

## 黒毛和種牛の成長ホルモン遺伝子多型が枝肉成績に及ぼす影響

安部亜津子 安田康明<sup>1)</sup> 成相伸久 長谷川清寿 佐々木恵美 高仁敏光

**要約** ウシ成長ホルモン(bGH)遺伝子多型が黒毛和種の枝肉形質に及ぼす影響を明らかにするため、島根県産の肥育牛を対象として、bGH 遺伝子多型と枝肉形質との関連性を調査した。

同一種雄牛由来の去勢肥育牛 171 頭について、ダイレクトシーケンスにより bGH 遺伝子型を判定し、各 bGH 遺伝子多型 (A,B および C 遺伝子) の有無と枝肉成績(枝肉重量、ロース芯面積、BMS No.)との関連性を最小自乗分散分析 (LSMLMW) で解析した。その結果、A 遺伝子の有無によってロース芯面積( $p<0.01$ )および BMS No. ( $p<0.05$ )に差が認められ、いずれも A 遺伝子を持たない群の方が高かった。また、同一飼養条件下で飼育された後代検定牛 54 頭について、bGH 遺伝子型と枝肉成績 (枝肉重量、ロース芯面積、BMS No.)との関係を LSMLMW で分析した結果、bGH 遺伝子型による差が、ロース芯面積および BMS No.において認められた。すなわち、ロース芯面積は CC 型が他の型よりも大きく、最も小さい AA 型と比べて有意に大きかった ( $p<0.05$ )。また、BMS No.も CC 型が最も高く、最も低い AA 型に対し有意に高かった ( $p<0.01$ )。

以上のことから、bGH 遺伝子多型は肥育牛のロース芯面積および BMS No.に影響を及ぼすことが示唆され、黒毛和種の選抜における DNA マーカーの一つとして利用可能であると考えられた。

**キーワード:** 黒毛和種 枝肉成績 成長ホルモン遺伝子 遺伝子多型

島根県立畜産試験場研究報告第 37 号,11-15,2004

成長ホルモン(GH)は、脳下垂体前葉から分泌されるペプチドホルモンで、タンパク質や脂質の代謝促進などの機能を担い、動物の発生・分化や成長に影響を及ぼすことが明らかになっている<sup>14)</sup>。哺乳動物の GH については、アミノ酸配列や遺伝子配列が特定されつつあるが、ウシ成長ホルモン(bGH)遺伝子も既に全塩基配列<sup>5,17)</sup>が決定され、5 個のエキソンから構成される約 3kbp の遺伝子であることが明らかにされている。bGH 遺伝子配列には種々の塩基置換<sup>6,8,18)</sup>が存在するが、そのほとんどは非翻訳領域に認められ、翻訳領域における塩基置換はこれまでに第 5 エキソンのみで見出されている<sup>18)</sup>。この第 5 エキソン内の塩基置換は 2 か所(C2141G<sup>18)</sup>および C2277T<sup>2)</sup>)に存在し、いずれもアミノ酸置換(Leu127Val および Thr172Met)を伴う変異である。黒毛和種における bGH 遺伝子多型は、塩基置換の組み合わせによって、A(2141C/2277C)、B(2141G/2277C)および C(2141G/2277T)の 3 つのタイプに分類される<sup>2)</sup>。これら 3 つの遺伝子多型はそれぞれアミノ酸配列が異なることから、ホルモン作用に違いがある可能性がある。

近年、黒毛和種の経済形質に関する DNA マーカーの開発を目的として、マイクロサテライトマーカーを利用した QTL 解析あるいは、脂肪細胞分化制御因子<sup>1)</sup>に代表される枝肉形質に関する候補遺伝子解析が進め

られ、育種への活用が期待されているところである。さらに、bGH 遺伝子多型が発育や肉質などの経済形質に及ぼす影響が解明されれば、育種に活用可能な DNA マーカーの一つとして、選抜育種に利用できる。

そこで、bGH 遺伝子型が島根県産黒毛和種の枝肉形質に及ぼす影響を明らかにするため、同一種雄牛由来去勢肥育牛の bGH 遺伝子型と枝肉成績との関連性を調査した(調査 1)。併せて、後代検定牛の bGH 遺伝子型と枝肉成績との関連も調べた(調査 2)。

### 材料および方法

#### bGH 遺伝子型の判定

bGH 遺伝子型は、ゲノム DNA を用いて成長ホルモン遺伝子第 5 エキシソンの多型領域を含む断片を PCR で増幅後、増幅産物の塩基配列を決定することにより判定した(図 1)。bGH 遺伝子第 5 エキシソンの多型領域を含む 404bp の断片<sup>18)</sup>は、PCR 法で増幅した。PCR 反応液の組成は、25ng DNA、1×PCR buffer、4nmol each dNTPs、25pmol プライマーおよび 0.75unit Taq DNA Polymerase (AmpliTaq Gold, Applied Biosystems)であり、反応液量は 50 μL とした。PCR 反応は、サーマルサイクラー GeneAmp9600 (Applied Biosystems)を用い、95 °C で 9 分間の熱変性を行った後、95 °C で 30

現所属 ;<sup>1)</sup> 松江農林振興センター安来地域農業普及部

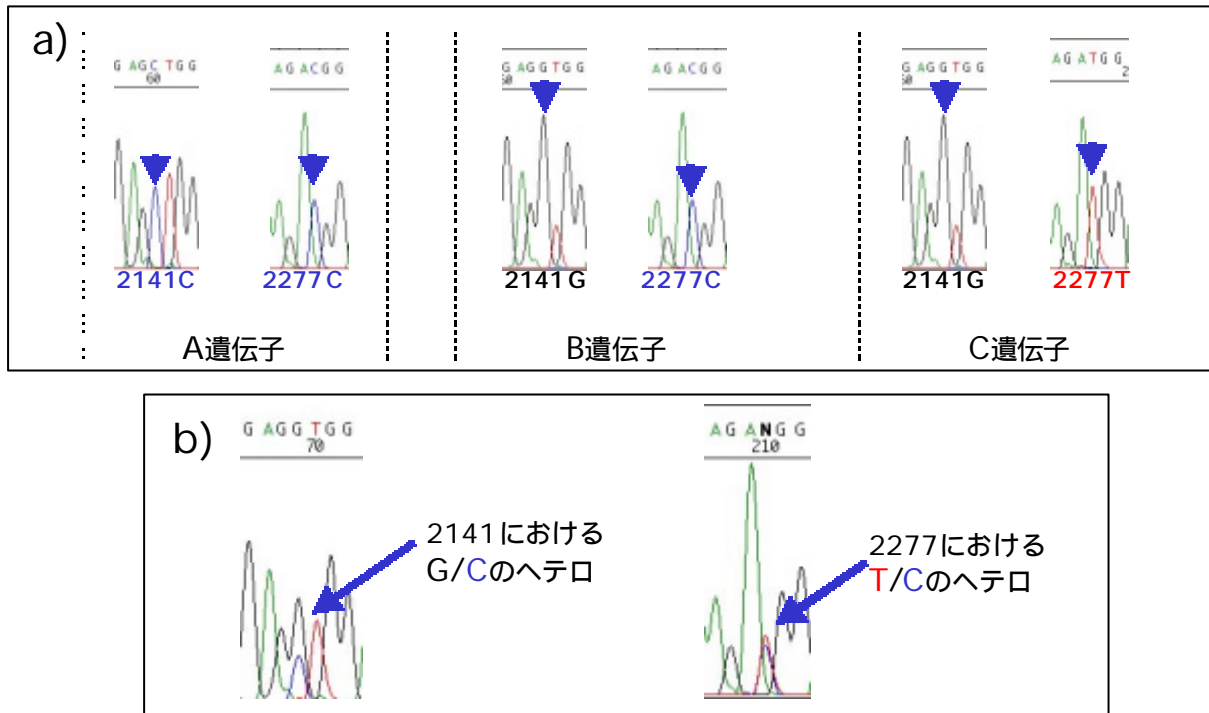


図 1 ダイレクトシーケンスによるbGH遺伝子多型の判定  
2141と2277の塩基の組み合わせによって、A、BおよびCの遺伝子多型を判定する(a)。  
ヘテロの場合は、2種類の塩基のピークが検出され、判定が可能である(b)。

秒、60 で45秒、72 で45秒のサイクルを40サイクル、最後に72 で7分間の伸長反応を行った。反応産物は QuickStep2™ PCR purification kit (EdgeBiosystems) を用いて精製し、シーケンス反応のテンプレートDNAとした。シーケンス反応は BigDye Terminator CycleSequencing Ready Reaction Kit ver.3.0 (Applied Biosystems) を用いて、ダイターミネーター法により行った。シーケンス反応後の産物は、Performa™ DTR GelFiltration System (EdgeBiosystems) を用いて精製後、ABI PRISM™ 377 DNA Sequencer (Applied Biosystems) で電気泳動し、塩基配列を決定した。

**bGH遺伝子型と枝肉成績との関連性調査**

調査1 調査対象は、同一種雄牛(bGH 遺伝子型 : BC) 由来の去勢肥育牛 171 頭とした。bGH 遺伝子型判定に用いたDNAは、肥育牛の血液あるいは脂肪細胞から調製した。bGH 遺伝子型と枝肉成績との関連は、最小自乗分散分析 (LSMLMW<sup>7)</sup>)で解析した。ただし、母数効果は出荷年、食肉処理場およびbGH 遺伝子型、共変量は肥育日数、変量効果は母方祖父とした。また、各 bGH 遺伝子多型の有無と枝肉成績との関係は LSMLMW で解析した。ただし、母数効果は出荷年、食肉処理場およ

び bGH 遺伝子型を構成する遺伝子多型の有無、共変量は肥育日数、変量効果は母方祖父とした。解析対象形質は、枝肉重量、ロース芯面積および BMS No.とした。

調査2 :調査対象は 8 頭の種雄牛由来の後代検定牛 54 頭とした。DNAは、EasyDNA kit (Invitrogen) を用いて白血球から調製し、bGH 遺伝子型の判定に用いた。bGH 遺伝子型と枝肉成績との関係は、LSMLMW で解析した。ただし、母数効果は bGH 遺伝子型、変量効果は種雄牛、共変量は 1 日増体量とした。解析対象形質は、枝肉重量、ロース芯面積および BMSNo.とした。

**結 果**

調査1 :調査対象牛における bGH 遺伝子型の頻度は、AB型が29.2%、AC型が23.4%、BB型が11.1%、BC型が21.1%、CC型が15.2%であった。また、bGH 遺伝子頻度は、Aが26.3%、Bが36.3%、Cが37.4%であった。bGH 遺伝子型による枝肉成績の差はロース芯面積において認められた表1)。すなわち、ロース芯面積はAB型(50.73cm<sup>2</sup>)が最も小さく、最も大きいCC型(55.63cm<sup>2</sup>)と比べて有意(p<0.01)に小さかった。また、BB型(55.19cm<sup>2</sup>)およびBC型(54.29cm<sup>2</sup>)と比較しても有意(p<0.05)に小さかった。bGH 遺伝子型を構成する遺

表1 同一種雄牛由来肥育牛におけるbGH遺伝子型と枝肉成績との関係

bGH遺伝子型	頭数	枝肉重量 (kg)	(± SE)	ロース芯面積 (cm <sup>2</sup> )	(± SE)*	BMS No.	(± SE)
AB	50	437.3	7.13	50.73	1.31	4.89	0.54
AC	40	441.8	7.30	52.65	1.34	5.05	0.54
BB	19	451.3	9.89	55.19	1.82	5.86	0.65
BC	36	433.3	7.34	54.29	1.35	5.63	0.54
CC	26	446.6	8.70	55.63	1.60	5.43	0.60

\* ロース芯面積について、AB < BB,BC (p<0.05), CC(p<0.01)

表2 同一種雄牛由来肥育牛におけるbGH遺伝子多型の有無と枝肉成績との関係

bGH遺伝子多型*	頭数	枝肉重量 (kg)	(± SE)	ロース芯面積 (cm <sup>2</sup> )	(± SE)**	BMS No.	(± SE)***	
A	0	81	439.2	6.33	54.70	1.16 p	5.74	0.56 a
	1	90	436.7	6.29	51.32	1.15 q	5.09	0.56 b
B	0	66	440.5	6.76	53.64	1.275	5.36	0.63
	1	86	432.8	6.31	52.02	1.191	5.34	0.62
	2	19	449.2	9.76	54.99	1.842	5.96	0.74
C	0	69	439.0	6.64	51.79	1.238	5.26	0.63
	1	76	434.2	6.39	53.15	1.192	5.52	0.63
	2	26	445.2	8.70	55.50	1.623	5.52	0.70

\* 各bGH多型を、0 持たない、1 :ヘテロで持つ、2 :ホモで持つことを示す

\*\* p,q : p<0.01

\*\*\* a,b : p<0.05

表3 後代検定牛のbGH遺伝子型と枝肉成績との関係

bGH遺伝子型	頭数	枝肉重量 (kg)	(± SE)	ロース芯面積* (cm <sup>2</sup> )	(± SE)	BMS No.**	(± SE)
AA	3	476.4	13.27	51.48	3.04	2.97	1.23
AB	18	480.8	5.51	54.88	1.71	5.68	0.74
AC	6	475.3	8.75	54.97	2.22	4.63	0.92
BB	14	479.5	6.36	56.05	1.83	5.38	0.78
BC	9	488.7	7.55	53.24	2.02	4.97	0.85
CC	4	474.2	11.00	59.49	2.62	7.77	1.07

\* ロース芯面積について、CC > AA (p<0.05)

\*\* BMS No.について、CC > AA (p<0.01), CC > AC, BB, BC (p<0.05), AB > AA (p<0.05)

伝子多型のうち、B および C 遺伝子の有無による枝肉成績の差は認められなかった。A 遺伝子の有無による枝肉重量の差は認められなかったが、ロース芯面積および BMS No. について差が認められた。すなわち、ロース芯面積は A 遺伝子を持たない群 (54.70cm<sup>2</sup>) が持つ場合 (51.32cm<sup>2</sup>) と比較して有意 (p<0.01) に大きかった。また、BMS No. も A 遺伝子を持たない群 (5.74) が持つ場合 (5.09) に比べて有意 (p<0.05) に高かった (表 2)。

調査 2 調査対象牛における bGH 遺伝子型の頻度は、AA 型が 5.6 %、AB 型が 33.3 %、AC 型が 11.1 %、BB 型が 25.9 %、BC 型が 16.7 %、CC 型が 7.4 % であった。また、bGH 遺伝子頻度は、A が 27.8 %、B が 50.9 %、C が 21.3 % であった。bGH 遺伝子型による枝肉成績の差は、ロース芯面積および BMS No. におい

て認められた。すなわち、ロース芯面積は CC 型 (59.49cm<sup>2</sup>) が他の型よりも大きく、最も小さい AA 型 (51.48cm<sup>2</sup>) と比べて有意 (p<0.05) に大きかった。また、BMS No. は CC 型 (7.77) が最も高く、最も低い AA 型 (2.97) と比べて有意 (p<0.01) に高かった (表 3)。

### 考 察

bGH 遺伝子多型とウシの経済形質との関連性については、これまで乳用種および肉用種で検討されている。乳用種においては、bGH 多型 (Val127Leu 変異が乳量<sup>3)</sup> および乳タンパク質量<sup>8)</sup> に影響を及ぼすことが示されている。また、bGH 多型を基にアミノ酸配列を変えて合成したペプチドの投与試験によっても、Val127Leu によって乳量に差がある<sup>12)</sup> ことが明らかにされており、bGH

遺伝子の多型が生体内でのホルモン作用に影響を及ぼす可能性が指摘されている。肉用種では、枝肉形質との関連性が、黒毛和種<sup>4,10,13</sup> および外国種<sup>16</sup> で検討され、枝肉重量、ロース芯面積および脂肪交雑との関連が示唆されているものの、各遺伝子多型の効果は明確にはされていない。

今回、我々は同一種雄牛由来の去勢肥育牛の bGH 遺伝子型を判定し、枝肉成績との関係を分析したが、ロース芯面積および BMS No. について、A 遺伝子を持たない群がロース芯面積は大きく、BMS No. も高いという結果であった。すなわち、A 遺伝子の存在によりロース芯面積および BMS No. は低くなると考えられた。また、複数の種雄牛由来の後代検定牛を用いた解析でも、ロース芯面積および BMS No. に bGH 遺伝子型による差が認められたが、いずれの形質についても、AA 型が最も低く、CC 型が最も高いという結果であった。複数の種雄牛由来の後代検定牛を用いた解析では、C 遺伝子をホモで持つ CC 型が BMS No. において有意に高いという結果が得られ、C 遺伝子の存在によって、BMS No. が高水準になると推察された。これまでの報告<sup>2</sup> では、C 遺伝子、すなわち、Thr172 の Met172 への変異は、黒毛和種および褐毛和種でのみ認められる多型であり、脂肪交雑の高い品種に局限されている。これらのことから、Thr172Met 変異によって脂質代謝や筋肉組織への脂肪蓄積などの GH 作用に違いが生じ、その結果、脂肪交雑の形成に何らかの影響を及ぼすことが考えられた。

Schlee ら<sup>16</sup> は、シンメンタール種雄牛の育種価について、Leu127Val 多型との関連性を調査し、脂肪交雑に関して、Val/Val 型の方が Leu/Leu 型および Leu/Val 型よりも有意に高いと報告している。シンメンタール種では C 遺伝子は存在しないため、Leu127 は A 遺伝子、Val127 は B 遺伝子に相当するが、Leu127、すなわち、A 遺伝子の存在によって脂肪交雑は低くなるという結果であった。我々の調査結果からは、A 遺伝子の存在によって BMS No. が低くなることが推察された。これらのことから、127LeuVal 変異は、脂質代謝に関する GH の作用に影響を及ぼし、脂肪交雑が形成されにくくなることが推察された。

今回の調査において、ロース芯面積は A 遺伝子を有する群では小さくなり、C 遺伝子を持つ群では逆に大きくなる傾向が認められた。この傾向は BMS No. においても同様であったが、ロース芯面積と BMS No. の間には、0.48 と中程度の遺伝相関があることが報告されており<sup>11</sup>、両形質に及ぼす bGH 遺伝子多型の効果には何らかの関連があることも推察された。一方、片岡ら<sup>10</sup> は間

接検定牛を用いた調査で、有意ではないものの、C 遺伝子の存在によってロース芯面積は小さくなるとし、他の報告<sup>4,13</sup> でも同様な傾向が示されている。今回の解析では枝肉形質間の相互作用を考慮しておらず、各形質に対する bGH 遺伝子多型の効果が正しく評価できていない可能性もある。したがって、今後、形質間の相互作用を考慮した分析を行うことによって、ロース芯面積に及ぼす bGH 多型の効果を明らかにしたい。

片岡ら<sup>10</sup> は、有意ではないが A 遺伝子を持つ場合に肥育終了時体重および枝肉重量は大きくなるという結果を得ている。また、Schlee ら<sup>16</sup> も、Leu/Val 型(AB 型)が Leu/Leu 型(AA 型)および Val/Val 型(BB 型)に対して、枝肉重量が大きくなると報告しており、両者で傾向は異なるものの、Leu127Val 多型が枝肉重量に影響を及ぼすことが示唆されている。我々の分析では、枝肉重量と bGH 遺伝子多型との関連性は認められなかった。今回、解析対象形質として枝肉重量を取り上げたが、これは必ずしも個体の発育あるいは増体を反映していないと考えられる。bGH はその生理作用から発育や増体に関与することが予想されることから、肥育期間中の体重増加や肥育ステージ別の体重増加等について bGH との関連性を調査することは有用であると考えられた。

以上のことから、bGH 遺伝子多型は肥育牛のロース芯面積および BMS No. に影響を及ぼすことが示唆された。将来、育種価情報に加えて、bGH 遺伝子型を選抜パラメータのひとつとして活用すれば、黒毛和種牛の選抜・育種の精度向上も十分期待できるものと推察された。ただし、実際のパラメータとして活用するためには、各遺伝子多型の枝肉成績に及ぼす効果をより明確にすることが重要であると思われた。

## 引用文献

- 1) 相川勝弘ら. 日畜会報, 75:25-29.2004
- 2) 千国幸一ら. 日畜会報, 65:340-346.1994
- 3) Epperd P.J.et.al. J.Endocrinol.,132:47-56. 1992
- 4) 福本泰之ら. 日本畜産学会第 90 回大会講演要旨, 205.1997
- 5) Gordon D.F.et.al.Mol.Cell.Endocrinol.,33:81-95. 1983
- 6) Hecht C.and Geldermann H. Anim.Genet.,27:329-332. 1996
- 7) Harvey W.R. User's Guide for LSMLMWand MIXMDL.1-20. 1990
- 8) H j S.et.al. Anim.Genet.,24:91-96. 1993
- 9) 今堀和友、山川民夫監修. 生化学辞典第 3 版, 769

- 770. 東京化学同人. 1998
- 10) 片岡博行ら岡山総畜セ研報, 11:1-4.2000
- 11) 川田啓介ら日畜会報,74:187-193. 2003
- 12) Lucy M.C.et. al. Domest. Anim. Endocrinol., 10:325-333.1993
- 13) 三橋忠由ら. 日本畜産学会第 90 回大会講演要旨, 204.1997
- 14) 村松正實編. 分子細胞生物学辞典, 448. 東京化学同人.1997
- 15) Rocha J.L. et. al. J. Anim. Sci., 70:3360-3370. 1992
- 16) Schlee P. et.al.J.Anim.Breed.Genet.,111:253-256. 1994
- 17) WoychikR.P.et.al. Nucleic Acids Res.,10:7197-7210.1982
- 18) Yao J.et.al.Genetics,144:1809-1816. 1996