

黒毛和種繁殖雌牛における推定育種価および登録審査時の 体測値に対する産肉形質関連遺伝子の関連性

藤森祐紀・佐藤隆・高橋秀彰・小松正憲

Association of meat traits-related genes nucleotide polymorphisms and its genetic association with breeding value and body measurements at registration in Japanese Black cows

Yuuki FUJIMORI, Takashi SATO, Hideaki TAKAHASHI, Masanori KOMATSU

要約 FABP-4遺伝子は脂肪酸代謝に関連しており、72番目のイソロイシンをバリンに置換する一塩基多型が存在し、不飽和脂肪酸含量の違いに相関することが明らかにされている。また、NCAPG遺伝子は、442番目のイソロイシンをメチオニンに置換する一塩基多型が存在し、枝肉重量と密接に相関することが報告されている。そこで畜産試験場繫養繁殖雌牛の遺伝子型を調査した結果、FABP-4遺伝子では、I/I型とV/V型間で登録審査時における胸囲と胸深の体測値および枝肉重量と脂肪交雑の育種価に有意な差が認められた(I/I型>V/V型)。NCAPG遺伝子では、G/T型とT/T型間で登録審査時における胸囲と胸深の体測値に有意な差が認められた(G/T型>T/T型)。このことにより、FABP-4遺伝子やNCAPG遺伝子の一塩基多型を判定することにより、繁殖雌牛の審査時の体高や登録点数を推定することや推定育種価判明前に枝肉重量と皮下脂肪厚の遺伝的能力を推定することが可能であることが示唆された。

キーワード : FABP-4 遺伝子, NCAPG 遺伝子, 育種価

近年、ウシにおいても QTL 解析やゲノム解析が進み、多くの研究グループによって、黒毛和種の牛肉中の脂肪酸組成や枝肉重量など、産肉能力との関連性が期待される候補遺伝子の報告がなされている(1、2、3)。第14番染色体に位置する Fatty Acid Binding Protein-4 (FABP-4) 遺伝子は脂肪酸代謝に関連しており、72番目のイソロイシンをバリンに置換する一塩基多型 (SNP) が存在し、不飽和脂肪酸含量の違いに相関することが報告されている(4)。第6番染色体に位置する Non-SMC Condensin I

Complex, Subunit G (NCAPG) 遺伝子には、エクソン9に位置する442番目のイソロイシンをメチオニンに置換する一塩基多型 (SNP) が存在し、枝肉重量と密接に相関することが報告されている(5)。

これまで、産肉能力の評価として後代の枝肉成績のデータを用いた BLUP 法アニマルモデルによる育種価を利用しているが、育種価の算出は枝肉と血統の情報に基づくため、評価に時間を要してしまう。

そこで、繁殖雌牛の育種価の利用を補助するため、当场繫養牛を用いて、牛肉の産肉形質との関連性が

期待される FABP-4 と NCAPG の 2 遺伝子について、遺伝子型判定をおこない、その判定結果と育種価および登録審査時の体測値について関連性の検討をおこなった。

材料及び方法

(1) 試験供試牛

当场繁養繁殖雌牛で推定育種価が判明している牛 20 頭を用いた。

(2) DNA の調整

20 頭より、血液採血後、白血球を遠心分離し、定法に従いゲノム DNA を抽出した。

(3) 遺伝子型判定

FABP-4 遺伝子は Hoashi らの報告に基づき、PCR-RFLP にて判定した。増幅ターゲットを 72 番目のアミノ酸のイソロイシンをバリンに置換する一塩基多型とし、プライマーセット (FABP-4F/FABP-4R) を用い、Bio rad 社製 CFX connect™real time PCR を用いて増幅した。得られ PCR 産物 5u1 を制限酵素 (MnuCI) 10u/u1 にて処理後、2%アガロースゲルによる電気泳動を行い、切断の有無により遺伝子型を判定した。

NCAPG 遺伝子は、Eberleinらの報告に基づき、PCR-RFLP にて判定した。増幅ターゲットを 442 番目のイソロイシンをメチオニンに置換する一塩基多型の (1326T>G) 座位を塩基多型判定とし、プライマーセット 1 (NCAPG-F/NCAPG-R) を用い、Bio rad 社製 CFX connect™real time PCR を用いて増幅した。

得られた PCR 産物 5u1 を制限酵素 (Tsp509I) 10u/u1 にて処理後、3%アガロースゲルによる電気泳動を行い、切断の有無により遺伝子型を判定した。

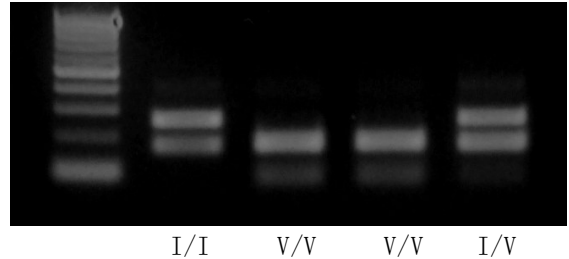


図1 RFLP法によりSNPsを判定した結果を示す写真である。I/I型は238と154bp、V/V型は154bpと67bpにバンド、I/V型は238bpと154bpと67bpにバンドが見られる。

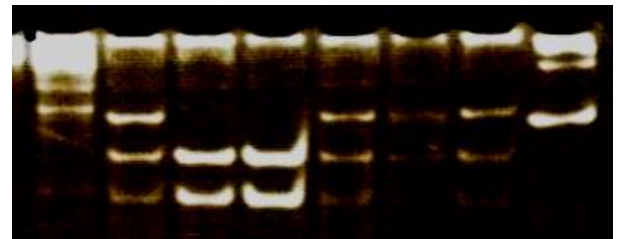


図2 RFLP法によりSNPsを判定した結果を示す写真である。G/G型は106bp、G/T型は106と61bpと45bpにバンド、T/T型は61bpと45bpにバンドが見られる。

表1 解析に使用したプライマーとPCRの条件

遺伝子	プライマー (F)	プライマー (R)	Tm値 (°C)	制限酵素
FABP-4	5' -AAAGGTAACATGGTTCAGATCTAGC - 3'	5' -CTAAGAAAGAGCAGGTGTGTGTGTG-3'	63	NmuC I
NCAPG	5' -ATTTAGGAAACGACTACTGG-3'	5' -ATTTGTATTCTTATTATCATC-3'	65	Tsp509I

結果

(1) FABP-4 遺伝子型判定

図1に制限酵素処理後のPCR産物の3%アガロースゲル電気泳動像の例を示した。繁殖雌牛20頭のFABP-4遺伝子の塩基多型はI/I型9頭、I/V型6頭、V/V型5頭であった。遺伝子頻度はI型：0.60、V型：0.40であった。I/I型を示す個体の登録審査時の胸囲および胸深の平均は各175.5cm、65.6cm、I/V型を示す個体のそれらは、170.3cm、64.0cm、V/V型を示す個体のそれらは、163.4cm、62.8cm、でI/I型とV/V型間個体で統計的に有意な差異(P<0.05)が認められた(表2)

I/I型を示す個体の枝肉重量および脂肪交雑の育種価の平均は各47.0kg、1.70、I/V型を示す個体のそれらは、42.1kg、1.7、V/V型を示す個体のそれらは、13.5kg、1.0、でI/I型とV/V型間の個体で統計的に有意な差異(P<0.05)が認められた(表3)

表2 遺伝子型と登録審査時の体測値の平均

遺伝子型	胸囲 (cm)	胸深 (cm)
I/I	175.5±7.3	65.6±2.5
I/V	170.3±7.9	64.0±2.5
V/V	163.4±6.0	62.8±1.9

体測値の平均±SDで表記

表3 遺伝子型と育種価の平均値

遺伝子型	枝肉重量 (kg)	ロース芯面積 (cm ²)	バラ (cm)	皮下 (cm)	歩留 (%)	脂肪交雑
I/I	47.0±15.4	12.4±4.6	0.6±0.2	-0.2±0.2	1.6±0.8	1.7±0.1
I/V	42.1±23.5	10.5±1.7	0.7±0.2	-0.2±0.1	1.5±0.3	1.7±0.1
V/V	13.5±34.4	8.0±2.8	0.4±0.5	-0.1±0.3	1.1±0.7	1.0±0.4

育種価の平均±SDで表記

(2) NCAPG 遺伝子型判定

図2に制限酵素処理後のPCR産物の2%アガロースゲル電気泳動像の例を示した。繁殖雌牛20頭のNCAPG遺伝子の塩基多型はG/G型1頭、G/T型8頭、T/T型11頭であった。遺伝子頻度はG型：0.25、T型：0.75であった。G/T型を示す個体の登録審査時の胸囲および胸深の平均は各174.5cm、65.2cm、T/T型を示す個体のそれらは、165.4cm、62.9cm、でG/T

型とT/T型との個体で統計的に有意な差異(P<0.05)が認められた(表4)。

G/T型示す個体とT/T型を示す個体では、育種価の値に有意な差は認められなかった(表5)。

推定育種価判明牛14頭の遺伝子型はAA型1頭、AC型6頭、CC型7頭であった。遺伝子頻度はA型：0.29、C型：0.71であった。繁殖雌牛でAC型を示す個体の枝肉重量および皮下脂肪厚の育種価の平均は各38.4kg、-0.22cm、CC型を示す個体のそれらは、-13.8kg、-0.50cmでAC型とCC型間個体で統計的に有意な差異(P<0.05)が認められた(表5)

表4 遺伝子型と登録審査時の体測値の平均

遺伝子型	胸囲 (cm)	胸深 (cm)
G/T	174.5±9.7	65.2±2.3
T/T	165.4±6.2	62.9±1.6

体測値の平均±SDで表記

表5 遺伝子型と育種価の平均値

遺伝子型	枝肉重量 (kg)	ロース芯面積 (cm ²)	バラ (cm)	皮下 (cm)	歩留 (%)	脂肪交雑
G/T	41.1±20.7	8.9±2.0	0.7±0.1	-0.1±0.2	1.2±0.5	1.5±0.3
T/T	23.6±34.7	10.9±5.2	0.4±0.4	-0.2±0.2	1.6±0.9	1.4±0.5

育種価の平均±SDで表記

考察

FABP-4 遺伝子の遺伝子型頻度はI型：0.60、V型：0.40であり、不飽和脂肪酸含量により大きな効果をもつ優良なI型遺伝子が多いことが明らかになった。遺伝子型頻度はHoashiら(4)も同様の報告をしている。NCAPG 遺伝子の遺伝子型頻度はG型：0.25、T型：0.75であった。枝肉重量により大きな効果をもつ優良なG型遺伝子が少ないことが明らかになった。またKobayasshiら(6)も同様の報告をしている。今回、FABP-4 遺伝子とNCAPG 遺伝子において、優良遺伝型を保有する個体は、登録審査時の胸囲と胸深の測定値が大きいことが明らかになった。さらに、FABP-4 遺伝子は遺伝子型と育種価の関連性があることが明らかになった(表3)。このことから遺伝子型情報を利用することで、本県黒毛和種集団の枝肉形質の遺伝的改良につながる事が

期待できる。

育種価は家畜の経済形質の能力を数値化したもので、家畜の改良はこれまで育種価や血統を参考にして進められてきた。しかし育種価が判明するまでに時間がかかるため、せつかく判明してもすでに死亡しているなど、すぐにこの育種価を使うことは出来ない。今回、繁殖雌牛の登録審査時の体測値や育種価と遺伝子型との関連がみられたことは、繁殖雌牛の体形などの種牛性が推定することが可能となり、さらに育種価判明前、生後すぐに枝肉重量や脂肪交雑の遺伝的能力を推定することが可能であることが示唆された。

今回、2遺伝子のみ塩基多型の検討をおこなったのみであったが、家畜の経済形質に関与する遺伝子は、現在判明しているものだけでも、多数あり、2遺伝子のみだけでは、遺伝的改良につながるものではないと考えられる。今後は他の遺伝子を組み合わせることで遺伝子型を判定していくことが家畜の改良に重要となると考えられる。

引用文献

- 1 Genotype of stearoyl-coA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. Taniguchi M, Utsugi T, Oyama K, Mannen H, Kobayashi M, Tanabe Y, Ogino A, Tsuji S. *Mamm Genome*. 2004 Feb;15(2):142-8.
- 2 Abe T, Saburi J, Hasebe H, Nakagawa T, Misumi S, Nade T, Nakajima H, Shoji N, Kobayashi M, Kobayashi E. 2009. Novel mutations of the FASN gene and their effect on fatty acid composition in Japanese Black beef. *Biochemical Genetics* 47, 397-411.
- 3 Komatsu M, Fujimori Y, Sato Y, Okamura H, Sasaki S, Itoh T, Morita M, Nakamura R, Oe T, Furuta M, Yasuda J, Kojima T, Watanabe T, Hayashi T, Malau-Aduli AEO, Takahashi H. 2010. Nucleotide polymorphisms and the 5'-UTR transcriptional analysis of the bovine growth hormone secretagogue receptor 1a (GHS-R1a) gene. *Animal Science Journal*, 81: 530-550.
- 4 Association between fatty acid compositions and genotypes of FABP4 and LXR-alpha in Japanese black cattle. Hoashi S, Hinenoya T, Tanaka A, Ohsaki H, Sasazaki S, Taniguchi M, Oyama K, Mukai F, Mannen H. *BMC Genet*. 2008 Dec 11;9:84.
- 5 Cross-breed comparisons identified a critical 591-kb region for bovine carcass weight QTL (CW-2) on chromosome 6 and the Ile-442-Met substitution in NCAPG as a positional candidate. Setoguchi K, Furuta M, Hirano T, Nagao T, Watanabe T, Sugimoto Y, Takasuga A. *BMC Genet*. 2009 Aug 4;10:43.
- 6 黒毛和種枝肉重量 QTL (CW-2) の責任候補遺伝子である NCAPG は、黒毛和種肥育牛の枝肉重量に影響を及ぼしている。NCAPG は枝肉重量形質に優れた種畜の選抜に有効な遺伝子マーカーとなり得る。小林直彦、松橋珠子、平野貴（畜技協動物遺伝研）、高須賀晶子（畜技協動物遺伝研）、杉本喜憲（畜技協動物遺伝研） 平成 22 年度「関東東海北陸農業」研究成果情報 畜産部会技術・参考