

日本短角種におけるウシ筋肉肥大 (Double-muscling) 原因遺伝子の変異の同定

鈴木 暁之・野口 龍生・千葉 伸・田中 修一

(岩手県農業研究センター畜産研究所)

Definition of Allelic Mutations Causing Double-muscling in Japanese Shorthorn Cattle Breed

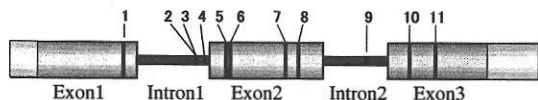
Toshiyuki SUZUKI, Tatsuo NOGUCHI, Shin CHIBA and Syuichi TANAKA

(Iwate Agricultural Research Center, Animal Industry Research Institute)

1 はじめに

ウシ筋肉肥大 (Double-muscling; DM, 通称豚尻) は、ベルジアンブルー種などの外国種で多くみられ、欧米では産肉量の増大や肉の柔らかさをもたらす有利な形質といわれており、家畜改良上、重要な選抜形質となっている。

1997年、Georges らのグループによって、ウシの2番染色体上に存在するミオスタチン遺伝子がDMの原因であることが初めて報告された。その後、様々な品種でこの遺伝子の解析が行われた結果、遺伝子として機能しているエクソン領域で7ヶ所、遺伝子としては機能していないといわれるイントロン領域で4ヶ所、合計11ヶ所の変異が報告されている¹⁾(図1)。ミオスタチン遺伝子は、タンパク合成及び筋繊維増殖抑制に関わっているといわれており、これらの変異の中には、遺伝子の機能を一部失わせるものもあることから、筋肉肥大が引き起こされると考えられている。



1: F94L 2: nt374-51(T-C) 3: nt374-50(G-A) 4: nt374-16(del1)
5: nt414(C-T) 6: nt419(del7-ins10) 7: Q204X 8: E226X
9: nt748-78(del1) 10: nt821(del11) 11: C313Y

図1 これまでに報告されたミオスタチン遺伝子の変異

一方、国内においては、DMはその特徴的な体型から豚尻と呼ばれ、黒毛和種及び日本短角種においても古くから不良形質として淘汰の対象となってきた。そのため、近年確認されることがほとんどなくなっていたものの、数年前から日本短角種で再び確認されるようになった。

日本短角種におけるDMの外見上の特徴は、生時体重が大きい(60kg前後)こと、子牛時から筋肉質であり肩や腿が隆起していることであるが、尻を中心とした後駆の形状が一般の牛とは大きく異なることが最大の特徴であり、豚尻と呼ばれてきた所以である(図2)。

今回は、日本短角種におけるDMの原因遺伝子とその変異を明らかにし、遺伝子診断方法を確立した。

2 試験方法、試験結果及び考察

(1) 実験1

はじめに、DMとみられる子牛と正常な体型の子牛との間にミオスタチン遺伝子の塩基配列に違いがあるかどうかを解析した。

1) 供試牛

日本短角種の半きょうだい子牛2頭を用いた。

2) DNAの調製

定法により、ヘパリン血から白血球を抽出し、QIAamp Blood Kit (QIAGEN) によりDNAを抽出した。

3) PCR

ミオスタチンのエクソン領域と、イントロン領域の4ヶ所の変異をカバーするようなPCRプライマーをこれまで報告された中から6つ選択し、3つのDNA断片を増幅した(図3)。

4) 塩基配列の解析

増幅した断片について、13のプライマーを用いてDye Terminator Cycle Sequencing法によりシーケンス反応を行い、ABI 373 S Sequencerで塩基配列を解析した。

5) 試験結果及び考察

DMとみられる子牛では、エクソン3に存在するnt821(del11)という11塩基の欠失のみが変異として認められ、日本短角種特有の変異は認められなかった(図4)。



図2 日本短角種で確認されたDM子牛

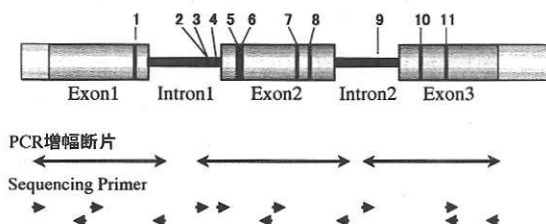


図3 PCRプライマーとシーケンスプライマーの設定

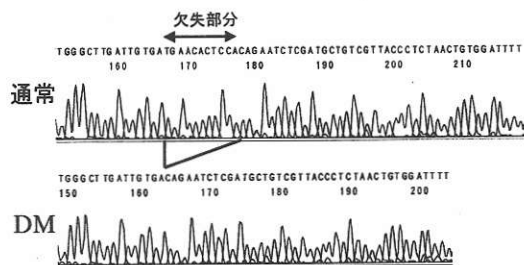


図 4 変異箇所におけるシーケンスの結果

nt821 (del11) は、報告されている中で最も多くの品種で変異が認められているが、この変異が日本短角種の改良に大きな役割を果たしたショートホーン由来であるかどうかは現在のところ定かではない。

遺伝子は、1塩基の置換でもその機能に重大な影響を及ぼすことがあるが、日本短角種の DM 子牛では、nt821 (del11) の11塩基の欠失のみが原因として考えられたため、この欠失を含む領域を PCR 法で増幅し断片長を解析することにより、迅速な遺伝子診断ができるのではないかと考え、その方法について実験 2 で検討した。

(2) 実験 2

1) 供試牛

直接検定牛含む日本短角種種雄牛247頭と、日本短角種の子牛61頭を用いた。

2) DNA の調製

実験 1 と同様の方法で DNA を調製した。

3) PCR

実験 1 で得られた 1 ケ所の変異箇所 nt821 (del11) を含む 176/187bp を増幅するような PCR プライマーを組み合わせた。

4) 電気泳動

ABI 373 S Sequencer により電気泳動を行い、Genescan と Genotyper により、PCR で増幅された断片長を解析した。

5) 試験結果及び考察

実験 1 で明らかになった変異箇所 nt821 (del11) について、原因遺伝子の一部が欠失していれば 176bp、正常であれば 187bp の断片長になるよう PCR プライマーを組み合わせ、電気泳動法により判定できるようにした (図 5)。

この方法で判定した結果、247頭の種雄牛のうち30頭がヘテロ型を示し、原因遺伝子を保因していることがわかった。また、保因牛を父にもつ61頭の子牛を判定したところ、32頭がヘテロ型を示し、体型から DM と思われた子牛 4 頭は全て 176bp のホモ型を示した。

このことから、日本短角種における DM 原因遺伝子の診断には、この方法が有効であると考えられた。

また、原因遺伝子を保因する種雄牛の系統をさかのぼったところ、共通する祖先が存在することが明らかとなった

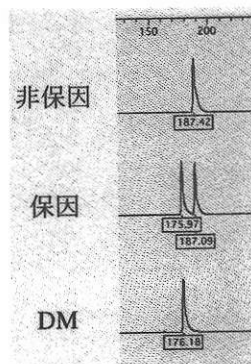


図 5 電気泳動法による DM 原因遺伝子の診断

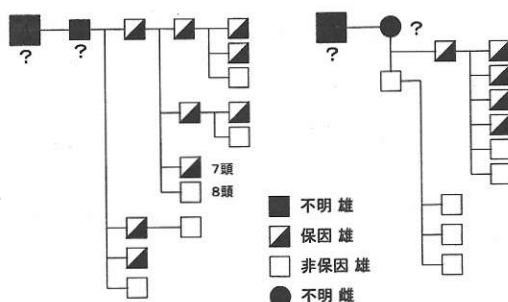


図 6 DM 遺伝子型を持つ日本短角種の系統

(図 6)。

この種雄牛は産肉能力に優れていたといわれ、後継牛が数多く保留されていることから、近年保因牛同士との交配により原因遺伝子がホモ化し、DM 子牛が確認されるようになったものと考えられる。

3 ま と め

外国種では産肉量の増大や肉の柔らかさをもたらすといわれているウシ筋肉肥大について、数年前から日本短角種で確認されるようになったため、その原因遺伝子を明らかにし、遺伝子診断方法を確立した。

今後は、産肉性の調査を行うことにより、日本短角種にとって有利な遺伝子かどうかを検討し、DNA による選抜あるいは淘汰を行っていく予定である。

引用文献

- Grobet, L.; Poncelet, D.; Royo, L.J.; Brouwers, B.; Pirottin, D.; Michaux, C.; Ménéssier, F.; Zanotti M.; Dunner, S.; Georges, M. 1998. Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. *Mamm. Genome* 9: 210-213.