

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07714

研究課題名(和文) 豚肉を霜降り肉タイプにするマイクロRNAの同定

研究課題名(英文) Detection of miRNA associated with pork marbling

研究代表者

谷口 雅章 (Taniguchi, Masaaki)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・主任研究員

研究者番号：60531431

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：マイクロRNAは遺伝子発現量の調節に関わり細胞の増殖、分化、生合成ならびに代謝制御等を調節する。ブタの筋肉および脂肪組織の発達における遺伝子発現の制御にマイクロRNAが影響する可能性がある。そこで、遺伝的に赤身肉タイプまたは霜降り肉タイプの豚肉を生産する2系統のデュロック種雄豚に由来する交雑豚を用いて、筋肉組織の発達に関わる4種類のマイクロRNAを同定した。また発現遺伝子アレイ解析の結果、発現量変動が同定された遺伝子のうち6種類についてマイクロRNAにより発現調節を受ける標的候補遺伝子であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：To identify molecular markers which are associated with IMF content in pork carcass, we aimed to detect differentially expressed genes including functional genes and microRNA (miRNA) genes, and to investigate relationships of those in longissimus dorsi (LD) muscle. Pork carcasses were produced by Landrace and Large White crossbred sows mated with a novel Duroc strain producing highly marbled carcass. IMF content was measured using Soxhlet extraction apparatus. Simultaneous gene expression analyses were conducted using Agilent microarrays for 44K messenger-RNA (mRNA) specific to pig genome and 80K micro-RNA (miRNA) including all pig and human miRNAs available from public databases. The miRNA array detected four significant miRNAs which were all upregulated in High IMF carcasses. Additionally, six functional genes were detected as downregulated genes in High IMF carcasses. The result suggests that miR-373-5p might be available molecular marker to estimate IMF content of pork meat.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：遺伝子発現調節 マイクロRNA バイオマーカー 脂肪細胞分化 ブタ

1. 研究開始当初の背景

一般的な養豚では、繁殖性や保育能力に優れる大ヨークシャー種およびランドレース種を母系とし、肉質に優れるデュロック種を父系として掛け合わせることで肉豚を生産する。そのためデュロック種では肉質の重点を置いた育種改良が進められている。デュロック種の肉質を向上させる上で、筋組織における筋肉細胞および脂肪細胞の発達のバランスをいかにとることが重要な点である。欧米では赤身の多い豚肉生産が求められているが、我が国の食習慣では豚肉にも霜降りが求められている。近年、北米では日本向けに輸出するために霜降りのある豚肉が生産されている。国産の高品質豚肉を安定的に生産する為には、霜降り割合の高い豚肉を生産するデュロック種系統豚を開発・普及させることが必須である。

これまでに霜降り割合の高い豚肉を生産するための研究が進められて来た。遺伝学的研究では、DNA マーカーを用いて霜降り割合が6%を超える(一般的な豚肉は3%)特徴的な肉質を持つデュロック種系統豚が開発された。しかしながら霜降り生成の生物学的プロセスは明らかとなっていない。

2. 研究の目的

本研究では、豚肉の赤身肉タイプと霜降り肉タイプの違いを生む分子生物学的なメカニズムの解明を目指し、近年バイオマーカーとして注目されるマイクロRNA(miRNA: 遺伝子発現量の調節に関わると考えられている)に着目し、筋肉内脂肪含量との関連性を明らかにするため、霜降り割合のことなる枝肉中の筋肉組織より抽出したRNAを用いて網羅的な遺伝子発現量解析を行い、発現量に差異の認められるmiRNAおよび発現遺伝子を特定することを目的とした。さらに同定したmiRNAと発現遺伝子との関連性についても検討した。

3. 研究の方法

赤身肉タイプと霜降り肉タイプに含まれる筋肉および脂肪組織からRNAを抽出し、miRNAアレイを用いて発現量差のあるmiRNAを同定した。さらにブタ全発現遺伝子(miRNAを除く)を網羅するマイクロアレイ(発現遺伝子アレイ)アジレント社製のカスタム製品。ブタの1万6千種類に及び発現遺伝子に特異的

な4万4千プローブ搭載)を用いた発現遺伝子アレイ解析を行い、発現量変動を示した遺伝子を同定した(図1)。さらに、発現遺伝子のうち肉質タイプ間で有意な発現量差を認められたものに関して、miRNAの標的と考えられる遺伝子について、データベースを用いて検索を行った。

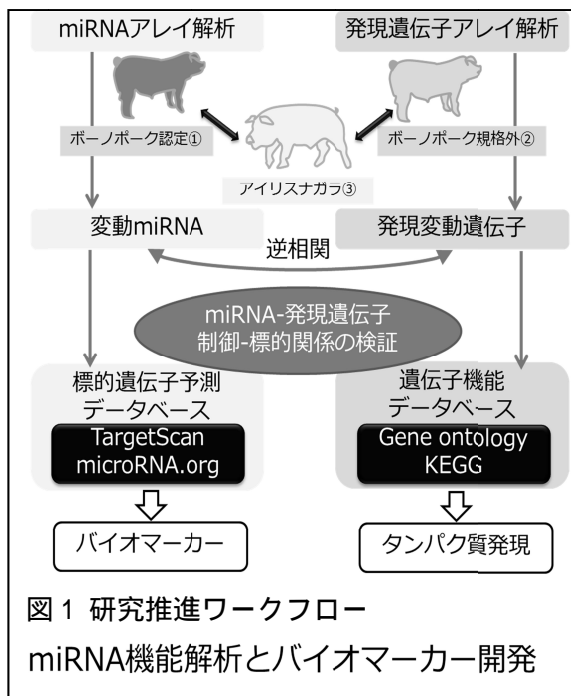


図1 研究推進ワークフロー
miRNA機能解析とバイオマーカー開発

4. 研究成果

赤身肉タイプと霜降り肉タイプの枝肉形質を比較した結果、筋肉内脂肪含量にのみ有意な差異が認められたが、ロース芯面積、背脂肪厚、肉色は肉質タイプ間で同程度の値を示した。miRNAアレイにより4種類のmiRNAを同定した。これらはいずれも霜降り肉タイプの筋肉組織において有意に高い発現量を示した。

一方、発現遺伝子アレイにより検出された遺伝子のうち6種類についてmiRNAの標的遺伝子と推定された。これら6遺伝子はいずれも霜降り肉タイプの筋肉組織において発現量が減少することが明らかとなった。特に、同定したmiRNAのうちmiR-373-5pは発現量が減少したSuperoxide dismutase-1(SOD1)遺伝子の発現量調節に関わる可能性があることを示唆した(表1-3)。この結果から、赤身肉タイプと霜降り肉タイプの筋肉組織間では、抗酸化作用に関する遺伝子の作用が異

なることが示唆された。

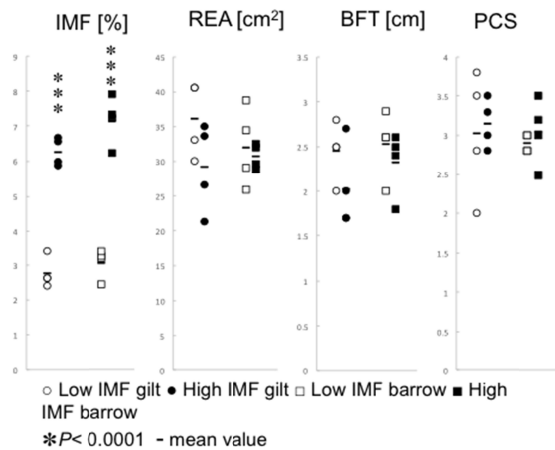


図2 肉質タイプ間の枝肉形質

表1 発現量に差異のあったマイクロRNA

miRNA gene	M	A	t	pval	adj.pval	fdr.pval
hsa-miR-1183	2.665	0.333	55.242	2.00E-05	0.01005	0.01005
ssc-miR-4331	2.079	0.039	21.254	0.00026	0.04934	0.04934
hsa-miR-718	1.795	-0.103	20.232	0.00029	0.04934	0.04934
hsa-miR-373-5p	1.991	-0.004	20.063	3.00E-04	0.04934	0.04934

表2 発現量に差異のあった発現遺伝子

Hs Symbol	Estimate	Std. Error	t_value	Pr(> t)
RPS24	-5.083	0.342	-14.871	1.54E-09
SOD1	-5.437	0.525	-10.365	1.19E-07
LHX8	-6.220	0.643	-9.672	2.64E-07
TMEM35	-6.877	0.761	-9.035	5.76E-07
FTH1	-3.603	0.418	-8.626	9.71E-07
ATP5J2	-3.760	0.442	-8.516	1.12E-06

表3 マイクロRNAと標的候補遺伝子の関係

miRNA	microRNA.org	miRDB	TargetScan
miR-1183	-	-	RPS24
miR-4331	-	-	-
miR-718	-	-	TMEM35
miR-373-5p	SOD1 LHX8	RPS24	RPS24 ATP5J2

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

Comparison of gene expression regulation in pork carcasses differing in intramuscular fat content.

Masaaki Taniguchi, Ikuyo Nakajima, Aisaku Arakawa, Go Yoshioka, Seiji Katoh, Kasumi Suzuki, Satoshi Mikawa. 4th Fatty Pig Science & Utilization International Conference. Badajoz, Spain, November 2017.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷口 雅章 (TANIGUCHI, Masaaki)
国立研究開発法人・農業食品産業技術総合
研究機構畜産研究部門・主任研究員
研究者番号：60531431

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()