

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580292

研究課題名(和文) 栄養処理による食肉呈味向上モデル家畜の呈味制御：遺伝子発現を用いた調節機構の研究

研究課題名(英文) Study of Regulation Mechanism of Meat Taste by Dietary Nutrients using mRNA expression analysis

研究代表者

藤村 忍 (FUJIMURA SHINOBU)

新潟大学・自然科学系・准教授

研究者番号：20282999

研究成果の概要(和文)：

食肉の高品質化の中で呈味の向上に対する期待は大きいですが、有効な情報は極めて不足している。本研究は、食肉高品質化のため、食肉呈味向上モデル動物のグルタミン酸(Glu)及び関連アミノ酸の代謝メカニズムを解析した。飼料のリジン(Lys)、分枝アミノ酸(BCAA)、タンパク質(CP)及びエネルギー(ME)量の短期間の調節により、筋肉遊離Glu量を増加させたモデル動物のGlu合成・分解酵素の遺伝子発現及び活性等の解析により筋肉でのLys代謝等に伴うGlu調節メカニズムの新たな知見を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

Regulation of meat taste is one effective method for improvement of meat quality. In this study, effects of dietary leucine (Leu), lysine (Lys), leucine (Leu), valine (Val), protein or energy level on taste-active components, especially free glutamate (Glu), and Glu relate enzyme activities and mRNA expressions were investigated. Broiler chickens (14 d old) were fed on diets with graded dietary components (protein, Lys, Leu: 100 or 150% of requirement, Val, Ile: 100 or 200% of requirement in NRC, 1994) for 10 days. Free Glu content, the main taste-active component of meat, was significantly increased by dietary high Lys, Val, Ile or protein. However, Leu decreased by dietary high Leu. The mRNA expression of glutaminase, glutamate dehydrogenase and glutamine synthetase were not changed by dietary amino acids, but glutaminase was reduced by high protein diet. Saccharopine dehydrogenase and lysine alfa-ketoglutarate were increased by high Lys diet. These results showed lysine degradation was conducted in muscle. While, regulate point of dietary BCAA might be BCAT or BCKDH in muscle. These results suggest that dietary Lys, BCAA and protein contents are a regulating factor of free Glu in muscle.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：畜産学・獣医学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・畜産学・草地学

キーワード：食肉、飼料、呈味、高品質化、アミノ酸、代謝、筋肉、遺伝子発現

1. 研究開始当初の背景

食肉の高品質化の中で呈味の向上に対する期待は大きい、有効な情報は極めて不足している。申請者はタンパク質量や一部のアミノ酸の相違が筋肉の呈味成分量を調節し、かつ分析型官能評価により呈味も向上させる可能性を得た。しかし門脈血中Glu濃度は食事Glu量の影響を受けないことや (Reeds et al, 1996)、肝臓等に比較して筋肉はタンパク質・アミノ酸代謝回転の非常に低い場とされ、本来筋肉でのアミノ酸代謝は非常に少ないとされ、呈味の変動レベルまでの影響はあり得ないと考えられていた。また食肉の呈味は熟成中の変化が主体とされ、飼料の影響は受けにくいことが過去に多数報告されてきた。しかし我々はアミノ酸代謝に関する栄養学的、生化学的手法を基礎として、最終的な食肉の呈味に影響する物質を調べることによってその可能性を検討した。そこで本研究は、呈味向上モデルを作出し、アミノ酸量、酵素活性、遺伝子発現レベルでの検討から、飼料によるGlu量の調節メカニズムを明らかにし、さらなる食肉の呈味向上の可能性を探った。

2. 研究の目的

動物栄養による肉質の制御の可能性を明らかにするため、基礎研究として以下を目的として研究を行った。

(1) 食肉高品質化のための食肉呈味向上モデルのGlu代謝メカニズムの解析
食肉呈味の変動モデル動物筋肉のGlu合成及び分解酵素の遺伝子発現及び活性の解析から、食餌成分による筋肉Glu量の調節メカニズムを明らかにする。

(2) 上記の解析を進めることにより、高品質食肉のための調節性アミノ酸を明らかにし、呈味向上のための飼料のアミノ酸バランスを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 飼料による食肉 Glu 増加モデル肉試料の調製

これまでに呈味性アミノ酸量の増加及び呈味向上モデルとして検討した、①飼料 Leu 量抑制及び他の BCAA 添加による呈味向上モデル、②飼料 Lys 量増加による呈味向上モデル、③飼料 CP 量増加による呈味向上モデル、④飼料 ME 量による呈味変化モデルを作出するため、飼料の①Leu 量、②Val 量、③Ile 量、④Lys 量、⑤CP 量、または⑥ME 量を調節した飼料を 14 または 28 日齢ブロイラーに短期間給与し、筋肉及び血漿試料を得て以下の検討

に供試した。Lys モデルでは肝臓、腎臓、小腸試料も採取し、組織特異性の検討に用いた。

(2) 飼料による食肉 Glu 増加モデルの Glu 代謝メカニズムの検討

(1) で作出したモデル CP 動物の筋肉について、Glu 及び他のアミノ酸量を定量し、次いで Glu 合成及び分解に関与する全ての酵素、Alanine transaminase, Asparagine transaminase (AST), Alanine transaminase (ALT), Glutamate dehydrogenase (GDH), Glutaminase (GA), Glutamine synthetase (GS) タンパク質の mRNA 遺伝子発現と Glu 量の相関解析を行った。GA は鶏組織の主体である腎臓型 GA のシーケンス解析に由来したプローブを用いた。

(3) 飼料アミノ酸調節による呈味向上モデルの Glu 代謝メカニズムの検討

CP 調節では、より短期間での飼料給与による Glu 濃度のフィードバック調節の可能性を、Glu、中間代謝物濃度、及び Glu 代謝関連酵素により検討するため、給与期間を 0、3、5、10 日として筋肉試料を調製し、遺伝子発現解析に供試した。作出した BCAA 及び Lys モデル動物の筋肉については、Glu 及びグルタミン (Gln) 量を定量し、次いで Glu 合成及び分解に関与する AST, ALT, GDH, GS タンパク質の mRNA 遺伝子発現と Glu 量の相関解析を行った。また Lys モデルについては、Lys の異化経路に注目し、肝臓代謝では主とされるサッカロピンの酵素 Lysine α ketoglutarate reductase (LKR), Saccharopine dehydrogenase 組織特異性を解析した。

4. 研究成果

食肉の呈味の高付加価値化を栄養学的に図るという従来にない新たな研究課題について筋肉での呈味物質での生合成と調節機構に注目して研究を進めた。

食肉の高品質化の中で呈味の向上に対する期待は大きい、有効な情報は極めて不足している。本研究は、食肉高品質化のため、食肉呈味向上モデル家畜のグルタミン酸 (Glu) 及び関連アミノ酸の代謝メカニズムを解析し、次いでメカニズムを考慮した食餌栄養調節による高品質食肉の作出を目的とする。飼料のリジン (Lys)、分枝アミノ酸 (BCAA) 及びタンパク質 (CP) 量の短期間の調節により、筋肉遊離 Glu 量を増加させたモデルブロイラーの Glu 合

成・分解酵素の遺伝子発現及び活性等の解析から筋肉 Glu 量の調節メカニズムを検討した。その結果として、高 Val、高 Ile、高 Lys、高 CP 飼料で筋肉 Glu の増加を得た。また低 ME で Glu は減少した。これらはいずれも食肉としての呈味に影響を与える変化量であった。低 ME では Glu 代謝の一部に影響が生じ、また高 CP では Lys 異化と GA の遺伝子発現に影響が見られ、高 CP 飼料給与時の調節因子として Lys の関与が大きいと推察された。一方、高 Lys 飼料では遊離 Glu が増加するとともに、サッカロピン系 Lys 異化が生じ、またピペコリン酸系及びカダベリンを経ての異化が同時に亢進する可能性を初めて見出した。次いで筋肉、肝臓、腎臓及び小腸を比較した結果、Lys による遊離 Glu 量の増加は筋肉で特異的に見られ、他組織では一定ないし減少を示した。サッカロピン系の LKR 及び Saccharopine dehydrogenase mRNA 発現はいずれの組織でも見られ、また高 Lys 条件で増加した。一方、解析により、筋肉 Glu 増加を示す高 Val 飼料については、BCAA 異化と糖代謝の一部に影響が見られた。つまり高 Lys 飼料とは異なり Glu 近傍の代謝への影響は少なく、特異的に糖代謝への影響が推察され、Glu 調節性という減少は同じであっても、Lys と Val の作用機序は大きく異なると推察された。

これら3年間の研究により得られた成果は、British Poultry Science、Animal Science Journal誌に発表した。また 55、56th International Congress of Meat Science and Technology 等及び国内学会において計14件の学会発表により成果の大部分を発表した。また肉質改良に関する研究会等において招待講演で発表を行った。

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2件)

- ① Hiroyuki Kobayashi, Atsushi Eguchi, Wataru Takano, Motoni Kadowaki, Shinobu Fujimura, Regulation of muscular glutamate metabolism by high-protein diet in broiler chicks, Animal Science Journal, 査読有、Vol. 82, No.1, 86-92, 2011.
- ② Mai Imanari, Motoni Kadowaki, Shinobu Fujimura, Regulation of Taste-active Components of Meat by Dietary

Branched-chain Amino acids -Application of Branched-chain Amino Acids Antagonism, British Poultry Science, 査読有、Vol. 49, 299-307, 2008.

[学会発表] (計14件)

- ① 渡邊 徹、荻原美波、門脇基二、藤村 忍、食肉コラーゲン及び物性に対する食餌性アミノ酸の影響、日本家禽学会春季大会、2011.
- ② Hiroyuki Kobayashi, Motoni Kadowaki, Shinobu Fujimura Effect of Low-Energy and Low Protein Diet on Muscle Free Glutamate Content, 56th International Congress of Meat Science and Technology. Jeju, Korea, 2010.
- ③ Hiroyuki Kobayashi, Wataru Takano, M. Asahiro Shibata, Motoni Kadowaki, Shinobu Fujimura, Dietary protein level changes the glutamate related enzymes mRNA expression in muscle, The 3rd International Symposium, Faculty of Agriculture, Niigata University: Sustainability in Food Production, Agriculture and the Environment in Asia, Proceedings, 2010.
- ④ Yuki Ito, Tetsukazu Matsumoto, Yuya Watanabe, Mai Imanari, Motoni Kadowaki, Shinobu Fujimura, Regulation of Meat Quality by Dietary Lysine and Arginine levels, The 3rd International Symposium, Faculty of Agriculture, Niigata University: Sustainability in Food Production, Agriculture and the Environment in Asia, Proceedings, 2010.
- ⑤ 伊藤友紀、門脇基二、藤村 忍、食餌性リジンによる食肉呈味向上メカニズムの研究、日本畜産学会第112回大会、2010.
- ⑥ 小林裕之、門脇基二、藤村 忍、食餌性チロシン給与による筋肉遊離グルタミン酸給与への影響、日本畜産学会第112回大会、2010
- ⑦ Hiroyuki Kobayashi, Motoni Kadowaki, Shinobu Fujimura, Effect of dietary protein level on meat quality and glutamate metabolism in breast muscle, 55th International Congress of Meat Science and Technology. Copenhagen, 2009.
- ⑧ Yuki Itoh, Motoni Kadowaki, Shinobu Fujimura, Effect of dietary lysine levels on taste active components of meat, 55th International Congress of Meat Science and Technology. Copenhagen, 2009.

- ⑨ 渡辺 徹、佐々木絵美、今成麻衣、河内秀実、門脇基二、藤村 忍、食餌性バリンによる食肉呈味成分の制御、日本畜産学会第 110 回大会、2009.
- ⑩ 河内秀実、今成麻衣、佐々木絵美、渡辺徹、門脇基二、藤村 忍、食餌性イソロイシン異化からみた筋肉遊離グルタミン酸の制御、日本畜産学会第 110 回大会、2009.
- ⑪ 小林裕之、高野 渉、柴田昌宏、門脇基二、藤村 忍、筋肉遊離グルタミン酸に対する低タンパク質および低エネルギー飼料給与の影響、日本畜産学会第 110 回大会、2009.
- ⑫ 伊藤 友紀、松本 哲和、渡邊 裕也、門脇基二、藤村 忍、食餌性リジンによる食肉呈味改善効果：Glu 代謝の組織特異性について、日本畜産学会第 110 回大会、2009.
- ⑬ 荻原美波、大島一郎、石本智愛、今成麻衣、工藤健一、西海理之、田畑正志、門脇基二、藤村 忍、食肉品質に対する食餌性プロリンの効果、日本畜産学会第 110 回大会、2009.
- ⑭ Hiroyuki Kobayashi, Atsushi Eguchi, Wataru Takano, Masahiro Shibata, Motoni Kadowaki, Shinobu Fujimura, Effect of High Protein Diet on Meat Quality and Glutamate Metabolism in Breast Muscle , XIII AAAP Asian Australian Animal Science Congress, Hanoi, Vietnam, 2008.

○取得状況（計 1 件）

名称：食肉中の遊離グルタミン酸量の増加方法及びそのための飼料
発明者：藤村忍、門脇基二、今成麻衣
権利者：新潟 T L O
種類：特許
番号：特許 4491527 号
取得年月日：22 年 4 月 16 日
国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://researchers.adm.niigata-u.ac.jp/rs/staff/?userId=895&lang=>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤村 忍 (FUJIMURA SHINOBU)
新潟大学・自然科学系・准教授
研究者番号：20282999

(2) 研究分担者

門脇 基二 (KADOWAKI MOTONI)