

## 讃岐牛の改良に貢献する美味しさ関連遺伝子(DNA マーカー)の探索

上村圭一・土佐進・谷原礼諭・高橋和裕

### Search of a taste-related gene (DNA marker) contributing to the improvement of the Sanukiushi

Keiichi UEMURA, Susumu TOSA, Ayatsugu TANIHARA, Kazuhiro TAKAHASHI

#### 要 約

讃岐牛を用いて、美味しさに関連する遺伝子 4 種類 ((1)FASN 遺伝子、(2)SCD 遺伝子、(3)SREBP-1 遺伝子、(4)GH 遺伝子) と筋肉内の脂肪酸組成との関連を調査したところ以下の結果を得た。

1. FASN 遺伝子の対立遺伝子 TW の存在によって、オレイン酸などの MUFA の割合は有意に高くなることが示唆された。

2. SCD 遺伝子の対立遺伝子 A の存在によって、オレイン酸などの MUFA の割合は高くなる傾向がみられた。

3. その他の遺伝子 (SREBP-1 遺伝子、GH 遺伝子) は、オレイン酸などの MUFA の割合への関連を明白にすることはできなかった。

このことから、FASN 遺伝子、SCD 遺伝子は、讃岐牛のオレイン酸および MUFA の割合を向上させる選抜 DNA マーカーとして有効であることが示唆された。

#### 緒 言

脂肪交雑は、黒毛和種の肉質の価値をきめる重要な要因となっている。しかし、一般に食味は、脂肪交雑が同程度であっても脂肪の質の違いにより差があると言われている。特に、オレイン酸などの一価不飽和脂肪酸(以下 MUFA)の含有量が高いほど食感が良くなり、風味も良くなるといわれている。

オレイン酸などの MUFA に関連する遺伝子はいくつか報告があるが、今回我々は、讃岐牛を用いて、FASN 遺伝子、SCD 遺伝子、SREBP-1 遺伝子、GH 遺伝子の 4 種類について、筋肉内の脂肪酸組成との関連を明らかにし、「さらに美味しい讃岐牛」の改良および生産のための選抜 DNA マーカーを検討した。

## 材料及び方法

### 1. 材料

平成 21 年 5 月～平成 22 年 8 月にかけて食肉処理施設で処理された香川県産の黒毛和種について、三代祖が判明している讃岐牛 291 頭(去勢 196 頭、雌 95 頭)の横隔膜筋を系統(種雄牛)が偏らないよう採取し材料とした。

### 2. 脂肪酸分析

脂肪酸組成は、採取し凍結保存した試料約 100mg をクロロホルム：メタノール (2:1) で抽出し、ベンゼンおよびナトリウムメトキシドメタノールを加え、脂肪酸をメチルエステル化した<sup>7)</sup>。その後、酢酸液および n-ヘキサンを加え遠心後 n-ヘキサン層の液を抽出し、ガスクロマトグラフィー(島津 GC-2014AFSC)で測定した。

測定した脂肪酸はミリスチン酸(C14:0)、ミリストレイン酸(C14:1)、パルミチン酸(C16:0)、パルミトレイン酸(C16:1)、マルガリン酸(C17:0)、ヘプタデセン酸(C17:1)、ステアリン酸(C18:0)、オレイン酸(C18:1)、リノール酸(C18:2)、リノレン酸(C18:3)、アラキジン酸(C20:0)とし、これら 11 種の脂肪酸総量を 100 としてそれぞれの脂肪酸組成割合を計算した。そして、胸最長筋におけるオレイン酸および一価不飽和脂肪酸 (以下、MUFA) の推測値は野儀らの報告と同様に算出した<sup>8)</sup>。

### 3. 遺伝子分析

DNA は横隔膜筋から Dneasy Blood and Tissue Kits(QIAGEN)を用いて抽出し、PCR を実施し、得られた産物を直接または制限酵素反応後、3%アガロースゲルにて 100V で 30～60 分間電気泳動して増幅断片の長さの違いにより、遺伝子型を判定した<sup>1)2)3)4)5)</sup>。

## 成 績

### 1. 讃岐牛のオレイン酸および MUFA の割合

去勢のオレイン酸は 51.00%、MUFA は 53.20%、雌のオレイン酸は 52.62%、MUFA 54.79%、全体ではオレイン酸は 51.53%、MUFA は 53.72%であった。

表1 讃岐牛のオレイン酸およびMUFAの割合

性別	頭 数	オレイン酸(%)	MUFA(%)
去勢	196	51.00±2.77	53.20±2.88
雌	95	52.62±2.71	54.79±2.80
合計	291	51.53±2.85	53.72±2.95

## 2. FASN 遺伝子とオレイン酸および MUFA の割合の関係

FASN 遺伝子は、去勢および雌ともに TW/TW 型、TW/AR 型、AR/AR 型の順でオレイン酸および MUFA の割合が高く、有意差が認められた。また、対立遺伝子 TW の存在によってオレイン酸および MUFA の割合が有意に高くなることが示唆された。

去勢			
遺伝子型	頭数	オレイン酸(%)	MUFA(%)
TW/TW	107	51.33±2.81 <sup>a</sup>	53.41±2.98 <sup>a</sup>
TW/AR	79	50.81±2.36 <sup>a</sup>	53.19±2.38 <sup>a</sup>
AR/AR	10	48.81±4.23 <sup>b</sup>	51.81±4.62 <sup>b</sup>
雌			
遺伝子型	頭数	オレイン酸(%)	MUFA(%)
TW/TW	57	53.30±2.31 <sup>a</sup>	55.43±2.42 <sup>a</sup>
TW/AR	35	51.83±2.45 <sup>b</sup>	54.07±2.62 <sup>b</sup>
AR/AR	3	48.91±6.85 <sup>b</sup>	50.89±6.64 <sup>c</sup>

異なる文字間で有意差あり(P<0.05)

## 3. SCD 遺伝子とオレイン酸および MUFA の割合の関係

SCD 遺伝子は、去勢では、AA 型、VA 型、VV 型の順でオレイン酸および MUFA の割合が高く、有意差が認められた。雌では VA 型、AA 型、VV 型の順で高いが有意差は認められなかった。しかし、対立遺伝子 A の存在によってオレイン酸および MUFA の割合が高くなる傾向が認められた。

去勢			
遺伝子型	頭数	オレイン酸(%)	MUFA(%)
AA	111	51.28±2.67 <sup>a</sup>	53.50±2.80 <sup>a</sup>
VA	78	50.81±2.63 <sup>a</sup>	53.03±2.73 <sup>a</sup>
VV	7	48.43±4.31 <sup>b</sup>	50.38±4.41 <sup>b</sup>
雌			
遺伝子型	頭数	オレイン酸(%)	MUFA(%)
AA	49	52.56±2.61	54.64±2.72
VA	39	52.91±2.52	55.17±2.57
VV	7	51.44±4.22	53.69±4.39

異なる文字間で有意差あり(P<0.05)

## 4. SREBP-1 遺伝子とオレイン酸および MUFA の割合の関係

SREBP-1 遺伝子は、去勢では LL 型、LS 型、SS 型の順でオレイン酸および MUFA の割合が高いが有意差は認められなかった。雌では LL 型、SS 型、LS 型の順で高いが有意差は認められなかった。このことから、遺伝子とオレイン酸および MUFA の関係は明らかにできなかった。

表4 SREBP-1遺伝子とオレイン酸およびMUFAの割合

去勢			
遺伝子型	頭数	オレイン酸(%)	MUFA(%)
SS	22	49.84±3.35	52.26±3.59
LS	83	51.03±2.72	53.32±2.84
LL	91	51.25±2.63	53.33±2.71
雌			
遺伝子型	頭数	オレイン酸(%)	MUFA(%)
SS	9	52.73±2.73	54.78±2.93
LS	42	52.44±2.66	54.71±2.74
LL	44	52.77±2.80	55.19±2.71

### 5. GH 遺伝子とオレイン酸および MUFA の割合の関係

GH 遺伝子は、去勢では AC 型、BC 型、CC 型が他よりもオレイン酸および MUFA の割合が高いが、有意差は認められなかった。

雌は BB 型、BC 型、AA 型が他よりも高いが、有意差は認められなかった。このことから、遺伝子とオレイン酸および MUFA の関係は明らかにできなかった。

表5 GH遺伝子とオレイン酸およびMUFAの割合

去勢			
遺伝子型	頭数	オレイン酸(%)	MUFA(%)
AA	27	50.72±2.19	53.20±2.11
AB	68	50.86±3.29	53.10±3.41
AC	14	52.25±2.39	54.43±2.45
BB	63	50.80±2.51	52.84±2.69
BC	18	51.62±2.70	53.91±2.82
CC	6	51.03±2.17	53.21±2.24

表6 GH遺伝子とオレイン酸およびMUFAの割合

雌			
遺伝子型	頭数	オレイン酸(%)	MUFA(%)
AA	4	52.43±2.20	54.97±2.15
AB	34	51.78±2.86	53.87±2.94
AC	11	52.02±3.70	54.66±3.85
BB	36	53.49±2.15	55.56±2.24
BC	8	53.36±2.50	55.49±2.90
CC	2	51.62±0.22	54.00±0.31

## 考 察

筋肉内の脂肪酸の割合は、各遺伝子により制御され増減することは知られている。

FASN 遺伝子の TW/TW 型は AR/AR 型に比べオレイン酸の割合が 3.0% 向上するの効果が得られる報告がある<sup>5)</sup>。今回の讃岐牛の場合、去勢で 2.5%、雌で 1.6% の効果が得られた。

SCD 遺伝子の AA 型は VV 型に比べ一価不飽和脂肪酸の割合が 2.2% 向上する効果が得られる報告がある<sup>3)</sup>。また、松橋らはオレイン酸含有量も上げることが報告している<sup>7)</sup>。今回の讃岐牛の場合、一価不飽和脂肪酸の割合は去勢で 3.1%、雌で 1.0% の効果、オレイン酸は去勢で 2.9%、雌で 1.1% の効果が得られた。

SREBP-1 遺伝子の SS 型は LL 型に比べ一価不飽和脂肪酸の割合が 1.3% 向上するの効果が得られる報告がある<sup>4)</sup>。今回の讃岐牛の場合、SS 型は LL 型に比べ一価不飽和脂肪酸の割合が低くな

る傾向が見られた。

GH 遺伝子の CC 型、BC 型、AC 型など C 型を持つ遺伝子は、他の型に比べオレイン酸の割合が 4.1% 向上、一価不飽和脂肪酸の割合が 2.6% 向上するの効果が得られる報告がある<sup>6)</sup>。また、Ardiyanti らは、C 型を持つ遺伝子は、他の型に比べオレイン酸の割合が去勢で 0.5%、雌で 4.4% 向上、一価不飽和脂肪酸の割合が去勢で 0.7%、雌で 4.6% 向上するの効果が得られると報告している<sup>1)</sup>。今回の讃岐牛の場合、そのような成績は得られなかった。

讃岐牛の場合、オレイン酸などの MUFA の割合は、FASN 遺伝子の対立遺伝子 TW の存在によって有意に高くなることが示唆された。また、SCD 遺伝子の対立遺伝子 A の存在によって高くなる傾向がみられた。しかし、その他の遺伝子は、既報のような関連を明白にすることはできなかった。

このことから、FASN 遺伝子、SCD 遺伝子は、讃岐牛のオレイン酸および MUFA の割合を向上させる選抜 DNA マーカーとして有効であることが示唆された。

筋肉内の脂肪酸の割合は、枝肉形質と同様に、繁殖雌牛の系統や種雄牛の系統により大きく変わることは知られていることから、様々な系統が混ざり合っている香川県の場合、美味しい讃岐牛を生産するには、FASN 遺伝子、SCD 遺伝子の 2 つの選抜 DNA マーカーをいかに活用することが重要と思われた。

なお、本研究の一部は、国補事業 和牛知的財産権の取得・活用事業で実施した。

## 引用文献

- 1) Astrid Ardiyanti. et al. Animal Science Journal. 80. 62-69 (2009)
- 2) K. Chikuni. et al. Animal Genetics. 28. 230-232 (1997)
- 3) Masaaki Taniguchi. et al. Mammalian Genome. 14. 142-148 (2004)
- 4) Shogo Hoashi. et al. Mammalian Genome. 18. 880-886 (2007)
- 5) Tsuyosi Abe. et al. Biochem Genet. 17 March : - . (2009)
- 6) 塩田哲朗ら。黒毛和種における牛成長ホルモン遺伝子多型と産肉特性について。岡山県総合畜産センター研究報告。15:54-58. (2004)
- 7) 松橋珠子。ふれあい報告会。(2008)
- 8) 野儀拓哉・岡垣敏生, 同一個体内における筋肉内脂肪および蓄積脂肪の脂肪酸組成割合の関係, 鳥取県畜産試験場研究報告, 35:8-13, 2007.