

豚の *PRKAG3* 遺伝子における SNP 多型と肉質形質との関連性

新居 雅宏・武田 真城・八木 智子

要 約

Protein kinase AMP-activated non-catalytic subunit gamma 3 (*PRKAG3*) 遺伝子は、骨格筋のエネルギー代謝に重要な役割を果たすタンパク質であるアデノシンーリン酸活性化プロテインキナーゼ (AMPK) γ 3 サブユニットをコードしており、豚では第 15 染色体後方に座位している。本研究では、ランドレースを対象に *PRKAG3* 遺伝子内の複数の SNP と肉質の関連性について検討した。

結果、rs1108399077, rs431825276 及び rs431825275 で SNP の組合せにより形質に差がみられ、特に rs1108399077 は G/A と G/G 間にドリップ量に関する差がみられ ($P < 0.05$)、G/A の SNP を持つ豚群でドリップ量が少ない優れた肉質を示した。この SNP は、A の頻度が低いため、肉質に関する改良の指標として有効な SNP であることが示唆された。

目 的

食肉の美味しさは、肉の硬さ柔らかさ等の物性とアミノ酸、脂肪酸等の呈味成分及び香りの風味等から構成されており、いずれも美味しさに関して重要な因子である¹⁾。豚肉の部位の中でも最も商品価値の高い胸最長筋は、単一の筋肉としては最も大きな筋肉であり、肉質の良否は概ねこの筋肉から食肉へと変換された肉質をもって評価される。豚の胸最長筋は、牛に比べ肉色が淡く、軟質で滲出性のある、いわゆる PSE (Pale Soft Exudative) 肉の発症頻度が高く、暑熱環境下のと畜により、発症の増加と症状の深刻化を招くことが知られている²⁾。PSE の原因遺伝子の 1 つとして、リアノジンレセプター (*RYR1*) が広く知られており³⁾、遺伝子判定により豚群からの排除が行われてきた。しかしながら、その後も PSE 症状を示す豚肉は、一定の頻度で存在し、また、肉の色調は普通であるものの、肉汁 (ドリップ) が多く食味に劣る RSE (Reddish Soft Exudative) 肉の発生頻度が近年、高いことが報告⁴⁾されており、肉質に特徴を持つブランド豚ではその発生の抑制が課題

となっている。

アデノシンーリン酸活性化プロテインキナーゼ (*AMPK*) は、グルコースの細胞内取り込み、グリコーゲン合成等に関わる酵素で *PRKAG3* 遺伝子によってコードされ、主に白色筋線維と呼ばれる骨格筋線維に発現する⁵⁾。豚の *PRKAG3* 遺伝子における変異は、肉のドリップ量に関与することが報告された (R200Q)⁶⁾。しかしながら、その変異は、ハンプシャー種特異的に存在する変異でそれ以外の品種では検出されていない。その後、*PRKAG3* 遺伝子における 4 つの非同義置換 (T30N, G52S, L53 及び I199V) が一般的な品種で肉質と関連性のある SNP として報告された⁷⁾。そこで、本研究では、広く普及しているランドレースにおける *PRKAG3* 遺伝子内の SNP と肉質の関連性について検討した。

材料および方法

1) 形質の測定

2020 年 11 月～2023 年 10 月に 110 頭のランドレースを対象に既報⁸⁾による各種形質の測定を実施した (表 1)。

2) SNP タイピング

7 座位の SNP について、TaqMan プローブを合成し、THUNDER BIRD[®] qPCR Mix (TOYOBO Life Science) による PCR 反応をリアルタイム PCR (Step One Plus, Thermo Fisher Scientific) により実施した。使用した SNP の一覧を表 2 に示した。反応条件は、95℃20 秒、95℃1 秒-60℃20 秒を 40 サイクル、25℃30 秒で行った。

3) 統計処理

SNP の検定は、統計ソフト R⁹⁾ を用いて各 SNP 型を t 検定または分散分析の多重検定により比較した。

表 1 測定形質のまとめ

形質	n	平均	S.D.
出荷日数	110	183.7	15.68
出荷体重,kg	110	113.5	8.70
1 日平均増体重,g	110	678.3	60.3
PCS ^{*)} .	110	4.06	1.03
しまり ^{*)} .	110	2.09	1.27
マーブリングスコア ^{*)} .	110	2.52	0.69
ドリップ,mg	110	237.24	116.6
L*	110	55.93	5.47
a*	110	6.47	1.58
b*	110	10.82	1.93
700nm	110	42.18	10.06
L*(30 分後)	110	56.16	5.78
a*(30 分後)	108	8.76	2.18
b*(30 分後)	108	13.25	2.50
700nm(30 分後)	108	42.59	10.59

^{*)}PCS: 豚標準肉色模型より, しまり: 肉のしまりの程度を 5 段階(低いほど, しまりの良い肉), マーブリングスコア: NPPC モデルを基準にいずれも視覚により判定

表 2 使用した SNP

SNP 名	位置	SNP の効果
rs319678464	120, 861, 741	Intron variant
rs1108399077	120, 863, 487	missense
rs431825276	120, 864, 570	missense
rs431825275	120, 864, 579	missense
rs711900391	120, 864, 822	missense
rs45432518	120, 865, 242	missense
rs320683948	120, 865, 828	missense

結果および考察

7 個の SNP のうち, rs711900391 及び rs320683948 は本研究に用いた豚群では多型を示さなかった (表 3)。

表 3 検出された SNP

SNP 名	SNP の組合せと頻度 (%)		
rs319678464	C/G (9. 1)	G/G (90. 9)	
rs1108399077	A/G (14. 5)	G/G (85. 5)	
rs431825276	C/C (71. 8)	T/C (28. 2)	
rs431825275	A/A (72. 7)	A/G (27. 3)	
rs711900391	G/G (100. 0)		
rs45432518	G/G (2. 7)	G/T (53. 6)	T/T (43. 6)
rs320683948	C/C (100. 0)		

肉質の重要な指標となるドリップ量について, rs1108399077 において A/G と G/G 間に差がみられ, A/G が A/A に対して有意に低い結果となった (P<0.05)。また, 豚標準肉色模型を参考に視覚により評価した Pork Color Standard (PCS) では, 有意に高く, 逆にしまりでは低い結果となった (表 4, 図 1)。PCS は高いほど, 濃い赤色を示し, しまりは肉のドリップ量, カット面の膨張度を加味して視覚により判定した値であり, 低いほどドリップが少なく, しまった肉を示す。よって, A/G が G/G に比べ, 肉色は赤く, しまりのある肉を示した。ポータブル分光光度計による肉色の測定では, 最長筋の切断直後あるいは約 30 分間発色後の L*, b* 及び 700nm 波長についていずれも A/G が低くなる傾向がみられ, 発色後の b* に有意差がみられた (P<0.05)。L*, b* 及び 700nm の波長は, 低いほど視覚には濃く赤い色と認識されることから, PCS の結果を裏付けるものである。

rs1108399077 は, ミスセンス変異であり, アミノ酸非同義置換の SNP であり, A がイソロイシン, G がバリンになる変異で, PRKAG3 遺伝子の 199 番目のアミノ酸がバリンに対しイソロイシンを持つことでドリップが少ないことが報告¹⁰⁾¹¹⁾され, 本研究でも同様の結果となった。

表 4 SNP による表型値 (rs1108399077)

	A/G			G/G		
	n	Ave.	S.D.	n	Ave.	S.D.
出荷体重,kg	16	110.78	8.83	94	113.91	8.64
1日平均増体重,g	16	654.87	57.84	94	682.28	60.09
P.C.S.	16	4.59a	1.04	94	3.97b	1.01
しまり	16	1.41a	1.068	94	2.20b	1.27
マブ' リング' スコア	16	2.69	0.73	94	2.49	0.68
ロース芯面積,cm ²	16	22.22	3.48	94	23.27	4.20
ドリップ,mg	16	172.50a	99.23	94	248.26b	116.21
L*	16	53.32	6.38	94	56.38	5.20
a*	16	6.33	1.27	94	6.49	1.63
b*	16	9.93	2.04	94	10.97	1.89
700nm	16	37.81	11.06	94	42.92	9.75
L*(30分後)	16	53.25	6.22	92	56.67	5.58
a*(30分後)	16	8.44	1.90	92	8.82	2.22
b*(30分後)	16	11.91a	2.50	92	13.48b	2.43
700nm(30分後)	16	37.56	10.64	92	43.47	10.39

a-b:P<0.05

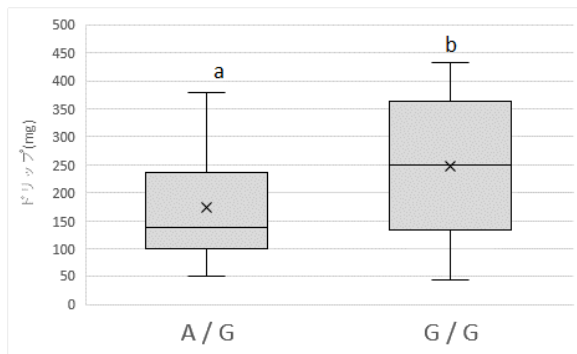


図 1 ドリップ量の差(rs1108399077)

また, rs431825276 及び rs431825275 は同じくアミノ酸非同義置換の SNP であり, C/C と C/T 及び A/A 及び A/G に集約された。これら 2 個の SNP は 9 塩基しか離れていないため, 1 頭以外連鎖平衡の状態にあった。両 SNP ともに主要な組合せであるホモ接合体で PCS が高く, b*, 700nm が低かった (P<0.05)。肉色で濃くなる傾向を示し, 700nm で有意差がみられた (P<0.05)。rs1108399077 では, G のホモ接合体が A/G に比べ, 肉色が淡くなるのに対し, rs431825276 及び rs431825275 の SNP のホモ接合体は, 濃くなる逆の効果を示した。rs1108399077 と rs431825276 及び rs431825275 の SNP は 1000 塩基程度しか離れていないが, 両 SNP ともに高い頻度であるホモ接合体 SNP の組合せで肉色に関して逆の効果がみられた。調査豚の世代で組換えが生じる可能性は低いため, 親世代以前の世代において rs1108399077 と rs431825276 間に

組換えが生じ, 別のハプロタイプを構成し, 後世に引き継がれたことが示唆された。

表 5 SNP による表型値 (rs431825276)

	C/C			C/T		
	n	Ave.	S.D.	n	Ave.	S.D.
出荷体重,kg	79	113.68	8.75	31	112.88	8.67
1日平均増体重,g	79	681.46	62.16	31	670.22	55.4
P.C.S.	79	4.16a	1.13	31	3.81b	0.71
しまり*	79	1.99	1.33	31	2.34	1.08
マブ' リング' スコア	79	2.49	0.73	31	2.59	0.57
ロース芯面積,cm ²	79	23.34	4.07	31	22.54	4.23
ドリップ,mg	79	226.68	118.77	31	264.13	108.1
L*	79	55.37	5.57	31	57.38	4.97
a*	79	6.28	1.48	31	6.95	1.75
b*	79	10.49a	2.01	31	11.65b	1.45
700nm	79	40.89a	10.12	31	45.44b	9.29
L*(30分後)	78	55.75	6.12	30	57.22	4.73
a*(30分後)	78	8.64	2.00	30	9.07	2.6
b*(30分後)	78	13.09	2.60	30	13.65	2.18
700nm(30分後)	78	41.75	11.08	30	44.78	8.99

a-b:P<0.05

Rs45432518 は, rs43182527 から 600 塩基離れた座位に位置する SNP で, 3 種類の遺伝子型に集約された。しかしながら, G/G の個体は 3 頭だけで, 残りは G/T あるいは T/T であった。G/G が他の 2 種類に比べ, ドリップが少なく, L*, b* 及び 700nm とともに低い傾向を示した。Rs45432518 は, T30N として肉質に関連する SNP として報告¹¹⁾されている。既報と同様, トレオニン (G) の頻度が少なく, アスパラギン (T) の頻度が多かった。

rs319678464 は, G の頻度が高く, C/G の組合せが G/G よりもドリップ量が少ない, また, b*, 700nm とともに低い傾向であった。本 SNP は非翻訳領域の SNP であるが, P-Granados らは, イベリア豚において G が C に対してドリップ量等を軽減し, 肉質に優れた効果を持つと報告¹²⁾している。本研究では, 有意な差がみられなかったが, 既報と逆の傾向が示される結果となった。

文 献

- 1) 沖谷明紘. 栄養学雑誌 601(3) : 119-129. 2002
- 2) 西尾重光. 日豚研試 13(1) : 54-64
- 3) Fuji, J., K. Otsu, F. Zorzato, S. de Leon, D. H. MacLennan. Science. 253:448-451. 1991.
- 4) 入江正和. 動物遺伝育種研究. 34(2)

: 33-44. 2006

5) Mihaylova, M. M., R. J. Shaw, Nat Cell Biol 13(9):1016-1023. 2011.

6) Milan, D., J. Jeon, C. Looft, V. Amarger, A. Robic, M. Thelander, L. Andersson. Science. 288:1248-1251. 2000

7) Ciobanu, D., J. Bastiaansen, M. Malek, H-J. Woollard, J, M. Rothschild. Genetics. 159(3):1151-1162. 2001

8) 新居雅宏・飯塚 悟・福岡まどか. 徳島畜研報. 21:8-13. 2022

9) R Core Team. <https://www.R-project.org/>. 2020

10) Ryan, T. M., R. M. Hamil, A. M. Ohalloran, G. C. Davey, J. McBryan, T. Sweeney. BMC Genetics. 13:66. 2012

11) Uimari, P., A. Sironen. BMC Genetics. 15:29. 2014

12) P-Granados. P, M. Munoz, C. Ovilo, J. M. Garcia-Casco, Meat Science. 207. 2024

表 6 SNP による表型値 (rs45432518)

	G/G			G/T			T/T		
	n	Ave.	S.D.	n	Ave.	S.D.	n	Ave.	S.D.
出荷体重	3	118.27	5.55	59	114.96	9.19	48	111.30	7.8
3W-出荷時ADG(g)	3	680.84	61.56	59	682.83	56.28	48	672.57	65.59
PCS(枝)	3	4.17	1.61	59	4.00	0.91	48	4.13	1.16
しまり(枝)	3	1.00	1.00	59	2.14	1.20	48	2.09	1.35
IMF(枝)	3	2.50	0.87	59	2.52	0.71	48	2.53	0.68
ロース芯面積	3	21.58	1.52	59	23.15	4.40	48	23.17	3.88
肉重量(mg)	3	173.00	113.22	59	240.44	115.74	48	237.31	119.09
L*	3	52.94	7.08	59	56.4	5.42	48	55.55	5.47
a*	3	5.39	0.74	59	6.55	1.69	48	6.42	1.47
b*	3	8.07	2.22	59	11.02	1.93	48	10.75	1.83
700nm	3	34.79	10.22	59	43.02	10.01	48	41.60	10.1
L*(30分後)	3	51.46	6.91	58	56.5	5.64	47	56.04	5.89
a*(30分後)	3	8.87	1.22	58	8.77	2.28	47	8.74	2.12
b*(30分後)	3	11.50	2.94	58	13.35	2.35	47	13.23	2.66
700nm(30分後)	3	34.67	9.98	58	43.09	10.33	47	42.49	10.95