

# DNA マーカーを利用した高品質阿波ポーク生産技術の開発

## (第 報)

新居 雅宏・谷 史雄・仁木 明人<sup>\*)</sup>

### 要 約

日本イノシシと大ヨークシャー種を交配し、集団間で見られた成長、と体形質及び肉質について遺伝的な解析を行った。具体的には1頭の雄イノシシと3頭の雌大ヨークシャー系統豚「アワヨーク」を交配し、そのF1の兄妹交配により得られたF2世代240頭について各種経済形質の測定を行うとともに第18染色体を除くゲノム上に127個のマイクロサテライトDNAマーカーを配置しQTL解析を実施した。その結果、成長およびと体形質に影響する量的形質遺伝子座(Quantitative Trait Loci: QTL)が、第4, 7染色体に集中していることが明らかになった。また、と体の長さ=第1, 4, 7染色体、背脂肪厚=第2染色体、椎骨数=第1, 7染色体、加圧保水力=第7、肉色 $a^*$ 値=第3染色体、脂肪酸組成C18:1/18:0およびC18:0/16:0=第13, 14染色体にQTLが位置づけられた。

### 目 的

家畜の成長速度、産肉能力、泌乳能力等の経済形質は統計的手法を用いて飛躍的な進歩を遂げてきた。DNAレベルで個体の遺伝的能力を正確に把握できれば更なる育種改良が期待できる。豚の肉質は養豚産業の収益性、競争力をつけるために非常に重要である。肉質は保水性、肉色、クッキングロス、ドリップロス、筋肉内粗脂肪含量、呈味成分等より構成されている(Sllier:1998)。しかしながら、優れた産肉性と肉質は相反することが報告されている(Hovenier:1992)。遺伝的肉質の改良を従来の育種方法で行うのは困難であるが、肉質に影響する遺伝子の位置、機能を明らかにすることにより、効率的な改良が期待できる。県では閉鎖群育種によるアワヨークを系統造成し、系統豚を利用した交雑豚を阿波ポークとして銘柄化を推進している。本研究ではアワヨークを材料とした遺伝解析を行うことにより、肉質を中心としたQTLをゲノム上に位置づけ、DNAレベルで肉質の改良を図り、阿波ポークのブランド確立に寄与する。

---

<sup>\*)</sup> 現徳島県徳島家畜保険衛生所 +)QTL解析は独立行政法人生物資源研究所家畜ゲノム研究チームに依頼した。

## 材料および方法

### (1) 実験家系の作成

3 産目までの F2 兄妹交配家系の作成状況を前報において報告(新居:2000)したが,さらに 4 産目平成 12 年 2 月~5 月,5 産目平成 12 年 7 月~9 月に F2 を生産した(図 1)。飼養管理方法については前報のとおりである。

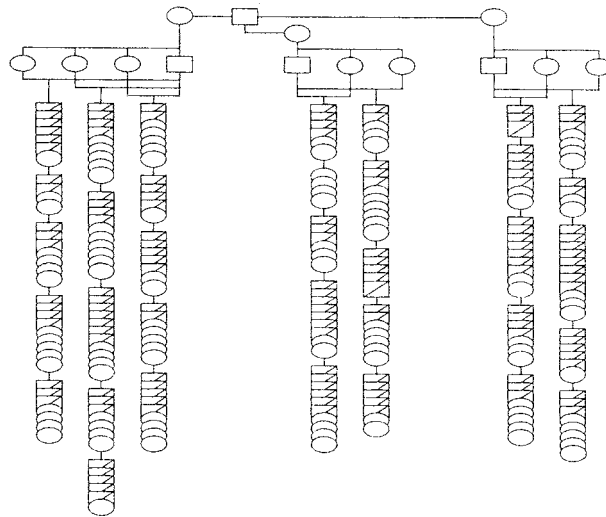


図 1 今回の試験に用いた兄妹交配家系図。1 頭の雄のイノシシを 3 頭の雌のアワヨークに交配し F1 を得た。それぞれのサブファミリーより 1 頭ずつ雄の F1 を残し,2 頭,2 頭および 3 頭の雌の F1 と兄弟交配することにより F2 を生産した。

### (2) 形質の測定

肉質等検査方法は前報のとおりである。性別間の差の比較は t-test により検定した。

### (3) DNA マーカーの解析

DNA マーカーは全てマイクロサテライトマーカーを USDA - MARCmap(Rohrer:1996)と PigMap(Archibald:1995)より全染色体に均等になるように選び 240 頭について多型解析した。しかし,第 18 染色体(SSC)はもともと DNA マーカーの報告が少なく,また本家系においては多型がない, null アリルのため使えない等の理由により, DNA マーカーを割り当てられなかった。従って本文において全ゲノムと記述しているが正確には SSC18 を除いた 17 本の常染色体と性染色体の 18 本によるゲノム解析である。プライマーは蛍光ラベルしたものをを用い,PCR 反応は AmpliTaqGold(Aplied Biosystems)を用いた 10 分間 95 のホットスタート,PCR 産物の電気泳動および解析は DNA Sequencer377(Aplied Biosystems)および Genotyper(Aplied Biosystems)により行った。

### (4) QTL 解析

QTL 解析は本家系における連鎖地図を作成していないので USDA - MARC の地図を用い, Haley の

方法を一部改良したインターバルマッピング法により対数尤度比(Log-likelihood ratio)を求めた。環境要因として性別を考慮し敷居値は 1000 回の並べ換え検定により求めた<sup>+)。</sup>

## 結果および考察

### (1) 調査形質値

出荷前体重測定日齢は雌 217.1 ± 7.6 日，去勢 215.8 ± 3.9 日で，このときの体重はそれぞれ 76.2 kg，80.1 kg と有意に去勢群が重かった。背脂肪は去勢が厚く，逆にロース芯面積は雌が大きかった。と殺日齢は雌 218.0 ± 7.7 日，去勢 216.9 ± 5.6 日であった。肉色 L\* 値，水分率，加圧保水率，粗脂肪含量について雌と去勢で有意な違いがみられた。

### (2) QTL 解析結果

21 の形質について QTL 解析したところ，14 形質が全ゲノムあたり 1%，1 形質が 5% のしきい値を超える対数尤度比を検出した。解析した全形質の対数尤度比最大値の染色体番号，位置を表 3 および主な形質のグラフを図 2～10 に記述した。

### (3) 椎骨数

SSC1，123 センチモルガン(cM)付近に 115.0 の高い対数尤度比を検出した。椎骨数は多いほど，と体長が長くなることが古くから報告されており(伊藤:1965)，重要な形質である。今回，SSC1 の同等な位置にと体長，背腰長 の QTL を検出した。ロースの長さに影響する背腰長 の対数尤度比がと体長より高く興味深い結果となった(図 3)。

### (4) 成長

体重，と体重ともに SSC4，70cM 付近とやや小さいものの SSC4 の 44cM 付近に QTL を検出した。さらにこれらの領域にはと体長に関して高い QTL を検出した。この領域はヨーロッパイノシシと W の家系についても同様の報告があり，同じ QTL と考えられる。

### (5) と体形質

と体長，背腰長 ， ，と体幅，ロース芯面積が SSC4 の 70cM 付近と SSC7 の 44cM 付近に位置づけられた。これは先述の成長と同じ QTL と考えられる。体長の長さに関して SSC1 の 120cM 付近にも高い対数尤度比を検出したが椎骨数に影響する QTL によるものと推察された。肩脂肪厚は SSC4 に位置づけられたが 55cM 付近で成長，と体長等に関する QTL と異なることが示唆された。本研究に用いた家系では SSC7 の効果は SSC4 よりも低くなったが中国種および西洋種を用いた家系では成長およびと体構成に関して SSC7 が大きいことが報告されている(Rohrer:2000)。

### (6) 肉質形質

今回，QTL 解析を行った肉質関連の形質で全ゲノムあたり 1% しきい値を超える結果となったのは加圧保水率，肉色 a\* 値，脂肪酸組成のみであった。しかし，解析した全形質についてしきい値は越えないものの例数を増やすことにより，しきい値を越えると考えられる QTL がいくつか存在した。肉色は肉質の重要な指標の 1 つであり，明るい色の肉色はドリップが多く，保水性が低く，低い pH と

関係することがしばしば観察される。L\*値は明るさの指標であるが今回 SSC11 に suggestive な QTL を観察するにとどまった。L\*値は最長筋の断面における脂肪の影響を受けることから有意な QTL を得られなかった可能性がある。a\*値は赤みの指標であるが SSC3 と SSC4 に全ゲノムあたり 1% しいき値を超える結果となった。計算はしていないがイノシシ由来のアリルが増えることにより a\*値は増加することが考察され、イノシシ由来の赤い肉色は成長速度によって左右される可能性も予測していたが、a\*値と成長に影響する QTL が異なる染色体に位置づけられたことで今後 Marker-Assisted Introgression の形質として注目される。b\*値は黄色の指標となり高いほど黄色がかった肉色となる。前報において b\*値と保水性について負の相関があることを報告したが QTL 解析の結果 SSC15 に位置づけられた。肉質関連で a\*値の次に高い尤度比となった加圧保水率は肉質の最も重要な指標の 1 つであり、今回 SSC7 の 18cM 付近に位置づけられた。この領域には成長に関する QTL もあり、同じ QTL の可能性も考えられる(図 6)。また、同じく保水性の指標となる遠心保水率は SSC10 の末端付近に位置づけられ、SSC7 における尤度比が低いことが観察された(図 6)。両方法による保水性の関係には相関係数 0.51(P<0.001)の有意な相関が見られたにも関わらず、別の染色体に位置づけられたことについて加圧保水率は圧力を加えて肉汁を出すのに対し、遠心保水率は遠心分離により肉汁を抽出するという方法のため、肉の物理性等の要因が複雑に関与していることが示唆された。脂肪酸組成 C18:1/18:0 比および脂肪酸 C18:0/16:0 比の QTL がそれぞれ SSC13, 14 に位置づけられた(図 7)。この付近には脂肪酸の合成を調整する遺伝子の報告はなく、酵素を働かせるのに何らかの影響を与える遺伝子の存在が考えられた。今回、産肉性に関して 12、肉質に関して 9 の形質について QTL 解析を行ったが、当初期待した肉質に関して全ゲノムあたり 1% 水準を超える対数尤度比は加圧保水力、肉色 a\*値のみであった。他の研究においても肉質について高い QTL の報告はなく、唯一筋肉内粗脂肪含量について高い QTL の存在が報告されている。本研究でも粗脂肪含量の測定を実施しており、予備的に 124 頭による解析を実施したところ、SSC9 の 60cM 付近に最大対数尤度比 9.4 の QTL が位置づけられた。また、筋線維割合について 140 頭の解析を行ったところ 型=SSC5, SSC13, A 型=SSC2, SSC4, B 型=SSC5, SSC13, SSC15 にそれぞれ 10 を超える対数尤度比を観察した(データ未提示)。粗脂肪含量、筋線維割合はと殺時の影響を受けないことから正確な遺伝的能力の評価が可能のため、今後例数を増やすことにより、高い QTL の検出が期待される。最終的には 300 頭以上の F2 家系を作成し、精度の高い解析を行うことにより更に多くの肉質関連 QTL を位置づけ、DNA マーカーを用いた育種への応用を試みる。

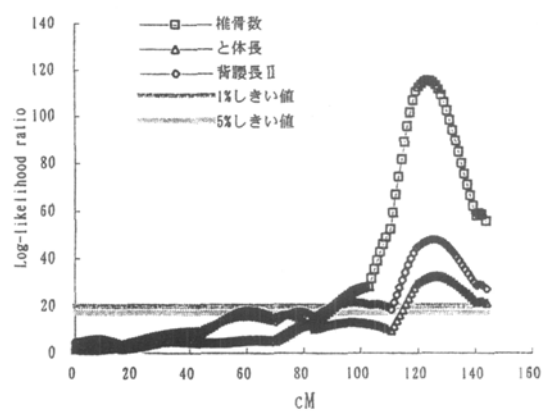


図 2 SSC1

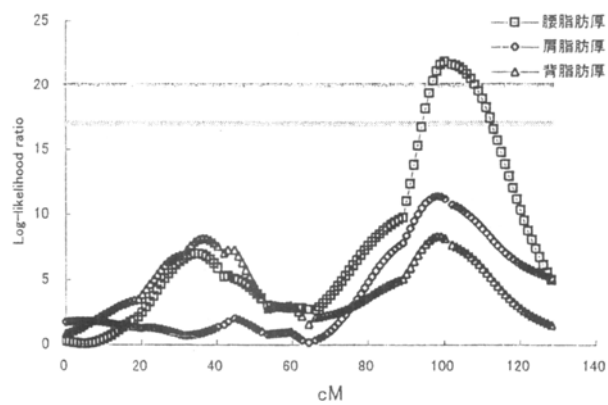


図 3 SSC 2

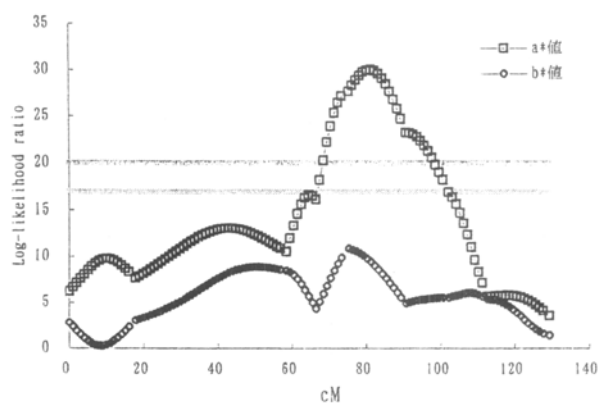


図 4 SSC 3

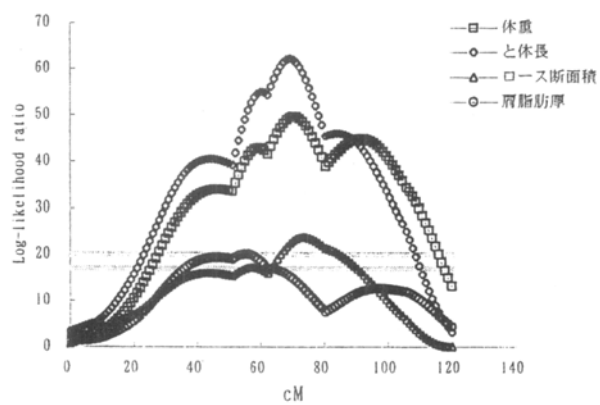


図 5 SSC 4

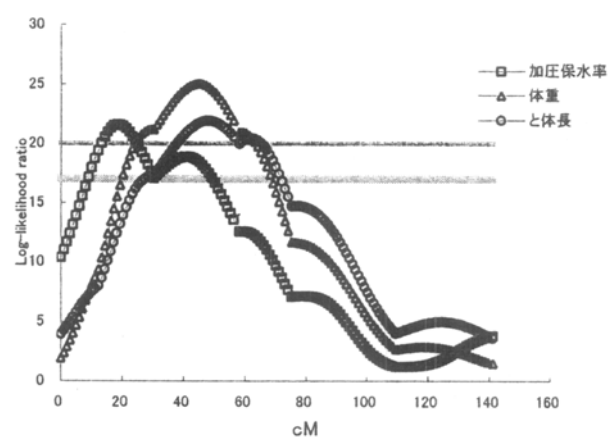


図 6 SSC 7

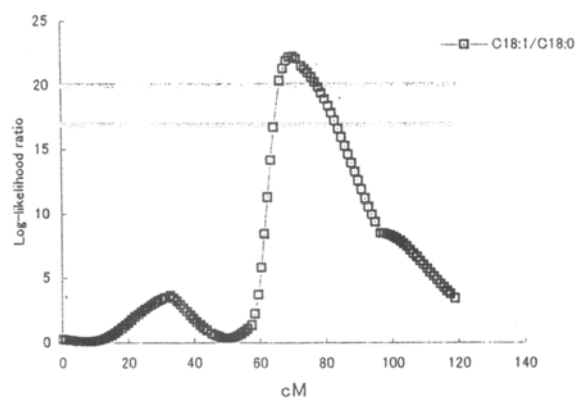


図 7 SSC 9

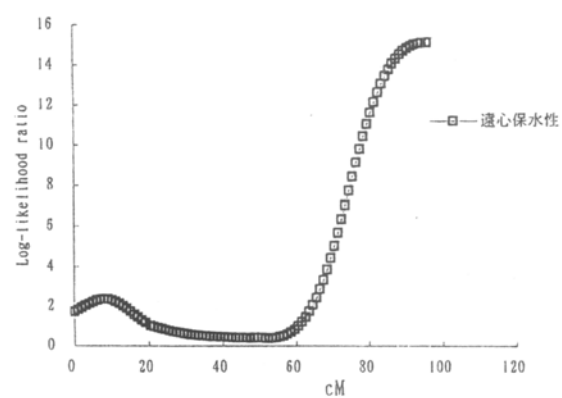


図 10 SSC 10

表 1 使用した DNA マーカーの数

染色体番号	chr. 1	chr. 2	chr. 3	chr. 4	chr. 5	chr. 6	chr. 7	chr. 8	chr. 9	chr. 10
マーカー数	10	12	9	7	5	5	7	3	6	4
染色体番号	chr. 11	chr. 12	chr. 13	chr. 14	chr. 15	chr. 16	chr. 17	chr. 18	chr. X	Total
マーカー数	6	8	13	7	6	6	5	0	8	127

表 2 形質測定値

	雌					去 勢				
	n	Ave.	STD.	Max.	Min.	n	Ave.	STD.	Max.	Min.
体重測定日齢	111	217.1	7.6	260.0	209.0	139	215.8	3.9	238.0	209.0
体重 (kg)	111	76.2 <sup>a</sup>	12.3	160.5	46.5	139	80.1 <sup>b</sup>	11.8	108.0	50.0
DG(g)	111	381.1 <sup>a</sup>	65.1	547.3	209.5	139	390.8 <sup>b</sup>	62.0	531.0	231.4
と体重 (kg)	111	48.7 <sup>a</sup>	8.4	69.8	30.0	139	52.2 <sup>b</sup>	7.8	72.7	32.9
と体長 (cm)	104	81.5	5.8	92.0	50.0	129	82.1	4.5	94.0	72.0
と体幅 (cm)	106	32.2	2.2	37.0	26.0	136	32.7	2.0	38.0	27.0
背腰長Ⅱ (cm)	100	60.2	3.8	70.0	51.0	125	60.5	3.7	69.0	72.0
肩脂肪 (cm)	106	3.8 <sup>a</sup>	0.7	5.5	2.4	137	4.3 <sup>b</sup>	0.7	6.2	2.5
背脂肪 (cm)	106	2.0 <sup>a</sup>	0.5	3.2	0.7	137	2.4 <sup>b</sup>	0.5	3.6	1.3
腰脂肪 (cm)	106	2.7 <sup>a</sup>	0.6	4.0	1.5	137	3.2 <sup>b</sup>	0.6	4.6	2.0
ロース芯面積 (cm <sup>2</sup> )	106	17.5 <sup>a</sup>	2.3	23.3	12.2	136	16.1 <sup>b</sup>	2.1	21.1	10.1
椎骨数	104	20.0	0.7	22.0	18.0	132	20.1	0.7	22.0	19.0
と殺日齢	111	218.0	7.7	260.0	210.0	139	216.9	5.6	265.0	210.0
L* 値	111	41.3 <sup>a</sup>	2.6	51.3	35.1	139	42.0 <sup>b</sup>	2.7	49.8	34.3
a* 値	111	10.2	1.2	13.1	7.3	139	10.4	1.3	14.2	6.6
b* 値	111	0.4	1.0	4.5	-1.7	139	0.7	1.1	3.9	-1.7
pH	111	5.6	0.2	6.2	5.3	139	5.6	0.2	6.4	5.1
水分 (%)	111	74.2 <sup>a</sup>	0.8	76.9	72.0	139	73.8 <sup>b</sup>	1.1	76.8	69.1
加圧保水率 (%)	111	74.1 <sup>a</sup>	4.5	86.6	64.7	139	72.3 <sup>b</sup>	3.9	83.1	61.7
遠心保水率 (%)	111	69.6	4.9	79.3	59.5	139	68.0	5.1	78.3	57.1
伸展率 (cm <sup>2</sup> /g)	111	23.1	2.3	30.8	18.8	139	22.7	2.3	28.7	17.3
加熱損失率 (%)	94	25.7	1.9	29.9	20.2	120	25.8	1.8	29.6	21.1
圧搾肉汁率 (%)	94	42.5	2.0	47.5	37.6	120	42.5	2.3	50.0	35.4
粗脂肪 (g/100g)	56	1.7 <sup>a</sup>	0.6	3.5	0.8	68	2.3 <sup>b</sup>	1.0	7.0	0.9
乾物含量 (%)	40	25.0	1.4	28.1	23.1	51	25.0	1.2	27.9	23.2
総コラーゲン(mg/g)	40	14.2	3.5	24.7	8.0	51	14.2	4.1	26.8	8.7
加熱溶解コラーゲン(mg/g)	40	1.7	0.8	3.4	0.4	51	1.4	0.8	3.3	0.3
比率*	40	11.0	3.4	16.4	4.6	51	9.2	4.2	26.3	3.3
I 型 (%)	61	12.1	2.3	18.0	5.2	83	11.8	2.9	18.7	5.8
II A 型 (%)	61	15.9	2.8	21.7	10.2	83	15.3	3.0	21.5	7.8
II B 型 (%)	61	72.0	3.5	79.5	61.8	83	72.9	4.7	84.3	62.7
GiantFiber	55	5.4	9.7	42	0.0	62	5.5	10.1	71.0	0.0
脂肪酸組成 (%)										
C14:0	111	1.3	0.1	1.8	1.0	139	1.3	0.1	1.7	1.0
C16:0	111	27.2	13.4	33.0	24.3	139	27.6	1.2	32.3	25.0
C16:1	111	1.6	0.3	2.6	1.1	139	1.6	0.3	2.7	0.8
C18:0	111	15.4 <sup>a</sup>	1.4	18.8	12.2	139	16.0 <sup>b</sup>	1.8	22.8	11.9
C18:1	111	42.3	2.0	47.7	37.4	139	42.7	2.2	47.5	35.8
C18:2	111	10.4 <sup>a</sup>	1.6	14.6	7.4	139	9.1 <sup>b</sup>	1.2	12.5	6.7

A-B:P&lt;0.01, a-b:P&lt;0.05

\*) 総コラーゲン/加熱溶解コラーゲン



表 3 QTL 解析結果

染色体番号	項 目	尤度比の 最 大 値	推定位置 (c M)
1	椎骨数	115.0**	123.5
1	と体長	32.6**	126.5
1	背腰長 I	44.2**	126.5
1	背腰長 II	47.5**	125.5
2	肩脂肪	21.8**	100.2
3	ロース a' 値	30.2**	81.3
4	215 日体重	49.7**	70.3
4	と体重	38.5**	70.3
4	と体長	62.1**	69.3
4	背腰長 I	62.8**	68.3
4	背腰長 II	62.0**	67.3
4	肩脂肪	20.0**	55.2
4	と体幅	19.7*	67.3
4	ロース断面積	23.8**	72.3
4	ロース a' 値	20.8**	117.5
5	背脂肪厚	11.3	64.0
7	椎骨数	10.2	99.3
7	215 日体重	25.1**	44.7
7	と体重	21.3**	43.2
7	と体長	22.0**	46.2
7	背腰長 I	20.8**	48.7
7	背腰長 II	20.6**	51.2
7	加圧保水率	21.6**	18.0
9	脂肪酸 C18:1/18:0	22.2**	70.4
10	遠心保水率	15.1	96.0
11	ロース L' 値	11.4	44.3
11	圧搾肉汁率	9.0	65.3
12	加熱損失率	8.0	60.4
13	脂肪酸 C18:1/18:0	21.9**	71.7
14	脂肪酸 C18:1/16:0	23.9**	27.5
15	ロース b' 値	15.9	29.3

\*\* : 全ゲノムあたり 1% 有意

\* : 全ゲノムあたり 5% 有意

## 引用文献

- Andersson, L., et al, 1994 GenetIC mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. Science 263, 1771-4.
- Archibald, A. L. , et al, 1995 The PiGMap consortium linkage map, of the pig [Sus scrofa]. Mammalian Genome 6,

157-75 .

Haley.C.S., et al, Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. Genetics 136, 1195-1207.

Hovenier, R., 1992, Genetic parameters of pig meat quality traits in halothane negative population. Livest Prod Sci, 32, 309-321.

伊藤ら,1965 豚の改良にのための椎骨数に関する研究農林水産技術会議事務局研究成果 26.

Milan, D., 2000, Amutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. Science 288, 1248-51.

新居ら,1999 徳島県肉畜試験報 27,29-42. Rohrer,G.A. , et al, 1996 Acomprehensive map of the pocine genome. Genome Research 6,371-91.

Sllier,P., et al, 1998 Genetics of meat and carcass trait. The genetics of the pig, 463-510.

Rohrer,G.A., et al, 2000 Identification of quantitative trait loci affecting birth characters and accumulation of backfat and weight in a Meishan-White composite resource population. J.Anim. Sci. 78, 2547-2553.