

豚の主要品種における SNP 多型とドリップ量との関連性の検証

武田 真城・飯塚 悟・板東 成治

要 約

養豚農家の収益性改善のため、豚肉の高付加価値化を目的に遺伝子を指標とした種畜選抜が注目されている。本研究では、多くの農家で飼養されている WLD または LWD の生産に用いられる大ヨークシャーおよびデュロックの肉質を遺伝的に改良する技術の開発を目指し、2 品種の 1 塩基多型 (SNPs) とドリップ量との関連を調査した。大ヨークシャー110 個体およびデュロック 187 個体を対象に、11 座位の SNPs について遺伝子型を判定した結果、大ヨークシャーでは 5 座位の SNPs において遺伝子型間でドリップ量に有意差が存在したが、デュロックでは遺伝子型間で有意差がある SNPs はなかった。大ヨークシャーにおいて、ドリップ量との関連が認められた SNPs のうち、*Sox6* および *CHL1*, *GRM8* に存在する SNPs はと畜後の pH に影響することでドリップ量に影響を与えている可能性がある。本研究でドリップ量との関連性が示唆された SNPs は、種畜選抜の指標とすることで、ドリップ量の少ない高品質な豚肉を生産するための有用な技術になり得ると考えられる。

目 的

養豚農家の収益性は、世界情勢の不安定化や円安による飼料価格の高止まりによって低下しており、豚肉の高付加価値化を図る技術の開発が求められている。近年では、豚肉の高付加価値化を図るため、飼料用米やエコフィードを用いた、特色ある豚肉の生産技術が開発されている¹⁾²⁾。一方で、飼料用米やエコフィードは、加工や給与に専用の設備が必要となる場合や、一定の経営規模でなければ飼料費が割高となる場合があり、全ての農家が利用できる技術とは言いがたい。

他方で、豚肉の高付加価値化を目的として、肉質に着目した豚群の遺伝的改良に関する研究が進められてきた³⁾。さらに近年では、肉質に関する形質の遺伝率が中程度であることから⁴⁾、より効率的な改良を図るために、遺伝子を指標とした選抜 (MAS : Molecular marker Assisted Selection) の知見も集積されている⁵⁾⁶⁾。種豚場において、遺伝的に改良した豚群を農家へ供給することができれば、

農家の設備や経営規模に関わらず高付加価値化により、収益性向上に寄与することが期待できる。

日本で生産されている豚の大部分は、大ヨークシャー (W) とランドレース (L) を掛け合わせた WL あるいは LW に、止め雄としてデュロック (D) を交配した WLD または LWD である⁷⁾。そのため、種豚場における肉質改良が、最も多くの農家に寄与するためには、大ヨークシャーおよびランドレース、デュロックを対象として改良を行うことが有効であると考えられる。

新居ほか (2024) は、ランドレースにおいて、アデノシンリン酸活性化プロテインキナーゼ (AMPK) $\gamma 3$ サブユニットをコードしている Protein kinase AMP-activated non-catalytic subunit gamma 3 (*PRKAG3*) 遺伝子内に存在する一塩基多型 (SNPs) が、豚肉の色およびドリップ量に影響を与えることを報告した。また、Wang *et al.* (2023) は、四元交雑豚 ([Duroc×Saba]×[Yorkshire×[Landrace×Saba]]) を対

象として、ドリップ量などの肉質形質に影響する可能性のある SNPs を複数報告した。しかしながら、SNPs の効果は品種や血統によって異なっている可能性が高く、改良対象とする豚群における形質と遺伝子型の関連性を検証する必要がある。

よって、本研究では、大ヨークシャーおよびデュロックを対象として、肉質との関連性が示唆されている SNPs の効果を検証する。これにより、新居ほか (2024) が報告したランドレースの改良技術と合わせて、日本の主要 3 品種の肉質改良技術を開発する。このような技術は、豚肉の高付加価値化を通じ、養豚農家の収益性向上に寄与すると考えられる。

材料および方法

1) ドリップ量の測定

平成 29 年度から令和 6 年度にかけて、畜産研究課から出荷した大ヨークシャー 110 個体およびデュロック 187 個体を対象として、第 5-6 胸椎間

でカットした枝肉のロース部位のうち、胸最長筋についてドリップ量を測定した。ドリップ量の測定は Kauffman *et al.* (1986) および新居ほか (2019) と同様の方法で行った。すなわち、胸最長筋に直径 55 mm の定量濾紙 (No.5A : ADVANTEC) を 5 分間貼り付け、貼り付け前後の濾紙重量から、濾紙吸着水分量を算出し、ドリップ量の指標とした。

2) SNP タイピング

Zhang *et al.* (2014) ならびに Wang *et al.* (2023)、新居ほか (2024) において、肉質関連形質への影響が示唆された 11 座位の SNPs について、TaqMan Probe を合成し (表 1)、リアルタイム PCR によってタイピングを行った。PCR 反応液の組成は、抽出 DNA 1 μ L, Thunderbird[®] Probe qPCR Mix (TOYOBO) 5.1 μ L, 50 \times Rox reference dye 0.2 μ L, Taqman Probe 0.03 μ L, 超純水 2.67 μ L とした。PCR の温度条件は、95 $^{\circ}$ C で 20 秒間加熱後、95 $^{\circ}$ C で 1 秒の熱変性、60 $^{\circ}$ C で 20 秒のアニーリングおよび伸長反応を 40 サイクル繰り返した。

表 1. ジェノタイピングした SNPs および使用したプライマー

SNP ID	染色体	遺伝子	アリル	プライマー配列	多型を示した品種
rs327708082	2	<i>SIL1</i>	G/A	5'-CAGGAATGAACCCAAGTATCCA-3' 5'-CAGTGAGGATCTGAGCCATGT-3'	固定
rs81358375	2	<i>Sox-6A</i>	T/C	5'-TCACCAATACTTTCTAACAAATGCAGAGG-3' 5'-GGTCAAGATGGATCGAAAGGGTTTT-3'	D ; W
rs321666676	2	<i>Sox-6B</i>	G/C	5'-GCTCAGACCTCTCAGTTGCA-3' 5'-ACTGCACATCTTCTCCCTGTTG-3'	W
rs337747094	3	<i>NA</i>	A/C	5'-ACCTCCTTACTACATTCTAGGCACAT-3' 5'-ACTCCACTGGGAAGAAGGTAAGT-3'	W
rs331296609	10	<i>PIP4K2A</i>	G/A	5'-CTTCCAGTTTGCCCATGTTTTCC-3' 5'-GATAAGCAAACAGGGAGCATCTGA-3'	固定
rs344980768	10	<i>PIP4K2A</i>	G/A	5'-GCCTAGTGCTGACAGCCT-3' 5'-AGGCCCTGATAAGCAAACAG-3'	固定
rs323693055	13	<i>CHL1</i>	T/C	5'-CTGGCACTTTGCATCTCTAATCATT-3' 5'-CCACAGTACGTTCCACATTATACA-3'	W
rs703586532	13	<i>CHL1</i>	T/C	5'-CTCCC GCGGCATATGGA-3' 5'-GAGCTGTGGTGTAGGTTGCA-3'	固定
rs693644154	15	<i>RPM2</i>	G/A	5'-AGGGTGGCTTGTGTCTTAAAAAT-3' 5'-GGCTGATAGGTCTAACGCCATAATC-3'	増幅なし
rs1108399077	15	<i>PRKAG3</i>	G/A	5'-TTCTTGCTGTCCCACAAAGGT-3' 5'-CCGCGCTCAGATCAAGAA-3'	D ; W
rs321002713	18	<i>GRM8</i>	T/C	5'-GATTGGTTGACGTGCTAGCTTATTT-3' 5'-GCTGTCACCTTGCCTCTCCAA-3'	D ; W

ドリップ量を測定した大ヨークシャー110 個体から31 個体を、デュロック187 個体から32 個体を無作為に抽出し、11 座位のSNPs について遺伝子型を判定した。いずれかの品種において、判定した全ての個体で単一の遺伝子型しか検出されなかった場合、その品種では該当するSNP について、遺伝子型が固定されているとみなし、以降の解析からは除いた。遺伝子型が固定されていない場合、その品種でドリップ量を測定した全ての個体について、遺伝子型を判定した。

3) 統計解析

遺伝子型間で生じたドリップ量の差について、有意性を検定する際には、統計ソフトR¹²⁾を用いて、検出された遺伝子型が2 種類の場合はt 検定を、3 種類の場合はTukey-Kramer 検定を行った。なお、rs321002713 およびrs1108399077 では、個体数が10 個体よりも少ない遺伝子型が存在し、Tukey-Kramer 検定の対象とするには不適であると考えられたため、t 検定も実施した。

結果および考察

多型が認められたSNPs は、大ヨークシャーで6 座位、デュロックで3 座位であった。また、rs693644154 では、増幅が確認できなかった。これらのうち、大ヨークシャーでは5 座位のSNPs において、遺伝子型間でドリップ量に有意差が認められ、rs337747094 では有意差が認められなかった(表2)。

表2. rs337747094 での比較

遺伝子型	個体数	ドリップ量 (mg)
C/C	179	264.8
C/A	11	234.4
A/A	0	NA

rs81358375 および rs321666676 における各遺伝子型のドリップ量を表3 および表4, 図1, 図2に示す。rs81358375 では、C/C, C/T, T/T の遺伝子型が検出され、C/C (187.5 mg) はT/T (277.4 mg) よりドリップ量が少なかった ($p < 0.05$)。また、rs321666676 でもG/G (215.5 mg) は、C/C (294.1 mg) およびG/C (269.5 mg) よりも有意にドリップ量が少なかった (C/C > G/G : $p < 0.05$, G/C > G/G : $p < 0.01$)。これらのSNPs は第2 染色体上のSRY-box transcription factor 6 (*Sox6*) 遺伝子に存在しており、*Sox6* は脊椎動物において筋繊維の分化に係る遺伝子である^{13); 14)}。速筋線維および遅筋線維は、と畜前の生化学的条件や環境条件に対する反応が異なっており、と畜後のpH も変化することが報告されている¹⁵⁾。筋肉を主に構成するアクトミオシンの保水性が最も低くなるのはpH が約5.0 時点であり、pH が低くなるほど、ドリップ量は増加する¹⁶⁾。したがって、rs81358375 およびrs321666676 における塩基置換が、*Sox6* が関与するセントラルドグマにおけるいずれかのプロセスに影響を及ぼしたことで、筋繊維に変化が生じ、遺伝子型間でドリップ量に差異が生じた可能性が考えられる。

表3. rs81358375 におけるドリップ量の比較

遺伝子型	W		D	
	個体数	ドリップ量 (mg)	個体数	ドリップ量 (mg)
C/C	15	187.5b	11	174.6
C/T	74	258.8ab	38	142.5
T/T	101	277.4a	113	158.8

*a-b: $p < 0.05$

表 4. rs321666676 での比較

遺伝子型	個体数	ドリップ量 (mg)
G/G	50	215.5a
G/C	80	269.5b
C/C	60	294.1b

*a-b: $p < 0.05$

rs323693055 の各遺伝子型が示したドリップ量を表 5 および図 3 に示す。rs323693055 では、C/C および C/T が検出され、C/T (192.7 mg) は C/C (275.8 mg) よりも、ドリップ量が有意に少なかった ($p < 0.01$)。rs323693055 は第 13 染色体上の Cell adhesion molecular L1-like protein (*CHLI*) 遺伝子に存在する SNP であり、*CHLI* は p53 シグナル伝達経路を介して細胞周期を制御するほか、ERK シグナル伝達経路を通じて細胞増殖を阻害する。また、インスリンの分泌およびグルコースの代謝にも関与している¹⁷⁾。筋肉中に蓄積されたグリコーゲンは、と畜後に乳酸へと変換されることで、筋肉中の pH が低下する¹⁸⁾。pH の低下はドリップ量の増加につながることから、rs323693055 における塩基置換によって、*CHLI* にコードされた遺伝情報が変化し、筋肉中に蓄積されるグリコーゲン量が増加したことを介して、遺伝子型間でドリップ量に差が生じた可能性がある。

表 5. rs323693055 での比較

遺伝子型	個体数	ドリップ量 (mg)
C/C	162	275.8a
C/T	27	192.7b
T/T	0	NA

*a-b: $p < 0.01$

rs321002713 における各遺伝子型のドリップ量を表 6 および図 4 に示す。rs321002713 では、Tukey-

Kramer 検定と t 検定のいずれを実施した場合でも、T/T (251.1 mg) のドリップ量が C/T (307.6 mg) よりも有意に少なかった ($p < 0.05$)。また、T/T の遺伝子型は検出されたものの、2 個体と少なかった。rs321002713 は、第 18 染色体に位置する Glutamate metabotropic receptor 8 (*GRM8*) に存在する SNP である。*GRM8* は G タンパク質共役型受容体をコードする遺伝子であり、*GRM8* 受容体を含むメタボトロピックグルタミン酸受容体のグループ III は、cAMP カスケードに関与して機能している^{19); 20); 21)}。cAMP カスケードは細胞内における多様な化学反応に関与しており、グリコーゲンの分解を含む代謝反応の調節も担っている。rs321002713 における塩基置換が、cAMP カスケードを介してグリコーゲンの分解に影響を及ぼすかどうかは不明であるが、Wang *et al.* (2023) は本 SNP がと畜 45 分後の pH に影響を及ぼすことを指摘している。これは、塩基置換に起因するグリコーゲン量の変化がと畜後の pH に影響を与えた結果である可能性があり、今後は rs321002713 における塩基置換が cAMP カスケードに与える影響を検証する必要がある。

表 6. rs321002713 におけるドリップ量の比較

遺伝子型	W		D	
	個体数	ドリップ量 (mg)	個体数	ドリップ量 (mg)
C/C	2	388.0	4	203.3
C/T	38	307.6a	61	158.8
T/T	149	251.1b	96	152.1

*a-b: $p < 0.05$

rs1108399077 における各遺伝子型のドリップ量を表 7 および図 5 に示す。第 15 染色体上の *PRKAG3* に存在する rs1108399077 では、デュロックでも t 検定を行った場合に、G/A (153.1 mg) のドリップ量が G/G (177.4 mg) よりも少ない傾向があった ($p < 0.1$)。しかしながら、大ヨークシャーでは、Tukey-

Kramer 検定と t 検定のいずれを実施した場合でも、G/G (240.9 mg) は G/A (319.6 mg) よりドリップ量が有意に少なかった ($p < 0.01$)。新居ほか(2024)がランドレースにおいて、ドリップ量が少ないことを報告した遺伝子型は G/A であり、デュロックの結果と整合的である一方で、大ヨークシャーは逆の結果であった。rs1108399077 では G アリルが A アリルへと置換されることでアミノ酸がバリンからイソロイシンへと変化し、イソロイシンの場合にドリップ量が少なくなることが報告されている^{22); 23)}。rs1108399077 は *PRKAG3* 内に存在する SNP であることから、組換えによって遺伝子の効果が変わったとは考えにくい。本研究において、デュロックでは、ドリップ量に影響を与える可能性のある SNPs は rs1108399077 以外には存在しなかった一方で、大ヨークシャーでは複数の SNPs において効果が認められた。そのため、少なくとも本研究課の豚群では、大ヨークシャーにおいてドリップ量に複数の遺伝子が影響を与えている可能性があり、各遺伝子がドリップ量に対して及ぼす影響力の大きさの違いによって、大ヨークシャーとデュロックでは異なる結果となったのかもしれない。また、環境要因も影響を与えている可能性があることから、今後は複数の遺伝的要因および環境要因を含めた解析によって、各要素の効果の大きさを推定していく必要がある。

本研究では、大ヨークシャーおよびデュロックの肉質改良技術を開発することを目的として、ドリップ量と SNPs との関連性を検証した。その結果、大ヨークシャー5 座位、デュロックでは 1 座位の SNPs において、遺伝子型間でドリップ量が異なっていた。これらのうち、rs1108399077 では、大ヨークシャーにおける遺伝子型の効果が、新居ほか(2024)を初めとする複数の先行研究^{22); 23)}とは異なっていたことから、種豚選抜の指標とするには更なる検証が必要である。一方で、その他の SNPs は種豚選抜を行う際の指標として活用が可能であり、これらの SNPs を指標として選抜を行うことで、ドリップ量を低減した高品質な豚肉を生産する豚群を作出できると考えられる。

表 7. rs1108399077 でのドリップ量の比較

遺伝子型	W		D	
	個体数	ドリップ量 (mg)	個体数	ドリップ量 (mg)
GG	135	240.9a	90	177.4c
GA	52	319.6b	88	153.1d
AA	3	281.3	9	118.3

*a-b: $p < 0.01$; c-d: $p < 0.1$

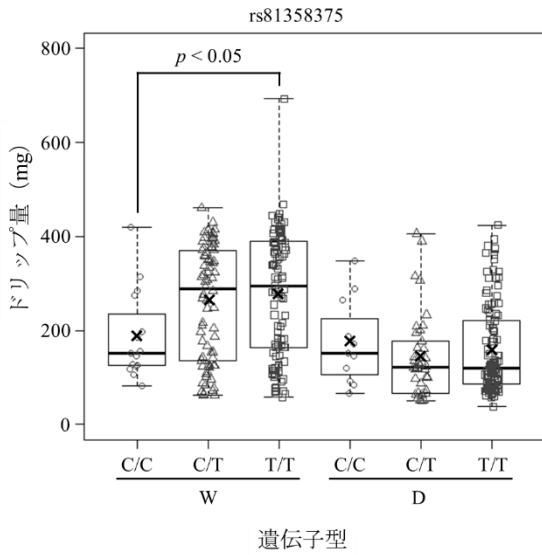


図 1. rs81358375 でのドリッ量の比較

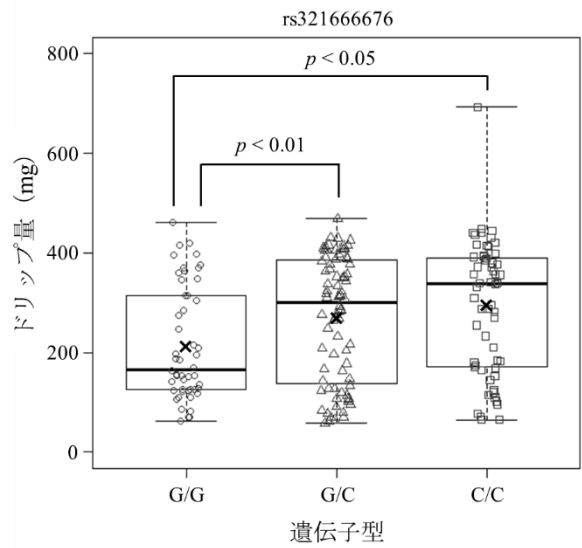


図 2. rs32166676 でのドリッ量の比較 (W)

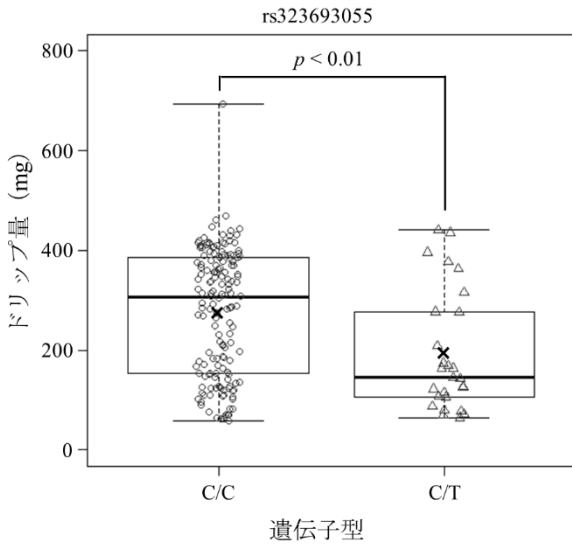


図 3. rs323693055 でのドリッ量の比較 (W)

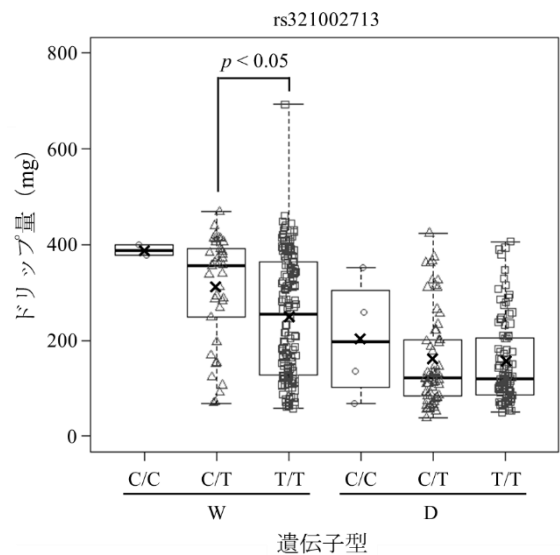


図 4. rs321002713 でのドリッ量の比較

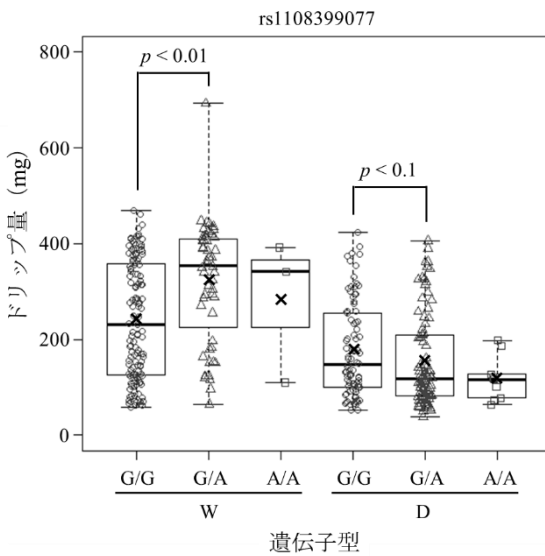
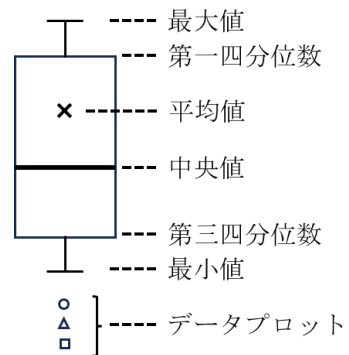


図 5. rs1108399077 でのドリッ量の比較



文 献

- 1) 中島郁世・佐々木啓介・青沼達也・成田卓美・渡邊源哉・本山三知代・八日市屋敏之・斎藤真二・山口弘道・草佳那子・木村俊之 (2020). 慣行肥育とトコトリエノール高含有飼料用米「オオナリ」給与肥育における豚肉質の保存性の比較. 日豚会誌 57(1): 1-13.
- 2) 山下洋治・田淵賢治 (2012). 乾燥オリーブ搾油残さ 10%添加飼料が肥育豚の発育と肉質に及ぼす影響. 香川畜試報告 47: 16-20.
- 3) 青木 圭・櫛淵隆之・湊 和之 (2006). BLUP 法アニマルモデルを用いた種豚の選抜改良—遺伝的パラメーター t 育種価の推定—. 群馬畜試研報 13: 47-51.
- 4) Khanal, P., Maltecca, C., Schwab, C., Gray, K., Tiezzi, F. (2019). Genetic parameters of meat quality, carcass composition, and growth traits in commercial swine. *J. Anim. Sci.* 97: 3669-3683.
- 5) Zhang, R., Große-Brinkhaus, C., Heidt, H., Uddin, J., M., Cinar, U., M., Tesfaye, D., Tholen, E., Looft, C., Schellander, K., Neuhoﬀ, C. (2015). Polymorphisms and expression analysis of *SOX-6* in relation to porcine growth, carcass, and meat quality traits. *Meat Science* 107:26-32.
- 6) Gao, G., Gao, N., Li, S., Kuang, W., Zhu, L., Jiang, W., Yu, W., Guo, J., Li, Z., Yang, C., Zhao, Y. (2021). Genome-wide association study of meat quality traits in a three-way crossbred commercial pig population. *Frontiers in Genetics* 12: 1-14.
- 7) 赤池洋二・家入誠二・小磯 孝・佐藤正寛・林洋一・三上仁志・分部喜久男 (2009). 特集 我が国における豚改良の現状と課題. 畜産技術 7: 2-27.
- 8) 新居雅宏・武田真城・八木智子 (2024). 豚の *PRKAG3* 遺伝子における SNP 多型と肉質形質との関連性. 徳島畜研報 23: 29-32.
- 9) Wang, H., Wang, X., Li, M., Sun, H., Chen, Q., Yan, D., Dong, X., Pan, Y., Lu, S. (2023). Genome-wide association study reveals genetic loci and candidate genes for meat quality traits in a four-way crossbred pig population. *Frontiers in Genetics*: 1-14.
- 10) Kauffman, R., G., Eikelenboom, G., van der Wal, P., G., Merkus, G., Zaar, M. (1986). The use of filter paper to estimate drip loss of porcine musculature. *Meat Science* 18(3): 191-200.
- 11) 新居雅宏・飯塚 悟・杓谷洋一・才力慎也 (2019). 豚肉の品質評価方法に関する研究. 徳島畜研報 18: 31-36.
- 12) R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- 13) Hagiwara, N. (2011). Sox6, Jack of all trades: A versatile regulatory protein in vertebrate development. *Developmental Dynamics* 93(3): 1311-1321.
- 14) Quiat, D., Voelker, A., K., Pei, J., Grishin, V., N., Grange, W., R., Bassel-Duby, R., Olson, N., E. (2011). Concerted regulation of myofiber-specific gene expression and muscle performance by the transcriptional repressor *Sox6*. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 108(25): 10196-10201.
- 15) Karlsson, H., A., Klont, E., R., Fernandez, X. (1999). Skeletal muscle fibres as factors for pork quality. *Livestock Production Science* 60(2-3): 255-269.
- 16) Kim, W., T., Kim, W., C., Yang, R., M., No, R., G., Kim, W., S., Kim, I. (2016). Pork quality traits according to postmortem pH and temperature in

- Berkshire. Korean J. Food Sci. An. 36(1): 29-36.
- 17) Jiang, H., Liu, Y., Qian, Y., Shen, Z., He, Y., Gao, R., Shen, M., Chen, S., Fu, Q., Yang, T. (2020). *CHLI* promotes insulin secretion and negatively regulates the proliferation of pancreatic β cells. Biochemical and Biophysical Research 525(4): 1095-1102.
- 18) Przybylski, W., Monin, G., Kocwin-Podsiadta, M., Krzeczio, E. (2006). Glycogen metabolism in muscle and its effects on meat quality in pigs – a mini review. Pol. J. Food Nutr. Sci. 15/56(3): 257-262.
- 19) Nakanishi, S. (1994). Metabotropic glutamate receptors: Synaptic transmission, modulation, and plasticity. Neuron 13(5): 1031-1037.
- 20) Duvoisin, M., R., Zhang, C., Ramonell, K. (1995). A novel metabotropic glutamate receptor expressed in the retina and olfactory bulb. The Journal of Neuroscience 15(4): 2075-3083.
- 21) Nakanishi, S. (1992). Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. Science 258(5082): 597-603.
- 22) Ryan, T. M., Hamil, M., R., M’OHalloran, A., Davey, C., G., McBryan, J., Mullen, M., A., McGee, C., Gispert, M., Southwood, I., O., Sweeney, T. (2012). SNP variation in the promoter of the *PRKAG3* gene and association with meat quality traits in pig. BMC Genomic Data 13(66).
- 23) Uimari, P., Sironen, A. (2014). A combination of two variants in *PRKAG3* is needed for a positive effect on meat quality in pigs. BMC Genetics 15(29).