

黒毛和種における産肉形質関連遺伝子の分析に関する研究

- 黒毛和種繁殖雌牛集団における成長ホルモン遺伝子型と発育成績との関係 -

川田智弘、堀井美那¹、蓼沼亜矢子²、阿久津友紀子、白井幸路、半田真明¹、福井えみ子³、吉澤緑³

¹農政部畜産振興課、²県北家畜保健衛生所、³宇都宮大学農学部生物生産科学科

要 約

繁殖雌牛とその産子集団について成長ホルモン(GH)遺伝子の遺伝子多型を分析し、発育成績や産肉能力育種価評価値との比較を行った。その結果、育種価と遺伝子型との関係では、LLおよびLV型はVV型に比較して産肉量に関わる遺伝的能力が高く、産子の生時体重および発育成績と遺伝子型との関係では、いずれもVV型が低いことが判明した。この結果により、GH遺伝子型が繁殖雌牛における産肉量、発育能力などの量的形質に関する有用なDNAマーカーであることが証明された。

緒 言

近年、肉牛市場における産地間競争が拡大する中で、栃木県産肉用牛の市場競争力を確保するためには産肉能力の向上が重要である。このためには、優良な雌牛を選抜・保留し計画交配することにより能力の高い素牛を速やかに生産することが求められる。そこで、種牛を供用月齢の出来るだけ早い段階で能力評価するための技術が必要となる。現在産肉能力評価に一般的に用いられているアニマルモデルBLUP法(以下BLUP)は有用な評価技術である(Sasakiら2006)¹⁾が、BLUPによる実用的な精度での産肉能力育種価の算出には1頭以上の後代牛の産肉情報が必要であり、産肉能力の育種価評価には、最短でも初産後代牛の肥育が終了するまでの4~5年の期間を要してしまう。さらに、育種価の正確度は得られた産肉データの頭数により左右されるため、十分な正確度が得られない場合は、メンディアンサンプリングによる能力評価値と実際の能力との間に大きな乖離が生じる可能性がある。このような問題点は、種雄牛に比較し産子の生産頭数が圧倒的に少ない繁殖雌牛における育種価評価データの活用において大きな課題となると考えられる。特に、栃木県では種雄牛を所有せず、肉用牛の改良の主体を繁殖雌牛側から進めていくことが求められている。そこで、繁殖雌牛における育種価の利用を補助するために、能力評価の新たな技術開発が求められる。

肉牛の経済性を左右する要因として肉質と肉量は重要である。これらに關与する責任遺伝子の変異が枝肉成績に影響を与える場合、この遺伝子型をマーカーとすることにより、遺伝子型解析により産肉能力を評価することが可能となる。しかし、多様な産肉形質に対して、関係性が検討されている責任遺伝子はまだ少ない。

この責任遺伝子の一つとして、本研究ではGH遺伝子に着目した。GH遺伝子についてはSehleeら(1994)²⁾、Okaら(2007)³⁾、河野ら(2005)⁴⁾などが枝肉成

績との関連性を報告している一方、Geら(2003)⁵⁾は明確な関連性が見られないとしており、結果は必ずしも一致していない。

我々は、肥育牛の生体診断による結果に基づき、黒毛和種のGH遺伝子の変異と筋肉組織や脂肪組織の発育成績や発達パターンに関係があることを明らかにした(図1 川田ら 未発表)。このことから、GH遺

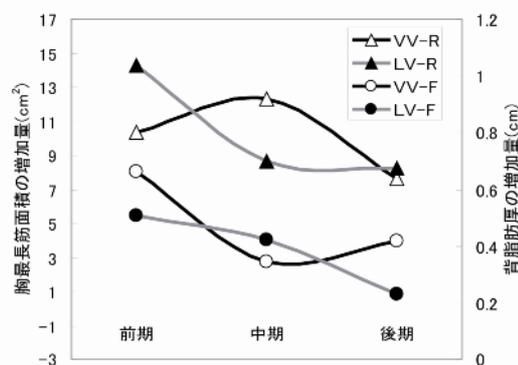


図1 GH遺伝子型(VV型・LV型)における各肥育期間中の胸最長筋面積および背脂肪厚の増加パターン

- VV-R VV型の胸最長筋面積増加量
- LV-R LV型の胸最長筋面積増加量
- VV-F VV型の背脂肪厚増加量
- LV-F LV型の背脂肪厚増加量

伝子型がDNAマーカーとなる可能性が推測されるが、実際に繁殖雌牛改良のための改良に有効であるかを検討するためには、繁殖雌牛牛群における遺伝子型の頻度や既存の能力評価方法との比較を検討する必要がある。そこで、本実験では、栃木県外の繁殖牛生産県から導入し、栃木県畜産試験場で繋養されている繁殖雌牛とそれらから生産された産子を栃木県内繁殖雌牛牛群のモデルとし、これらのGH遺伝子第127番

アミノ酸残基における変異 (Leu/Val) を分析して、遺伝子型と雌牛自身の遺伝的能力やその産子の発育成績を比較することにより、GH 遺伝子多型のマーカーとしての効果を検討した。

方法

(1) 供試牛群について

栃木県外の繁殖雌牛優良産地から導入され、栃木県畜産試験場で繋養されている繁殖雌牛 13 頭 (母牛) と、これらの牛から生産された産子 39 頭 (雄 11 頭、雌 28 頭) を供試牛とした (表 1)。

表1 供試繁殖雌牛(母牛)の生産県別頭数および産子供試牛頭数 (頭)

生産県	繁殖雌牛 (母牛)	産子 (雄牛)	産子 (雌牛)
大分県	4	2	9
宮崎県	5	4	15
島根県	2	2	1
兵庫県	2	3	3
計	13	11	28

母牛の生産県は大分県 4 頭、宮崎県 5 頭、島根県 2 頭、兵庫県 2 頭であり、全ての母牛について、自身から生産した子牛の肥育枝肉成績に基づき、栃木県内繁殖雌牛育種価解析集団における産肉能力育種価評価値を算出した。また、これら母牛からの産子については、出生時の体重、150 日齢および 300 日齢時の体重および体高を計測し、これに基づき 1 日当たりの増体重 (DG) を算出した。なお、供試牛の飼養管理については、栃木県畜産試験場の定法により行った。飼料は日本飼養標準 肉用牛に基づき給与量を決定した。また、産子は自然哺育とし、4 ヶ月齢で離乳とした。

(2) 成長ホルモン遺伝子の解析

黒毛和種の GH 遺伝子において、第 127 番および第 178 番アミノ酸残基に置換を引き起こす 2 種類の多型が報告されているが (千国 1991⁶⁾, 1994⁷⁾、本実験では、このうち第 5 エクソン中に存在する 127 番アミノ酸残基置換に関して、千国ら (1991⁶⁾) の方法に基づき多型解析を行った。

DNA サンプルの抽出

供試牛およびその母牛の頸部静脈血をヘパリン含真空採血管を用いて 10ml 採血し、遠心分離して得られた buffy coat を Lysis Buffer で洗浄し、400 μl の EDTA Buffer と混和し、これに 20 μl SDS および 4 μl のプロテナーゼ K を加え 37 °C で一晩インキュベートし融解した。これに 400 μl のフェノール・クロロフォルム・イソアミルアルコールを加えて 30 秒間よく混和し、15,000rpm (室温) で 5 分間遠心分離し、上清を別のサンプルチューブに移した。以上の

操作を 3 回繰り返した。次に、クロロフォルム・イソアミルアルコールを 400 μl 加えて 30 秒間よく混和し、15,000rpm (室温) で 5 分間遠心分離し、上清を別のサンプルチューブに移した。これに、40 μl の 3M 酢酸ナトリウムおよび 1000 μl の 100% エタノールを添加し、よく混和した。これを 15,000rpm (4 °C) 10 分間遠心分離し DNA を沈殿させて上清を取り除いた。これに 70% エタノールを加えて再度 15,000rpm (4 °C) で 10 分間遠心分離して上清を取り除き、5 分間乾燥させエタノールを完全に蒸散させた。このサンプルに 400 μl の TE Buffer および 1 μl の RNase を添加してよく混和し、37 °C で一晩インキュベートした。これを前述と同じ方法で再びフェノール・クロロフォルム抽出、クロロフォルム抽出をし、エタノール沈殿により DNA を精製し、得られたサンプルを滅菌蒸留水に融解し、次の操作に用いた。

PCR による遺伝子の増幅

GH 遺伝子第 5 エクソンの約 600 bp を PCR 法により増幅した。プライマーは千国ら (1991⁶⁾) が報告したものをを用いた (図 2)。反応液を 50 μl とし、その組成はプライマー各 1 μl (100pmol/μl), dNTP Mixture 4 μl (2.5mM each), 10× PCR Buffer 5 μl, Taq 0.5 μl (Takara Ex TaqTM), 滅菌蒸留水 38.5 μl とした。

プライマー-1 5' TATGAGAAGCTGAAGGACCTGGAGGAA 3' (27bp)

プライマー-2 5' AGAATAGAATGACACCTACTCAGACAAT 3' (28bp)

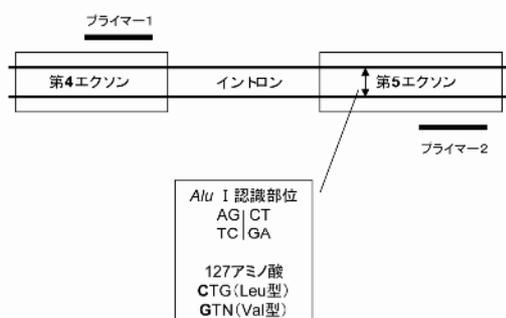


図2 GH 遺伝子型判定に用いたプライマーおよび制限酵素による切断位置

反応液を混合し、そこにテンプレートとしてサンプル DNA を 1 μl 添加して PCR 処理を行った。PCR 条件は 98 °C で 10 秒、55 °C で 30 秒、72 °C で 1 分を 30 回繰り返すこととした。

電気泳動による遺伝子型の判定

PCR 産物をエタノール沈殿し、乾燥後制限酵素で切断しアガロース電気泳動法により遺伝子型を判定した。

PCR により増幅されたサンプルに 3 M 酢酸ナトリウムおよび 100% エタノールを混和し高速遠心分離器を用いて 4 °C 15,000rpm で 10 分間遠心分離を行っ

た。これらの上澄を取り除き、70%エタノールを添加し、再度高速遠心分離器を用いて4 15,000rpmで10分間遠心分離を行った。再び上澄を取り除き、5分間乾燥させた後10μlの滅菌蒸留水で希釈した。サンプルに制限酵素 *Afu* 1μl (3ユニット: TaKaRa), 10×buffer (100mM Tris-HCl(pH 8.5), 100mM MgCl₂, 10mM DTT) 滅菌蒸留水7μlを添加し、37℃で1時間インキュベートした。

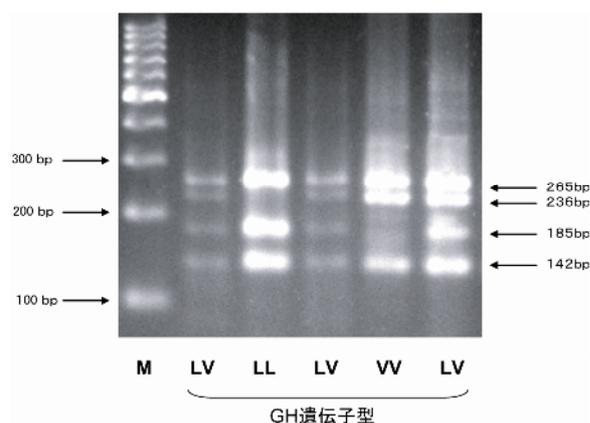


図3 *Afu* I 制限酵素処理によるGH遺伝子型の判別
4% Nusieve GTG アガロースゲル電気泳動によるDNAフラグメント分析
M: 100bp DNA ladder

次に1×TBE bufferを泳動槽に満し、4%アガロースゲル(NuSieve 3:1 Agarose)を用いて、DNAサンプル7μlと6×Loading bufferを混和し、ウェルへ注入後、50Vで2時間電気泳動を行った。泳動後、アガロースゲルをエチジウムブロミド溶液で1時間染色し、紫外線照射によりバンドパターンによりロイシン型(L)、バリン型(V)の遺伝子型を判別した。

(3) データ処理

遺伝子型間における産肉能力育種価、発育成績等のデータは主にSASのGLMプロシジャを用いて解析し、遺伝子型を要因とする1元配置分散分析を行った。さらに有意差が示されたものについてLSD(最小有意差)法による多重比較を行った。

結果

(1) 母牛及び産子のGH遺伝子型解析

表2は、母牛13頭のGH遺伝子型分析結果および生産県を示したものである。これら13頭のGH遺伝子型はLL型3頭(23.1%)、LV型5頭(38.5%)、VV型5頭(38.5%)の3タイプに判別された。また、導入県別の頻度について、LL型は大分県導入の牛のみに見られ、兵庫県導入牛についてはW型のみであった。また、宮崎、島根導入牛についてはLV型、W型両方のタイプが見られた。

表2. 母牛の遺伝子型分析結果および生産県

No.	bGH遺伝子型	導入県
A	LL	大分
B	LL	大分
C	LL	大分
D	LV	島根
E	LV	宮崎
F	LV	大分
G	LV	宮崎
H	LV	宮崎
I	VV	島根
J	VV	兵庫
K	VV	兵庫
L	VV	宮崎
M	VV	宮崎

表3は、これら母牛からの産子39頭(雄11頭、雌28頭)についてGH遺伝子型の分析結果を示したものである。遺伝子型はLL型2頭(5.1%)、LV型29頭(74.4%)、VV型8頭(20.5%)の3タイプに分類された。

表3 産子の遺伝子型分析結果

牛No.	bGH遺伝子型	雌雄	交配種雄牛	母牛		
				No. GH遺伝子型	生産県	
1	VV	♂	北国7の8	D	LV	島根
2	LV	♀	雷電	D	LV	島根
3	LV	♂	高梁	I	VV	島根
4	LV	♀	北国7の8	J	VV	兵庫
5	VV	♀	北国7の8	J	VV	兵庫
6	VV	♀	福栄	J	VV	兵庫
7	VV	♂	福栄	K	VV	兵庫
8	VV	♂	北国7の8	K	VV	兵庫
9	LV	♂	北国7の8	K	VV	兵庫
10	LV	♀	北国7の8	A	LL	大分
11	LV	♀	美津福	A	LL	大分
12	LV	♀	美津福	A	LL	大分
13	LV	♀	北国7の8	A	LL	大分
14	LV	♂	美津福	B	LL	大分
15	LV	♀	美津福	B	LL	大分
16	LV	♀	美津福	B	LL	大分
17	LV	♂	北仁	L	VV	宮崎
18	LV	♀	北国7の8	L	VV	宮崎
19	VV	♀	美津福	L	VV	宮崎
20	VV	♀	美津福	L	VV	宮崎
21	LV	♀	北国7の8	L	VV	宮崎
22	LV	♂	福栄	E	LV	宮崎
23	LV	♀	美津福	E	LV	宮崎
24	LV	♀	北国7の8	E	LV	宮崎
25	LV	♀	北国7の8	E	LV	宮崎
26	VV	♀	北国7の8	E	LV	宮崎
27	LV	♂	美津福	C	LL	大分
28	LV	♂	北湖2	C	LL	大分
29	LV	♀	栄404	C	LL	大分
30	LV	♀	美津福	C	LL	大分
31	LV	♂	福栄	F	LV	大分
32	LV	♀	初藤	F	LV	大分
33	LV	♀	北国7の8	G	LV	宮崎
34	LV	♀	美津福	G	LV	宮崎
35	LL	♀	北国7の8	H	LV	宮崎
36	LV	♀	安平	H	LV	宮崎
37	LV	♀	福栄	H	LV	宮崎
38	LV	♀	福栄	H	LV	宮崎
39	LL	♀	北国7の8	H	LV	宮崎

(2) GH遺伝子型と育種価との比較

これらの母牛について、栃木県の繁殖雌牛集団20,126頭におけるアニマルモデルBLUP法により算出された枝肉重量、胸最長筋面積、バラ厚、背脂肪厚、歩留まり、脂肪交雑の6つの産肉能力推定育種価と遺伝子型との関連性を比較した。今回分析した母牛群については、解析集団とした20,126頭の牛群に対して6つの形質のうち、枝肉重量及び脂肪交雑について上位及び下位1/4に順位される個体を含むものであったが、

表 4 は母牛における遺伝子型別の推定育種価平均値を示したものである。産肉能力育種価と GH 遺伝子型との関係について、この表より、LL、LV 型は W 型と比較して産肉量に関わる遺伝的能力が高い傾向がみられ、特に枝肉重量、バラ厚については LV 型と W 型との間に 5%水準で有意差が見られ、ロース芯面積についても有意差は見られないものの LL 型の能力が高い値を示した。なお、皮下脂肪厚については LL 型と W 型との間に 5%水準で有意差が見られたものの、脂肪交雑については各遺伝子型で顕著な差は見られなかった。

次に、この母牛の推定育種価および本解析集団における種雄牛の推定育種価をもとに産子の期待育種価を算出し、遺伝子型別の育種価平均値を比較した(図 4)。表 5 は去勢雄牛、表 6 は雌牛産子の値を示したものである。去勢雄牛産子については LV 型と W 型に分類でき、統計的な有意差は無いものの枝肉重量およびロース芯面積について LV 型の方が大きい傾向が見られた。雌牛については、LL 型、LV 型、W 型に分類され、LL、LV 型は W 型と比較して枝肉重量、バラ厚などの産肉量に関わる遺伝的能力が高い傾向にあり、特に枝肉重量において LL 型と W 型との間に 5%水準で有意差が見られ、バラ厚については LL 型 > LV 型 > W 型の順で各遺伝子型間に 5%水準の有意差が見られた。しかし、去勢雄牛および雌牛とも脂肪交雑については遺伝子型間で顕著な差は見られなかった。

(3) GH 遺伝子型と産子の発育成績との比較
供試母牛から生産された産子について、遺伝子型と

生時体重および発育成績を比較した(図 5)。表 7 はこれら産子の雌雄別の生時体重および 150 日齢、300 日齢の体重、体高、1 日当たりの増体重 (DG) の平均値を示したものである。150 日齢および 300 日齢における体高、300 日齢における体重において、5%水準で雌雄に有意差が見られた。

これらの産子のうち、雄子牛について、生時体重、分娩後 150 日および 300 日における体重、体高、一日あたり増体重 (DG) 平均値を母牛の遺伝子型別(表 8)、本牛の遺伝子型別(表 9)に比較した。母牛の遺伝子型間においては、各計測値に統計的な有意差はみられなかったが、平均生時体重、300 日齢の各測定値平均は LL 型 > LV 型 > W 型となる傾向が見られた。しかし、150 日齢における測定値はむしろ W 型が LL 型を上回る傾向が見られた。雄子牛の遺伝子型間においては、産子の遺伝子型が LV 型 W 型の 2 種類しか見られたかったので、この間の比較しか出来なかったが、生時体重、300 日齢の体重、体高において両者間に 5%水準での有意差が見られ、LV 型が W 型に比べ高い傾向を示した。

また、雌子牛についても同様に生時体重、分娩後 150 日および 300 日における体重、体高、一日あたり増体重 (DG) 平均値を母牛の遺伝子型別(表 10)、本牛の遺伝子型別(表 11)に比較を行った。母牛の遺伝子型間においては、300 日齢の体高において LL 型、LV 型と W 型との間に 5%水準で有意差が見られ、W 型が低い傾向が見られた。また、有意差は見られないものの、各計測値は LL 型、LV 型よりも W 型の方が低い値となる傾向が見られた。雌子牛本牛の遺伝子型間

表 4 繁殖雌牛(母牛)における各遺伝子型別の産肉能力育種価平均値の比較

遺伝子型	n	枝肉重量(kg)	ロース芯面積(cm ²)	バラ厚(cm)	皮下脂肪厚(cm)	歩留	脂肪交雑
LL	3	43.965 (±5.75)	8.333 (±2.83)	0.215 (±0.05)	0.596 (±0.09) ^b	0.378 (±0.26)	1.204 (±0.88)
LV	5	44.475 (±19.60) ^b	5.329 (±1.96)	0.471 (±0.32) ^b	-0.091 (±0.55)	0.618 (±0.43)	0.943 (±0.20)
VV	5	-9.680 (±46.93) ^b	2.471 (±3.60)	-0.204 (±0.47) ^b	-0.381 (±0.24) ^b	0.610 (±0.29)	0.791 (±0.40)
平均	13	26.253 (±40.18)	5.378 (±3.52)	0.161 (±0.45)	0.041 (±0.52)	0.535 (±0.33)	0.979 (±0.47)

b: 同符号間で有意差 (p<0.05)
(カッコ内)±標準偏差

表 5 産子雄牛(去勢)における各遺伝子型別の産肉能力育種価平均値の比較

遺伝子型	n	枝肉重量(kg)	ロース芯面積(cm ²)	バラ厚(cm)	皮下脂肪厚(cm)	歩留	脂肪交雑
LV	7	13.698 (±18.33)	4.890 (±2.84)	0.187 (±0.150)	-0.022 (±0.320)	0.673 (±0.388)	1.311 (±0.392)
VV	3	-3.640 (±31.15)	2.178 (±1.51)	0.207 (±0.341)	-0.320 (±0.120)	0.745 (±0.194)	1.305 (±0.143)
平均	10	8.500 (±22.58)	4.076 (±2.76)	0.193 (±0.202)	-0.111 (±0.304)	0.695 (±0.331)	1.309 (±0.327)

(カッコ内)±標準偏差

表 6 産子雌牛における各遺伝子型別の産肉能力育種価平均値の比較

遺伝子型	n	枝肉重量(kg)	ロース芯面積(cm ²)	バラ厚(cm)	皮下脂肪厚(cm)	歩留	脂肪交雑
LL	2	56.331 ^b	5.408	0.972 ^b	-0.070	0.813	1.377
LV	20	24.598 (±19.53)	5.582 (±1.25)	0.395 (±0.281) ^b	-0.034 (±0.281)	0.816 (±0.245)	1.309 (±0.301)
VV	5	2.849 (±22.90) ^b	4.003 (±1.81)	0.163 (±0.134) ^b	-0.289 (±0.134)	0.857 (±0.302)	1.394 (±0.098)
平均	27	22.921 (±22.91)	5.276 (±1.43)	0.395 (±0.339)	-0.084 (±0.265)	0.823 (±0.241)	1.330 (±0.262)

b: 同符号間で有意差 (p<0.05)
(カッコ内)±標準偏差

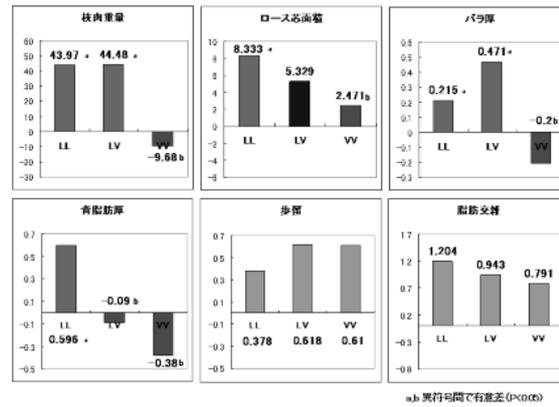


図4 場内繋養牛のGH遺伝子型と産肉能力育種価評価値と関係

表7 産子の雌雄別における生時体重および育成成績

雌雄	N	生時体重(kg)	300日齢			150日齢		
			体重(kg)	体高(cm)	DG(kg/day)	体重(kg)	体高(cm)	DG(kg/day)
雄	11	28.8 (±2.80)	295.6 (±11.2) ^b	116.7 (±0.6) ^a	0.89 (±0.04) ^b	161.4 (±22.11)	100.3 (±6.35) ^a	0.88 (±0.13)
雌	28	28.6 (±4.56)	270.2 (±18.0) ^b	111.6 (±3.3) ^a	0.81 (±0.09) ^b	151.5 (±21.45)	96.7 (±3.49) ^a	0.82 (±0.13)

a 同符号間では有意差 (P<0.01)
 b 同符号間では有意差 (P<0.05)
 (カッコ内) ± 標準偏差

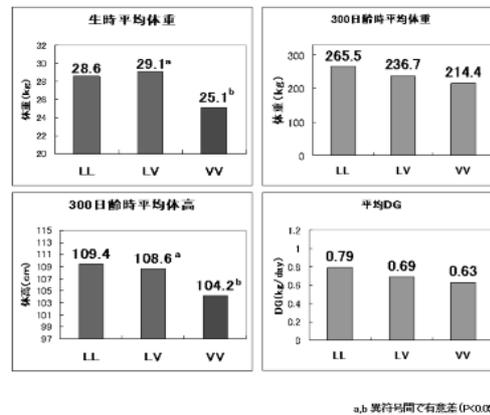


図5 場内生産牛のGH遺伝子型と育成成績との関係

表8 雄牛(去勢)産子の母牛GH遺伝子型別における生時体重および育成成績

母牛の 遺伝子型	N	生時体重(kg)	300日齢			150日齢		
			体重(kg)	体高(cm)	DG(kg/day)	体重(kg)	体高(cm)	DG(kg/day)
LL	3	29.5 (±2.80)	304.3 (±11.24)	118.0 (±0.6)	0.92 (±0.04)	150.5 (±22.11)	98.3 (±6.35)	0.81 (±0.13)
LV	3	29.1 (±4.56)	294.0 (±18.03)	116.9 (±2.93)	0.88 (±0.05)	171.8 (±9.61)	101.9 (±1.70)	0.95 (±0.7)
VV	5	27.8 (±6.60)	288.4 (±53.90)	115.2 (±5.22)	0.87 (±0.16)	162.0 (±28.06)	100.5 (±4.34)	0.89 (±0.17)

(カッコ内) ± 標準偏差

表9 雄牛(去勢)産子のGH遺伝子型別における生時体重および育成成績

遺伝子型	N	生時体重(kg)	300日齢			150日齢		
			体重(kg)	体高(cm)	DG(kg/day)	体重(kg)	体高(cm)	DG(kg/day)
LV	8	30.8 (±3.76) ^a	307.9 (±22.7) ^b	117.9 (±2.01) ^b	0.92 (±0.07)	164.8 (±20.96)	101.0 (±4.16)	0.89 (±0.13)
VV	3	22.9 (±1.00) ^a	258.0 (±44.4) ^b	112.5 (±5.02) ^b	0.78 (±0.15)	153.0 (±28.47)	98.3 (±4.73)	0.87 (±0.91)

a 同符号間では有意差 (P<0.01)
 b 同符号間では有意差 (P<0.05)
 (カッコ内) ± 標準偏差

表10 雌産子の母牛GH遺伝子型別における生時体重および発育成績

母牛の 遺伝子型	N	生時体重(kg)	300日齢			150日齢		
			体重(kg)	体高(cm)	DG(kg/day)	体重(kg)	体高(cm)	DG(kg/day)
LL	8	29.1 (±2.79)	270.3 (±21.03)	112.5 (±2.88) ^a	0.80 (±0.07)	156.3 (±14.0)	97.9 (±2.51)	0.85 (±0.08)
LV	13	29.0 (±3.49)	280.3 (±23.82)	112.8 (±2.73) ^b	0.84 (±0.08)	152.7 (±21.4)	96.5 (±4.19)	0.82 (±0.14)
VV	7	27.4 (±4.22)	251.4 (±40.11)	108.5 (±3.25) ^{ab}	0.75 (±0.12)	143.7 (±28.8)	95.6 (±2.99)	0.78 (±0.18)

a 同符号間で有意差(P<0.01)
b 同符号間で有意差(P<0.05)
(カッコ内)±標準偏差

表11 雌産子のGH遺伝子型別における生時体重および発育成績

母牛の 遺伝子型	N	生時体重(kg)	300日齢			150日齢		
			体重(kg)	体高(cm)	DG(kg/day)	体重(kg)	体高(cm)	DG(kg/day)
LL	2	31.1 (±3.54)	307.0 (±4.24) ^a	114.5 (±0.71) ^a	0.92 (±0.03) ^a	176.0 (±1.4) ^a	97.9 (±4.95)	0.97 (±0.03) ^a
LV	21	29.2 (±2.46) ^a	275.1 (±20.72) ^b	112.2 (±2.68) ^b	0.82 (±0.07) ^b	155.5 (±17.9) ^b	97.1 (±3.29)	0.84 (±0.12) ^b
VV	5	25.1 (±5.16) ^a	235.2 (±36.81) ^{ab}	107.8 (±3.77) ^{ab}	0.70 (±0.11) ^{ab}	124.7 (±15.0) ^{ab}	94.4 (±3.74)	0.66 (±0.08) ^{ab}

a 同符号間で有意差(P<0.01)
b 同符号間で有意差(P<0.05)
(カッコ内)±標準偏差

においては、産子の遺伝子型が LV 型の個体が非常に多く見られたが、生時体重においては LV 型と VV 型との間に、300 日齢の体重、体高、DG、150 日齢の体重、DG においては LL 型、LV 型と VV 型との間に 5% 水準で有意差がみられ、いずれも VV 型が低い傾向が見られた。

この発育成績の差が種雄牛による影響である可能性を検討するために、これらの産子雌牛のうち、同一の種雄牛によって生産されたもののみについて同様の比較を行った。表 12 は種雄牛 M「北国 7 の 8」を交配して生産された雌牛に対して生時体重および発育成績を比較したものであるが、雌子牛全体を比較したものと同様に LL 型、LV 型が VV 型よりも発育成績が良好であり、150 日齢における体重および DG、300 日齢における体重および体高について LV 型、LL 型と VV 型との間に

統計的な有意差が、150 日齢における体高および 300 日齢における DG について LV 型と VV 型との間に統計的な有意差が見られた。また、表 13 は種雄牛 M「美津福」を交配して生産された雌牛に対して生時体重および発育成績を比較したものであるが、各項目において統計的に有意差は見られないものの、体重や体高などの発育に関する平均値は LV 型は VV 型に比較して高い値を示した。さらに、同一の遺伝子型において、異なる種雄牛について発育成績等を比較したところ、表 14 のとおり、150 日齢における DG、300 日齢における体重および DG において統計的に有意差がみられ、種雄牛 M「北国 7 の 8」が種雄牛 K「美津福」よりも高い値を示したが、体高については有意差は見られないが種雄牛 M「美津福」が種雄牛 K「北国 7 の 8」よりも高い値を示した。

表12 種雄牛Kを種雄牛とする雌産子のGH遺伝子型別における生後150日および300日齢での発育成績

遺伝子型	n	生時体重	生後300日			生後150日		
			体重(kg)	体高(cm)	DG	体重(kg)	体高(cm)	DG
LL	2	31.1 (± 3.54)	307 (± 4.24) ^a	114.5 (± 0.71) ^c	0.92 (± 0.03)	176.0 (± 1.41) ^d	97.9 (± 4.95)	0.97 (± 0.03) ^a
LV	8	28.4 (± 1.49)	291.5 (± 16.76) ^b	111.4 (± 2.04) ^b	0.88 (± 0.06) ^b	168.6 (± 9.96) ^a	97.8 (± 1.92) ^a	0.93 (± 0.07) ^a
VV	2	24.9 (± 5.16)	255.5 (± 7.78) ^{ab}	107.0 (± 1.41) ^{bc}	0.77 (± 0.04) ^b	128.0 (± 1.41) ^{ad}	91.0 (± 0.85) ^a	0.69 (± 0.04) ^{cd}

a 同符号間で有意差(P<0.01)
b、c、d 同符号間で有意差(P<0.05)
(カッコ内)±標準偏差

表13 種雄牛Mを種雄牛とする雌産子のGH遺伝子型別における生後150日および300日齢での発育成績

遺伝子型	n	生時体重	生後300日			生後150日		
			体重(kg)	体高(cm)	DG	体重(kg)	体高(cm)	DG
LV	8	29.9 (± 3.97)	266.2 (± 18.24)	112.8 (± 3.11)	0.754 (± 0.1)	153.92 (± 18.4)	98.5 (± 3.13)	0.8218 (± 0.12)
VV	2	27.7 (± 6.65)	226 (± 62.23)	109 (± 7.07)	0.661 (± 0.19)	122.75 (± 29.3)	97.5 (± 3.54)	0.6337 (± 0.15)

(カッコ内)±標準偏差

表14 同GH遺伝子型で種雄牛が異なる雌産子の生後150日および300日齢での発育成績

種雄牛	n	生時体重	生後300日			生後150日		
			体重(kg)	体高(cm)	DG	体重(kg)	体高(cm)	DG
K	8	28.4 (± 1.49)	291.5 (± 16.76) ^b	111.4 (± 2.04)	0.877 (± 0.06) ^a	168.56 (± 9.96)	97.8 (± 1.92)	0.9345 (± 0.07) ^b
M	6	30.7 (± 3.25)	266.2 (± 18.24) ^b	112.8 (± 3.11)	0.785 (± 0.06) ^a	153.92 (± 18.4)	98.5 (± 3.13)	0.8218 (± 0.12) ^b

a 同符号間で有意差(P<0.01)
b 同符号間で有意差(P<0.05)
(カッコ内)±標準偏差

考 察

本研究では、黒毛和種において GH 遺伝子多型が栃木県内の繁殖雌牛集団の能力評価に有効であるか否かを検討するために、栃木県畜産試験場で繋養されている繁殖雌牛と、それから生産された産子を集団とする牛群を栃木県内のフィールドにおけるモデルとし、この集団の遺伝子型分布を分析した。

供試牛のうち、母牛の GH 遺伝子型では 3 つの型が得られ、頻度は LL 型 3 頭 (23.0%)、LV 型 5 頭 (38.5%)、VV 型 5 頭 (38.5%) であり遺伝子頻度は L 遺伝子 42.3%、V 遺伝子 57.7%であった。黒毛和種における GH 遺伝子型は千国ら (1994)⁷⁾により 127 番と 172 番アミノ算残基置換をとまなう A (127L/172T)、B (127V/172T)、C (127V/172M) 型の 3 つが存在することが報告されており、本研究では 127 番アミノ酸残基型 (L 型、V 型) の判別に限定して遺伝子解析をおこなったが、これらの遺伝子型別の頻度については、小林ら (2007)⁸⁾が岐阜県有種雄牛について ABC 型の判別を行い、AB 型 18.0%、AC 型 4.0%、BB 型 36.0%、BC 型 30.0%、CC 型 12.0%であったと報告しており、これを LV 型で区分すると LL 型 0%、LV 型 22%、VV 型 78%となる。また、塩崎ら (2004)⁹⁾は鳥取県有種雄牛における ABC 型の判別を行い、AA 型 50%、AC 型 26.2%、AB 型 14.3%、BB 型 7.1%、BC 型 2.4%と報告しており、これを LV 型で区分すると LL 型 50%、LV 型 40.5%、VV 型 9.5%となる。岡ら (2005)¹⁰⁾は、兵庫県のみ馬牛種雄牛について ABC 型の判別を行い、AA 型 1.4% (2/141 頭)、AB 型 6.4% (9/141 頭)、AC 型 3.5% (5/141 頭)、BB 型 27.7% (39/141 頭)、BC 型 42.6% (60/141 頭)、CC 型 18.4% (26/141 頭) であったと報告しており、これを LV 型で区分すると LL 型 1.4%、LV 型 9.9%、VV 型 88.7%となる。さらに、片岡ら (2003)¹¹⁾は、岡山県有種雄牛について ABC 型の判別を行い、AA 型 20.8% (5/24 頭)、AB 型 8.3% (2/24 頭)、AC 型 33.4% (8/24 頭)、BC 型 12.5% (3/24 頭)、CC 型 25.0% (6/24 頭) であったと報告しており、これを LV 型で区分すると LL 型 20.8%、LV 型 41.7%、VV 型 37.5%となる。安田ら (2000)¹²⁾は、島根県有種雄牛について ABC 型の判別を行い、AA 型 17.6% (9/51 頭)、AB 型 9.8% (5/51 頭)、AC 型 21.6% (11/51 頭)、BB 型 19.6% (10/51 頭)、BC 型 21.6% (11/51 頭)、CC 型 9.8% (5/51 頭) であったと報告しており、これを LV 型で区分すると LL 型 17.6%、LV 型 31.4%、VV 型 51.0%となる (表 15)。これらの報告から GH 遺伝子型頻度には地域により偏りがあると考

えられるが、今回の実験で分析した母牛の各遺伝

表 15 栃木県畜産試験場繋養雌牛群と他県牛群との GH 遺伝子型頻度の比較

分析地域	遺伝子型頻度 (%)			備考
	LL	LV	VV	
栃木	23.0	38.5	38.0	供試牛 ¹⁾
岐阜	0.0	22.0	78.0	小林ら (2007)
鳥取	50.0	40.5	9.5	塩崎ら (2004)
兵庫	1.4	9.9	88.7	岡ら (2005)
岡山	20.8	41.7	37.5	片岡ら (2003)
島根	17.6	31.4	51.0	安田ら (2000)

1)は栃木県畜産試験場繋養雌牛牛群
その他は各県有種雄牛群の分析

子型割合は比較的多様な頻度を示し、これは、表 1 のとおり全国の様々な産地から導入された牛であるためと考えられる。栃木県は、県有種雄牛を保有していないため、改良素材の大半を県外からの高能力牛導入に頼らざるをえず、様々な血統構成を持つ繁殖雌牛が保留されている。この点から、我々の分析に用いた牛群は遺伝子的多様性を有しており、栃木県における牛群のモデルとして適当であると考えられる。また、比較検討に用いたアニマルモデル BLUP 法による各産肉形質育種価は、表現型に対する環境からの影響を統計的に取り除き、個体が持つ遺伝的改良能力を評価することの出来る指標である。今回 GH 遺伝子型を分析した母牛牛群の育種価評価値の分布は、栃木県における育種価算出集団における上位および下位 1/4 にあたる非常に能力的に幅の広い個体を含んでいたことから、この点からも、栃木県における GH 遺伝子型をマーカー利用検討のための集団として有効であることが確認できた。

我々が分析した GH 遺伝子型と、母牛および産子の育種価との比較では、母牛では LL 型および LV 型が VV 型に対し、枝肉重量やバラ厚、皮下脂肪厚などの肉量に関わる形質について育種価が高く、Schlee ら (1994)²⁾、Oka ら (2007)³⁾、河野ら (2005)⁴⁾の報告とも概ね一致する傾向がみられた。また、子牛の発育成績と GH 遺伝子型についても、GH 遺伝子型として L 型を保因する個体の方が V 型ホモの個体よりも概ね優れた能力を示したことから、黒毛和種繁殖雌牛における産肉能力の改良を図る上で、GH 遺伝子型の増体能力における遺伝子マーカーとしての有用性を確認できた。

子牛の発育成績における母牛の GH 遺伝子型の影響について、雄仔牛においては統計的有意差は見られなかったが、L 型保因牛が V 型ホモに比較して発育が良好な傾向を示し、雌子牛においては、LL 型、LV 型と VV 型との間に 5%水準で有意差が見られ、L 型保因牛が V 型ホモに比較して発育が

良好な傾向を示したことから、子牛の発育能力における母性効果の影響は排除しきれない問題であると考えられる。ウシの泌乳と GH 遺伝子型との関係については、Lee ら (1996)¹³⁾ や Grochowska ら (2001)¹⁴⁾、Guo ら (2005)¹⁵⁾ が乳量や乳質に関連性が見られたと報告している一方で、Falaki (1996)¹⁶⁾ や Yao ら (1996)¹⁷⁾ による関連性が見られなかったという報告もあり、いまだその関連性については解明されていない。特に黒毛和種の泌乳能力については、不明な点が多いことから、今後の検討課題であると考えられる。

参考文献

- 1) Sasaki Y, Miyake T, Gaillard C, Oguni T, Matsumoto M, Ito M, Kurahara T, Sasae Y, Fujinaka K, Ohtagaki S, Dougo T. Comparison of genetic gains per year for carcass traits among breeding programs in the Japanese Brown and the Japanese Black cattle. *Journal of animal science*. 2006. 82. 317-323.
- 2) Schlee P, R Graml, O Rottmann, F Pirchner. Influence of growth-hormone genotypes on breeding values of Shimental bulls. *Journal of animal breeding and genetics*. 1994. 111. 253-256.
- 3) OKA A, IWAKI F, IWAMOTO E, TATSUDA K. Effects of growth rate during the early fattening period on growth, carcass characteristics and circulating hormones in the different growth hormone genotypes of Japanese black steers. *Animal Science Journal*. 2007. 78. 142-150.
- 4) 河野幸雄. 系統及び成長ホルモン遺伝子型が異なる黒毛和種肥育牛の成長特性. *栄養生理学会報*. 2005. 49. 1-17.
- 5) Ge W, Davis ME, Hines HC, Irvin KM, Simmen RCM. Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor concentration and growth traits in angus cattle. *Journal of animal science*. 2003. 81. 641-648.
- 6) 千国幸一, 寺田文典, 陰山聡一, 小石川常吉, 加藤貞雄, 小堤恭平. PCR 法を用いた牛成長ホルモン遺伝子 127 番アミノ酸部位塩基配列の多型検出. *日本畜産学会報*. 1991. 62. 660-666.
- 7) 千国幸一, 長妻常人, 田畑利幸, 門間美千子, 斎藤昌義, 小沢 忍, 小堤恭平. 和牛において見いだされた成長ホルモン遺伝子の多型. *日本畜産学会報*. 1994. 65. 340-346.
- 8) 小林直彦, 傍島英雄, 松橋珠子, 星野洋一郎, 林登, 酒井謙司, 山田英信. 黒毛和種種雄牛のウシ成長ホルモン遺伝子多型が子牛市場体重の母性遺伝効果・直接遺伝効果の育種価推定値に及ぼす影響. *動物遺伝育種研究*. 2007. 35. 235.
- 9) 塩崎達也, 西谷公志, 高取 等. 鳥取和牛における牛成長ホルモン遺伝子型多型と産肉特性について. *鳥取県畜産試験場研究報告*. 2004. 30. 23-28.
- 10) 岡 章生, 龍田 健, 岩元英治. 但馬牛種雄牛の成長ホルモン遺伝子型と枝肉形質育種価の関係. *兵庫県農業技術センター研究報告*. 2005. 41. 6-9.
- 11) 片岡博行, 馬場 誠, 石川和人, 塚本章夫. 岡山県の黒毛和種における牛成長ホルモン遺伝子の多型と産肉性. *岡山県総合畜産センター研究報告*. 2000. 11. 1-3.
- 12) 安田康明, 遠藤 治, 森脇秀俊, 板垣勝正. 島根県における牛成長ホルモン遺伝子の多型について. *島根県畜産試験場研究報告*. 2000. 33. 17-19.
- 13) Lee BK, Lin GF, Crooker BA, MurtauGH MP, Hansen LB, Chester-Jones H. Association of somatotropin (BST) gene polymorphism at the 5th exon with selection for milk yield in Holstein cows. *Domestic animal endocrinology*. 1996. 13. 373-381.

- 14) Grochowska R, Sorensen P, Zwierzchowski L, Snochowski M, Lovendahl P. Genetic variation in stimulated GH release and in IGF- of young dairy cattle and their associations with the leucine/valine polymorphism in the GH gene. *Journal of animal science*. 2001.79.470-476
- 15) Guo LZ, Hai GJ, Chen L, Shan LG, Qi Z, Yu HW. Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows. *Journal of biosciences*. 2005.30.595-598
- 16) Falaki MA, Prandi C, Corradini M, Sneyers N, Gengler S, Massart U, Fazzini A, Burny D, Portetlle, Renaville R. Relationships of growth hormone gene and milk protein polymorphisms to milk production traits in Simmental cattle. *Journal of dairy science*. 1996. 64. 47-56
- 17) Yao J, Aggrey SE, Zadworny D, Hayes JF, Khnlein U. Sequence variations in the bovine growth hormone gene characterized by single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis and their association with milk production traits in Holsteins. *Genetics*. 1996.144.1809-16.
-

