比較に関しても成熟期と非成熟期の比較において破断強度及び筋肉コラーゲン含量とコラーゲン代謝関連因子群の発現様式の関連性は上記とほぼ同様の傾向がみられた。以上から肉の破断強度及び筋肉コラーゲン含量の高かったマダイ筋肉ではコラーゲン分解系 (負の効果) のMMP-9の遺伝子発現量が抑制されていると同時に正の効果を与えるはずのP4H α (I)及びTIMP-2の発現量も抑制されていることが示された。

第3章では、天然マダイ（和歌山県加太産：RK）及び養殖マダイ（高知県産：RC）を対象として肉の物性、筋肉コラーゲン含量、組織学的筋肉構造及び同分子代謝関連遺伝子発現量を比較し、それらの関連性について調べた。その結果、RKの肉の破断強度はRCのそれより有意に高い値を示した。従来から知られている破断強度と関係性がある筋肉中のコラーゲン含量はRKで高い傾向があったが、有意差はみられなかった。一方、組織学的観察からRKの筋繊維面積はRCのそれより有意に小さく、筋繊維の結合組織である筋内膜の網目構造が密であることが観察された。歯ごたえの良いRKでは筋肉での結合組織網目構造の密度が肉の破断強度に関与することが示唆された。RKの筋肉でP4H α (I)、MMP-9及びTIMP-2の遺伝子発現量は、RCと比べていずれも約2.6、19.3及び6.2倍と高い値を示した。RK及びRC間で肉の破断強度に顕著な差異がみられたにもかかわらず、筋肉コラーゲン含量は差異がみられず、RKのP4H α (I)、MMP-9及びTIMP-2遺伝子発現量はRCと比べて顕著に高い値を示した。この結果は第2章の養殖間での傾向とは異なった。

以上の結果より、氷蔵したマダイの筋肉RNAは死後5日間、安定であり、死後迅速にRNA抽出を行うことが困難な現場養殖マダイにおいても、遺伝子発現量を指標とした評価系に必要な質のRNAを容易に確保できることが示された。また、養殖マダイにおいてコラーゲン代謝関連因子の遺伝子発現量は肉の破断強度及び筋肉コラーゲン含量と関係性が明らかになり、同遺伝子発現量を指標とした新たな肉質評価手法の可能性が示された。一方で、筋肉コラーゲン含量が高く、歯ごたえの良いマダイ筋肉ではMMP-9の遺伝子発現量が抑制されていると同時に正の効果を与えるはずのP4H α (I)及びTIMP-2の発現量も抑制されていることが示された。また、天然マダイにおいて肉の破断強度には、筋肉のコラーゲン含量ばかりでなく、結合組織の密度も関与する。そのため、今後、本手法により高精度の結果を得るためには、コラーゲン代謝関連因子の遺伝子発現量のみならず、筋繊維形成に関与する因子を特定し、同因子の遺伝子発現量にも考慮する必要がある。