

黒毛和種における筋肉内遊離アミノ酸組成の QTL (quantitative trait loci) 解析

齋藤真希・菅和寛・小林正人

(山形県農業研究研修センター)

QTL Analysis for the Free Amino Acids Composition in Japanese Black Breed

Maki SAITO, Kazuhiro KAN and Masato KOBAYASHI

(Yamagata Agricultural Research and Training Center, Department of Animal Husbandry)

1 はじめに

近年、黒毛和種の経済形質等に関連する DNA マーカーの研究とそれを指標とした育種手法の開発が進められている¹⁾。DNA マーカーを用いて、経済形質等に影響を与える遺伝子を探索するためには、家系の明瞭な父方半兄弟の肥育データおよびその分析結果と DNA マーカー型の解析データが必要である。そこで、和牛肉の食味成分とその遺伝的背景を調べ、遺伝子情報を利用した食味のよい牛肉生産に資するために、和牛肉中の遊離アミノ酸比率と DNA マーカー型を解析したところいくつかのアミノ酸比率と連鎖する染色体領域が得られたので報告する。

2 試験方法

(1) 供試筋肉材料

山形県内で肥育された共通の種雄牛 A を父に持つ父方半兄弟の 1 家系 66 頭で第 6～7 肋間の僧帽筋を用いた。採取はと畜 48 時間後に行い、分析まで凍結保存し、通常の熟成は行わなかった。

(2) 筋肉内アミノ酸比率の測定

筋肉内アミノ酸比率の測定は、筋肉 100mg に PBS(pH7.2)1.5ml 加え、テフロンホモジナイザーでホモジナイズし、さらに PBS1.5ml で器具を洗浄し、ホモジュネートとあわせ、3000rpm10 分間遠心した。上清 1ml に 10%TCA1ml を加えて遠心し、上清を 0.20 μ m のメンブランフィルターで濾過し、その 1ml に 0.5N 水酸化ナトリウム 70 μ l を加えた。アミノ酸分析は高速液体クロマトグラフ装置 (日立 L-7000) を用い、オルトフタルアルデヒド法で 17

種類のアミノ酸濃度を測定した後百分比を求め、グルタミン酸 (Glu)、グリシン (Gly)、アラニン (Ala)、ヒスチジン (His)、アルギニン (Arg)、アスパラギン酸 (Asp)、セリン (Ser) およびプロリン (Pro) について QTL 解析を行った。

DNA の抽出は、QIAGEN 抽出キットを用いて抽出した。

DNA のマーカー型 (型判定) には、社団法人畜産技術協会付属動物遺伝研究所から提供を受けたマイクロサテライトマーカー 231 個を用いて、性染色体を除く 29 本の染色体について実施した。

QTL 解析は社団法人畜産技術協会付属動物遺伝研究所から提供を受けた Explorer/halfsib を用いて実施した。

3 試験結果および考察

8 種類の非必須アミノ酸比率と 29 本の染色体領域を網羅する DNA 型を連鎖解析した結果、アスパラギン酸、アラニン、アルギニン、セリン、グリシンおよびプロリン比率に影響している染色体領域を $p < 0.005$ で 1～2 箇所それぞれ推定した (表)。アスパラギン酸、アラニン、ヒスチジンおよびグルタミン酸比率に影響している染色体領域を $p < 0.001$ で 1～2 箇所それぞれ推定した (表)。 $p < 0.001$ であったアスパラギン酸、アラニン、グルタミン酸およびヒスチジン比率の結果を染色体レベルでみたところ、それぞれで遺伝子型効果が得られた。

アスパラギン酸比率ではある染色体上の 0～30cM 付近 (図 1) で種雄牛 A の父由来の遺伝子型 (■) を持つものの比率が高い傾向があり、種雄牛 A の母由来の遺伝子型 (●) を持つものは比率が低い傾向がみられた (参考図)。

アラニン比率ではある染色体上の 0~30cM 付近(図 2)で種雄牛 A の母由来の遺伝子型を持つものの比率が高い傾向があり、種雄牛 A の父由来の遺伝子型を持つものは比率が低い傾向がみられた。

グルタミン酸比率①ではある染色体上のほぼ全域付近(図 3)で種雄牛 A の母由来の遺伝子型を持つものの比率が高い傾向があり、種雄牛 A の父由来の遺伝子型を持つものは比率が低い傾向がみられた。

グルタミン酸比率②ではある染色体上の 60~80cM 付近(図 4)で種雄牛 A の母由来の遺伝子型を持つものの比率が高い傾向があり、種雄牛 A の父由来の遺伝子型を持つものは比率が低い傾向がみられた。

ヒスチジン比率ではある染色体上の 60~85cM 付近(図 5)で種雄牛 A の父由来の遺伝子型を持つものの比率が高い傾向があり、種雄牛 A の母由来の遺伝子型を持つものは比率が低い傾向がみられた。

表 各種非必須アミノ酸比率と連鎖していた染色体領域数

	Asp	Ala	Arg	Ser	His	Gly	Glu	Pro
p<0.005	2	2	2	1		1		2
p<0.001	1	1			1		2	

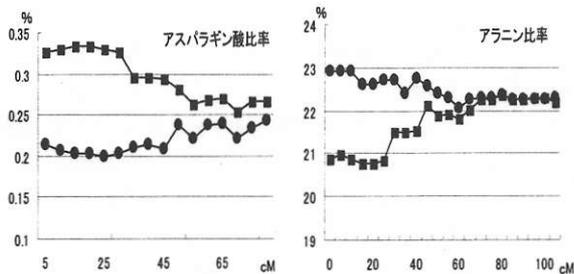
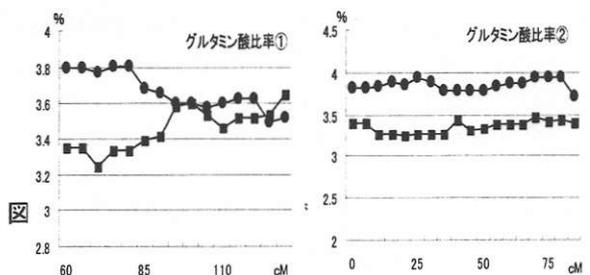


図 1 (左) ある染色体上でのアスパラギン酸比率の遺伝子型効果

図 2 (右) ある染色体上でのアラニン比率の遺伝子



図

図 4 (右) ある染色体上でのグルタミン酸比率②の遺伝子型効果

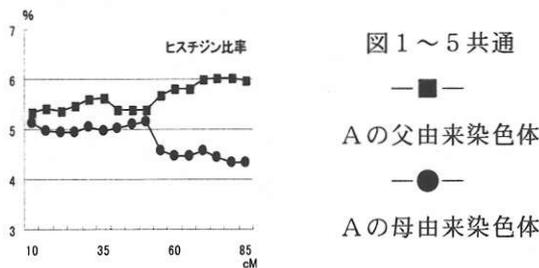


図 5 ある染色体上でのヒスチジン比率の遺伝子型効果

4 まとめ

以上の結果から和牛肉中の非必須アミノ酸比率と連鎖する染色体領域をいくつか見つけることが出来たため、これらの比率と遺伝が何らかの形で関与していることが示唆された。

今後は連鎖がみられた染色体領域を詳しく調査することにより、各非必須アミノ酸に影響を与える遺伝子を調査する。

また、今回の結果は種雄牛 A の子孫でのみの結果して得られておらず、また A 家系内でのサンプル数も少ないため、今後は他の家系での解析およびサンプル数を増やしての解析を試みる予定である。

引用文献

1) Keele JW, Shackelford SD, Kappes SM, Koohmaraie M, Stone RT. 1999. A region on Bovine chromosome 15 influences beef Longissimus tenderness in steers. J Anim Sci Jun;77:1364-1371