

Short Report

フィールド教育研究センターで飼育する肉用牛における

成長ホルモン遺伝子多型

佐藤勝祥

秋田県立大学生物資源科学部アグリビジネス学科

現在、本学フィールド教育研究センター（FC）で飼育されている日本短角種牛は、粗飼料の利用効率に優れており放牧飼育に適していることから、地元の飼料資源を有効に活用してのびのびと飼育された、安全安心な食肉資源として魅力的である。動物の成長を調節する主要な内分泌物質として成長ホルモン（GH）が挙げられる。GH 遺伝子には数種類の変異が確認されており、今回の研究では 127 番目と 172 番目のコドンに見られる 1 塩基多型に着目して研究を行った。本学 FC で飼育されている肉用牛（日本短角種牛 12 頭と黒毛和種牛 3 頭）の血液からゲノム DNA を採取し、GH 遺伝子型を解析した結果、全ての個体が AB 型と定義する GH 遺伝子を持つという結果となった。A 型および B 型の GH 遺伝子を持つ牛は、体が大きくなりやすく筋肉内脂肪（サシ）が入りにくいといった特徴を持つことが知られている。赤身肉の生産性に優れた日本短角種牛の特性と、赤身肉本来の味が魅力であると考えられる本学 FC の飼養方針の結果、本学 FC で飼育する肉用牛では AB 型の GH 遺伝子を持つ個体が多くなったと考えられる。

キーワード：成長ホルモン、遺伝子多型、SNP、日本短角種牛

近年、輸入飼料に依存した我が国の牛肉生産は BSE 等の発生に見られる食の安全性に関する問題や、集約的な飼養形態における家畜福祉等の多くの問題を抱えている。現在、本学フィールド教育研究センター（FC）にて飼育されている日本短角種牛は、粗飼料の利用効率に優れており放牧飼育に適していることから、地元の飼料資源を有効に活用してのびのびと飼育された、安全安心な食肉資源として魅力的である。

動物の成長を調節する主要な内分泌物質として成長ホルモンが挙げられる。筆者は家畜の飼育環境（特

にストレス状態）を制御することで、成長ホルモン等の内分泌動態を調節し、生産性や肉質の改善を目標とした研究を行っている。これまでの研究から、牛の成長ホルモン遺伝子には数種類の変異が確認されており、体の大きさや脂肪の付き方、筋肉内脂肪（サシ）の入り方に違いが見られることが明らかとなっている（Ardiyanti et al., 2009）。

具体的には、127 番目と 172 番目のコドンに 1 塩基多型（SNP; Single Nucleotide Polymorphism）と呼ばれる変異が確認されている。千国らによって見つけ出されたこれらの変異は、127 番目のコドンがロイシンを 172 番目のコドンがスレオニンをコードしている遺伝子型を A 型、127 番目のコドンがバリンを 172 番目のコドンがスレオニンをコードしている遺伝子型を B 型、127 番目のコドンがバリンを 172 番目のコドンがメチオニンをコードしている遺伝子型を C 型と定義されている（表 1）。

表 1 GH 遺伝子における変異

遺伝子型	コドン 127	コドン 172
A	CTG (Leucine)	ACG (Threonine)
B	GTG (Valine)	ACG (Threonine)
C	GTG (Valine)	ATG (Methionine)

これらの遺伝子型について、A 型の成長ホルモンを持つ牛は体が大きくなる傾向が見られ、C 型の成長ホルモンを持つ牛は体が小さいが筋肉内脂肪（サシ）が多く入る傾向が報告されている。また、B 型の成長ホルモンを持つウシは、A 型と C 型の中間の特徴を持つ。

これまでの報告では、黒毛和種牛に注目した研究が多く、同じ肉用牛である日本短角種牛に関する報告は少ない。現在本学 FC では、日本短角種牛の特性を活かした粗飼料多給による飼育を行っている。サシの入りやすい黒毛和種牛とは異なり、美味しい赤身肉生産が魅力の日本短角種牛の力をさらに発揮させるために、成長ホルモン遺伝子多型を指標とした肉質の改良や飼育環境の検討を目標とした。

そこで本研究では、FC で飼育する日本短角種牛における成長ホルモン遺伝子多型発現分布の調査と、生産性・肉質との関連を検討することを目的とした。

材料および方法

ゲノム DNA の抽出とアレル特異的 PCR 法

フィールド教育研究センターで飼育する肉用牛（日本短角種 12 頭、黒毛和種牛 3 頭）の血液からゲノム DNA を抽出し、PCR 法と電気泳動法を用いて GH 遺伝子多型を検討した。ゲノム DNA の抽出は Nucleospin Blood (タカラバイオ株式会社) を用いた。PCR 条件は、EmeraldAmp PCR Master Mix (タカラバイオ) を用いて、Master Mix 25 μ l, GH 4F Forward プライマー 2.5 μ l, GH 5R Reverse プライマー 2.5 μ l, GH AR Reverse プライマー 1.25 μ l, GH ABR Reverse プライマー 1.25 μ l, gDNA 2 μ l, 超純水 15.5 μ l の

割合で反応液を調整し、98°C で 10 秒間、62°C で 30 秒間、72°C で 30 秒間を 30 サイクル実施した。この時、プライマー溶液の最終濃度が、GH 4F Forward プライマーと GH 5R Reverse プライマーは 10pmol/ml, GH AR Reverse プライマーと GH ABR Reverse プライマーは 5pmol/ml となるように調整した。用いたプライマー配列を表 2 に示す (Chikuni et al., 1997, Ardiyanti et al., 2009)。

GH 遺伝子型判定

増幅した PCR 産物を、2%アガロースゲルを用いて 30 分間電気泳動した後、ChemiDoc™ Touch イメージングシステム (Bio Rad) を用いて撮影し、GH 遺伝子多型を解析した。

今回の実験に用いたプライマーの組み合わせでは、A 型の遺伝子型を持つ試料では 347bp の位置に、B 型の遺伝子型を持つ試料では 484bp の位置に、また、C 型の遺伝子型を持つ試料では 656bp の位置にバンドが現れる。これらの条件と電気泳動の結果から、各個体の GH 遺伝子型を判定した。

結果と考察

フィールド教育研究センターで飼育している肉用牛の GH 遺伝子型

電気泳動結果を図 1 に示す。ウシ No.1~12 が日本短角種、No.13~15 が黒毛和種の結果を示している。今回の結果では、全ての試料において、347bp と 484bp の位置にバンドが確認された。この結果から、本試験で供試した個体は、全て AB 型の GH 遺伝子を持つことが明らかとなった。

先行研究の結果から、A 型あるいは B 型の成長ホルモンを持つ牛は体が大きくなる傾向が明らかにな

表 2 GH 遺伝子多型 PCR プライマー配列 (千国ら, 1997)

遺伝子	塩基配列	プロダクトサイズ
GH 4F Forward	5' -TCTATGAGAAGCTGAAGGACCTGGAGGAA-3'	
GH AR Reverse	5' - CGGGGGTGCCATCTTCCAG-3'	347 bp
GH ABR Reverse	5' -ATGACCCTCAGGTACGTCTCCG-3'	484 bp
GH 5R Reverse	5' -CCAGAATAGAATGACACCTACTCAGACAAT-3'	656 bp

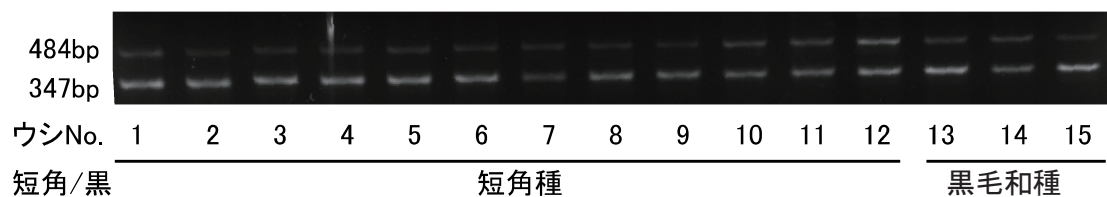


図1 電気泳動結果. 全ての個体において, 347bp と 484bp の位置にバンドが見られる

っている. C 型の GH 遺伝子を持つ牛は筋肉内脂肪 (サシ) が入りやすいが, 体はあまり大きくならないといった特徴が報告されている (Ardiyanti et al., 2009, 加藤, 2016). また, C 型の GH 遺伝子は黒毛和種牛においては多数確認されているが, 日本短角種牛を対象とした GH 遺伝子多型における研究では, C 型の GH 遺伝子を持つ個体はほとんど報告されていない.

黒毛和種牛においては, 今回供試した個体 (No.13 ~15) は全ての個体が AB 型の GH 遺伝子を持つ個体であった. 黒毛和種牛においても, 多くの個体が A 型あるいは B 型の GH 遺伝子を持つことが報告されている.

また, 今回供試した日本短角種牛 (No.1~12) は全ての個体が AB 型の GH 遺伝子を持つ個体であった. 日本短角種牛は放牧飼育に適しており, 赤身肉の生産能力に優れていることから, 筋肉内脂肪 (サシ) が入るような改良よりも, 体が大きくなる個体を選ばれることが多く, 結果として A 型あるいは B 型の GH 遺伝子を持つ個体が多くなったと考えられる. 加えて, 本学 FC では日本短角種牛の赤身肉生産能力を最大限に活かし, 赤身肉本来の味を感じてもらうため B2 等級を基準に飼養管理を行っている. 筋肉内脂肪 (サシ) がたっぷり入った肉質ではなく, のびのびとした環境での赤身肉生産を行ってきた結果, AB 型の GH 遺伝子を持つ個体が多くなっていると考えられる.

謝辞

本研究は, 秋田県立大学平成 28 年度学長プロジェクト「部局提案型研究推進事業 (若手)」の支援を受けて行った.

文献

- Ardiyanti A, Oki Y, Suda Y, Suzuki K, Chikuni K, Obara Y and Katoh K. (2009). Effects of GH gene polymorphism and sex on carcass traits and fatty acid compositions in Japanese Black cattle. *Animal Science Journal* 80:62-69
- Ardiyanti Astrid, 平山琢二, 阿部剛, 庄司則章, 小林栄治, 千国幸一, 鈴木啓一, 盧尚建, 加藤和雄. (2009) 黒毛和牛における枝肉形質, 脂肪酸組成, 内分泌機能および脂肪酸合成に関する遺伝子発現量に及ぼす GH 遺伝子多型の影響. 栄養生理研究会報 vol.53 (2) : 11-18
- Chikuni K, Fukumoto Y, Tanabe R, Muroya S, Ozawa S. (1997). A simple method for genotyping the bovine growth hormone. *Animal Genetics* 28:230-232
- 加藤和雄 (2016). 黒毛和種牛 GH 遺伝子多型の生産性への影響. 東北畜産学会報 65 (3) :31-35
- 安田康明, 佐々木恵美, 山田彰司, 長谷川清寿, 安部茂樹 (2002). 島根県における牛成長ホルモン遺伝子の多型について (第 2 報). 島根県畜産試験場研究報告 第 35 報 : 5~8

〔平成 29 年 6 月 30 日受付〕
〔平成 29 年 7 月 11 日受理〕

The distribution of growth-hormone gene polymorphism in beef cattle in Akita Prefectural University Field Education and Research Center.

Katsuyoshi Sato

Department of Agribusiness, Faculty of Bioresource Sciences, Akita Prefectural University

In recent years, the idea of animal welfare has become widespread in animal husbandry. Japanese shorthorn cattle are excellent in lean meat productivity and their meat is very flavorful; they also show suitable grazing. I have studied Japanese Shorthorn cattle with attention to their hormones. The aim of this study was to investigate the distribution of bovine growth hormone (bGH) polymorphism caused by nucleotide substitution of CTG (allele A)/GTG (allele B) at codon 127 and of ACG (allele A and B)/ATG (allele C) at codon 172 of bGH, GH genotypes at beef cattle in Akita Prefectural University Field Education and Research Center (FC). In the results of this study, all animals, Japanese Shorthorn cattle (n = 12) and Japanese black cattle (n = 3), had a genotype AB of bGH. In previous reports, the cattle with allele A or B had great carcass weight, and heifers with genotype CC had a tendency to have higher BMS than other genotypes. We are aiming to produce excellent lean meat, so suggest that there be mostly alleles A and B in FC.

Keywords: keyword Growth Hormone, genotype, SNP, Japanese Shorthorn Cattle