

TAFF TSC

豚における1塩基DNA多型による効果的な肉質改良の可能性について

農林水産総合技術支援センター 畜産研究課
○新居雅宏・武田真城・八木智子

1

豚ゲノムが解読され、DNA 情報を利用した精度の高い育種改良の実践が実用化されつつあります。その1つとして1塩基多型をDNA マーカーとして利用する手法が広く利用されつつあります。そこで、豚における肉質に関連する SNP の探索とその SNP の遺伝子型による効果について検討しました。

TAFF TSC

背景



肉質の種類(入江一部改良)

- 外観
 - 脂肪(分布、色、しまり)
 - 赤肉(量、色、しまり、きめ)
- 味
 - 物性(筋繊維、結合組織、脂肪文様)
 - 風味(旨味物質、香り)
 - 多汁性
- 栄養成分
 - 多量成分(アミノ酸、脂肪酸等)
 - 微量成分(ビタミン、ミネラル)
 - 特殊栄養成分
- 安全性
 - 動物疾病、薬剤残留、食品衛生

PSE肉：程度差はあるが豚肉の最長筋はPSE肉になりやすい
重症になるとそのままの販売が困難
原因：遺伝子+環境
改良：PSEの症状の1つであるドリップの遺伝率は、0.1台と低い→通常の手法による改良は困難

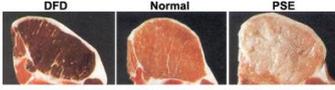
2

豚で商品価値の高い胸最長筋は、淡く、柔らかくそしてドリップの出やすい所謂、PSE 肉になりやすいことが問題となっています。PSE 肉の原因としては、環境要因と遺伝的要因が関与しています。PSE 肉の症状の1つであるドリップの遺伝率は0.1 台と低く、通常手法の改良は困難であることが予測されます。

TAFF TSC

背景

- ・しまりが悪くドリップの多い豚肉=程度は軽いがPSEと同様の発症メカニズム
- ・PSE肉の発症メカニズムは、*RYR1*、*RN*遺伝子由来のメカニズムのみ解明



PSE肉の発症メカニズムは、*RYR1*、*RN*遺伝子由来のメカニズムのみ解明
○Fujii, J. et al. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. Science 253:448-451.
⇒遺伝子には他の効果はなく、多くの豚で異常豚の排除が進んでいる
○Milan, D. et al. 2000. A mutation in *PRKAG3* associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. Science 288:1248-1251.
⇒ハンブシャー種特異的に発見された *PRKAG3* 遺伝子の突然変異であったが、遺伝子内のDNAと肉質への関連性について報告

3

PSE 肉の発症メカニズムとして *RYR1* 及び *RN* 遺伝子の関与が明らかになっています。*RYR1* は豚における遺伝病として原因遺伝子まで特定された初めての遺伝子であり、豚群からの排除も広く利用されています。一方、*RN* 遺伝子は、第15 染色体に位置し、筋肉中のグリコーゲンの蓄積に関与する遺伝子(*PRKAG3*)の SNP として明らかにされ、報告のあった突然変異以外の SNP と肉質の関連性について報告があります。

TAFF TSC

目的

PRKAG3 遺伝子内の1塩基多型(SNP)を利用して肉のキメが細かく、しまりがあり、ドリップの少ない豚群を造成する技術を開発する

豚の *PRKAG3* 遺伝子
第15染色体の120Mb付近に位置し、12,332塩基からなる遺伝子
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(AMPK)をコードする遺伝子
その中に約600個の1塩基多型(SNP)の報告がある
アミノ酸配列の置換を伴うSNPを中心に7個を利用

4

PRKAG3 遺伝子内の SNP 情報を利用して、肉にしまりがあり、ドリップの少ない豚群を造成する技術を開発することを目的としました。

方法(肉質形質の測定)

表 調査豚一覧

品種	頭数
大ヨークシャー (W)	190
ランドレース(L)	110
WL(LW)	201
デュロック(D)	69
合計	570

調査項目
官能評価
・PCS
・肉のしまり
・マーブリングスコア
ドリップ量
・ドリップ法1(ろ紙吸着法)
・ドリップ法2(吸着剤法)
肉色
・分光光度計によるL*
・a*、b*及び波長700nm

PCS(豚標準肉色模型)

形質の測定は、と畜翌日に冷蔵庫内で肉色、ろ紙を用いたドリップ量等について計測しました。計測頭数は、大ヨークシャー(W)190頭、ランドレース(L)110頭、WLあるいはLW201頭及びデュロック(D)69頭でした。

方法 (SNPの解析)

使用したSNP一覧

SNP	位置(bp)	距離	種類
rs319678464	120,861,791	1,749	intron variant
rs1108399077	120,863,537	1,800	missense
rs431825276	120,864,620	8	missense
rs431825275	120,864,620	242	missense
rs711900391	120,864,872	420	missense
rs45432518	120,865,292	686	missense
rs320683948	120,865,876		missense

リアルタイムPCR(Step One Plus, Thermo Fisher Scientific)によりSNPの判定を行った。
反応条件は、95°C20秒、95°C1秒-60°C20秒を40サイクル、25°C30秒

SNPは、PRKAG3内で報告のある7個を用いました。TaqMan SNP 判定試薬(Thermo Fisher Scientific)とリアルタイム PCR を用いて、判定しました。判定された1例を図に示しました。

結果

	大ヨークシャー(W)			ランドレース(L)			WL(LW)			デュロック(D)		
	n	Ave.	S.D.	n	Ave.	S.D.	n	Ave.	S.D.	n	Ave.	S.D.
出荷体重	176	118.5	8.5	110	113.5	8.7	201	118.0	8.7	58	121.0	10.4
ADG	176	621.0A	66.0	110	628.5A	52.7	201	660.9B	57.3	58	643.5	80.7
P.C.S	190	3.5A	0.8	110	4.1B	1.0	201	3.7A	0.9	69	3.7	0.7
しまり	190	2.3A	1.2	110	2.1A	1.3	201	2.3A	1.2	69	1.2B	1.0
マーブリングスコア	190	1.8AC	0.7	110	2.5AD	0.7	201	2.0AC	0.6	69	3.9B	2.5
ロース芯面積	190	23.9A	3.7	110	23.1A	4.1	201	24.4A	3.8	68	26.2B	3.3
M.P.S.	182	4.1	10.0	110	7.6	11.2	182	5.9	12.6	62	9.1	14.2
ドリップ1	190	263.1A	127.2	110	237.2AC	116.6	201	261.2AD	117.5	69	151.5B	96.1
ドリップ2	101	345.2AB	206.9	15	191.0B	186.7	177	321.4A	224.5	60	133.9B	166.3
L*	180	57.0	4.9	110	55.9	5.5	201	57.2	5.2	59	55.3	3.4
a*	180	6.0A	1.8	110	6.5A	1.6	201	6.6A	1.8	59	4.5B	1.4
b*	180	11.4A	1.9	110	10.8	1.9	201	11.3A	1.8	59	10.2B	1.1
700nm	179	42.8A	8.8	110	42.2A	10.1	201	44.0A	9.5	59	37.4B	5.7
L*(30min)	181	57.4	5.7	108	56.2A	5.8	200	58.2B	5.6	59	55.7	4.1
a*(30min)	181	8.3A	2.0	108	8.8A	2.2	200	9.0A	1.9	59	6.9B	1.3
b*(30min)	181	13.4A	2.2	108	12.9A	2.4	200	13.7	2.1	59	12.0B	1.3
700nm(30min)	181	42.9A	9.8	108	42.0A	10.4	200	44.8A	9.9	59	37.9B	6.4

A-B-C-D-P<0.01

測定した形質値を品種毎表にまとめました。ドリップについては、W、WL(LW)、L及びDの順に少なくなり、Wのドリップが多いことが示されました。

また、筋肉内粗脂肪量の指標であるマーブリングスコアはDが高い結果となりました。

結果 (SNPの多様性)

	rs319678464	rs1108399077	rs431825276	rs431825275	rs711900391	rs45432518	rs320683948
W	G/G 190	A/A 3	C/C 158	A/A 158	G/G 190	G/G 167	C/C 190
		G/A 82	C/T 34	G/A 32		G/T 23	
		G/G 135				G/G 3	
L	G/G 10	G/A 16	C/C 79	A/A 80	G/G 110	G/T 58	C/C 110
		G/G 100	C/T 31	G/A 30		T/T 48	
			C/C 149	A/A 150		G/G 29	
WL	G/G 95	G/A 16	C/T 42	G/A 42	G/G 201	G/T 171	C/C 201
		G/G 106	T/T 10	G/G 9		T/T 1	
		A/A 2				G/G 6	
D	G/G 69	G/A 24	C/C 69	A/A 69	G/G 69	G/T 26	C/C 69
		G/G 43				T/T 37	

解析に用いた SNP の多様性をまとめました。rs711900391及びrs320683948はいずれの品種においても多型は検出されませんでした。

また、rs319678464は、L及びWLのみ多型があり、Lの多型がWLに引き継がれたことが示唆されました。

結果(rs45432518)

SNP	大ヨークシャー(W)			ランドレース(L)			WLL(W)			デュロック(D)			
	n	Ave.	S.D.	n	Ave.	S.D.	n	Ave.	S.D.	n	Ave.	S.D.	
G/G	167	3.5	0.8	3	4.2	1.6	29	3.5	0.8	6	3.6	1.1	
PCS	G/T	23	3.5	1.0	59	4.0	0.9	171	3.7	0.9	26	3.8	0.6
T/T	48	4.1	1.2	1	3.5	0.0	37	3.6	0.7				
G/G	167	2.3	1.2	3	1.0	1.0	29	2.5	1.3	6	1.0	0.6	
しまり	G/T	23	2.4	1.2	59	2.1	1.2	171	2.3	1.2	26	1.1	0.9
T/T	48	2.1	1.4	1	1.0		37	1.4	1.1				
G/G	167	264.8	129.5	3	173.0	113.2	29	312.7	126.8	6	160.3	81.8	
ドリップ1	G/T	23	250.4	111.2	59	240.4	115.7	171	276.7	115.2	26	140.2	98.0
T/T	48	237.3	119.1	1	133.0		37	158.0	98.5				
G/G	95	343.1	209.6	3	230.7	189.4	17	355.7	242.4	6	62.7	57.6	
ドリップ2	G/T	6	311.3	270.1	12	181.8	193.2	159	319.4	222.7	26	121.0	169.1
T/T							1	57.0		28	161.1	177.0	
G/G	157	57.1	5.0	3	52.9	7.1	29	56.6	5.0				
L*	G/T	23	56.4	4.3	59	56.4	5.4	171	56.9	5.2	22	53.9a	2.7
T/T	48	55.6	5.5	1	54.5		37	56.1b	3.8				
G/G	157	11.3	1.9	3	8.1	2.2	29	11.6	1.6				
b*	G/T	23	11.8	1.6	59	11.0	1.9	171	11.2	1.9	22	9.9a	0.9
T/T	48	10.8	1.8	1	9.6		37	10.5b	1.2				
G/G	157	42.9	9.0	3	34.8	10.2	29	46.2	8.9				
700nm	G/T	22	41.8	7.1	59	43.0	10.0	171	43.7	9.6	22	34.5A	3.8
T/T	0.0	0.0		48	41.6	10.1	1	36.9		37	39.1B	6.0	

A-B:P<0.01, a-b:P<0.05

rs45432518 について品種毎に SNP の遺伝子により形質を集約しました。

ドリップ 2 について D では、G アリルを持つことで、少なくなる傾向がみられ、また、肉色でも L*、b*及び 700nm も同様に小さくなりました(P<0.01、p<0.05)。一方、他の品種では有意ではないものの T アリルを持つ群でドリップ量が少ない傾向が示されました。

まとめ

SNP rs45432518、当課で飼養しているランドレース及びデュロックにおいて肉質に差あり⇒当課のランドレース、デュロックの改良可能

系統、豚群によってSNPの効果が異なるので、本成果をそのまま普及は困難

生産者の繁殖豚についてSNPと肉質を調べることでSNPによる肉質の改良が可能

rs45432518 は、系統内で多様性が保持されており、デュロックでは SNP のタイプにより、ドリップ等の形質に差がみられました。よって本 SNP を選抜に用いることでドリップを少ない方向へ改良する可能性が示唆されました。一方、系統によって SNP のタイプと形質の方向性が逆転していることから、実用化には更に詳細な解析が必要です。