

## 豚のむれ肉の発生を減少させるために ——豚骨格筋リアノジン受容体遺伝子型検査——

(社)家畜改良事業団 家畜改良技術研究所 血液型検査課 森田 光夫

### 1. はじめに

いわゆる豚のむれ肉 (PSE肉: Pale Soft and Exudative pork) は、強い酸性を示し、色が淡く、柔らかく、保水性に欠けており、屠肉の経済的価値を著しく減少させます。むれ肉の発生の環境的要因としては、輸送や密飼あるいは屠殺時のストレスが考えられ、発生を防ぐためにはできるだけストレスを与えないように注意する必要があります。

一方、むれ肉の発生は、豚ストレス症候群 (PSS: Porcine Stress Syndrome) (豚悪性高熱症) と深く関連しており、これらを検査することでむれ肉の発生を予測することができます。すなわち、豚ストレス症候群を示す個体は、高頻度でむれ肉になることが知られています。また、豚ストレス症候群の発症は、豚骨格筋リアノジン受容体 (RYR1) 遺伝子の異常とも深く関連していることから、この遺伝子型を把握することがむれ肉の発生を減少させるためには非常に重要です。したがって、本稿では豚 RYR1 遺伝子の検査を中心に述べてみたいと思います。

### 2. ハロセン麻酔試験による豚ストレス症候群異常遺伝子の検出

豚ストレス症候群は遺伝的で、ハロセン麻酔試験によって顕著な筋肉硬直が認められることから、この方法が原因遺伝子を検出するための方法

として用いられてきました。このため、この遺伝子はハロセン遺伝子と呼ばれており、常染色体性劣性 (浸透率は95%程度) の遺伝様式をとります。すなわち、父母からそれぞれ遺伝される2つの遺伝子が共に異常遺伝子 (異常型) の場合にのみハロセン麻酔に異常反応し (ハロセン陽性豚)、正常遺伝子と異常遺伝子 (保因型) を持つ個体はハロセン試験で検出するのは困難です (図1)。しかし、保因豚はその子孫にハロセン陽性豚を生産する可能性があることから (図2)、ハロセン陽性豚と共に集団からできるだけ排除することが必要です。保因豚を検出するためには、当該豚をハロセン陽性豚に交配し、子豚にハロセン陽性豚が出現するかどうかで推定する交配試験を実施する必要がありますが、多大な経費と時間を必要とします。また、保因豚を検出するためには血液型と血液タンパク型のハプロタイプを利用した方法も試みられましたが、検査が複雑であることおよび確実性に欠けることから実用化するのは困難であると考えられています。

### 3. 豚ストレス症候群と豚リアノジン受容体1遺伝子の異常

豚ではストレス症候群として知られている悪性高熱症 (MH: Malignant Hyperthermia) は、ヒトや他の動物でもみられ、骨格筋リアノジン受容体 (RYR1) 遺伝子の異常で起こることが明

豚のむれ肉の発生を減少させるために

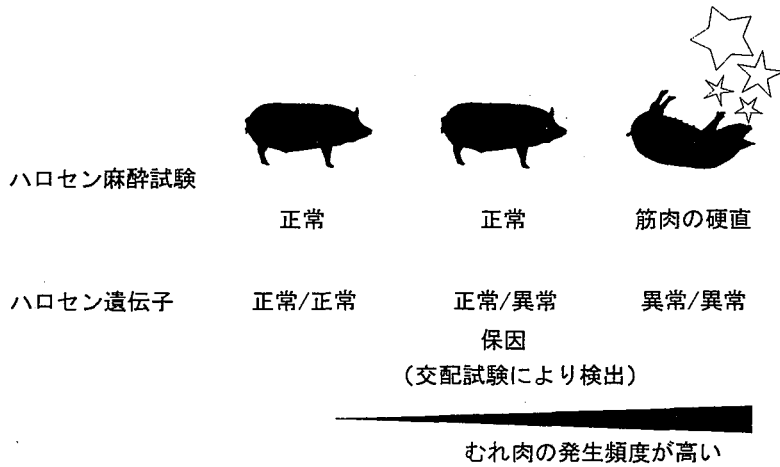


図1 ハロセン麻酔試験によるハロセン遺伝子（豚ストレス症候群）の検出とむれ肉の発生頻度

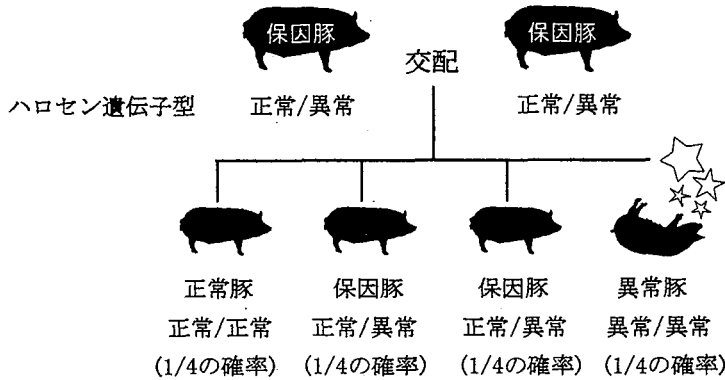


図2 ハロセン遺伝子保因豚どうしの交配による異常豚の発生

らかにされました。リアノジン受容体は、筋肉細胞のカルシウムイオンの貯蔵庫である小胞体からのカルシウムイオン放出をコントロールしており、細胞質内のカルシウムイオンが増加すると筋肉の収縮が起こります。悪性高熱症の場合、リアノジン受容体の感度が高くなりすぎ、筋肉の収縮に異常が起こるものと考えられています。

RYR1 遺伝子の異常は、その遺伝子を構成する塩基の1,843番目がシトシン(C)からチミン(T)に変化することにより起こっており、異常型(T/T型)の場合、大部分がハロセン陽性豚となります。しかし、異常型であっても、ハロセン陽性とならない豚や、逆にハロセン陽性であっても正常型である豚も時として検出されます。

4. DNAを用いた検査により保因豚も確実に検出  
ハロセン麻酔試験では、豚ストレス症候群の正常豚と保因豚を区別するのは非常に大変ですが、DNAを用いたRYSR 1遺伝子の検査では、容易に検出できます(図3)。したがって、この方法を用いれば、集団から確実に異常遺伝子を除去することが可能です。



C/C C/T T/T  
正常 保因 異常

図3 PCR-RFLP法(制限酵素 *Hha* I 使用)による豚 RYSR 1 遺伝子型の検査

#### 5. RYSR 1 遺伝子の検査法

豚 RYSR 1 遺伝子は、約15,000の塩基から構成されており、その1,843番目の塩基の異常がハロセン陽性に関連することから、この部分が正常遺伝子のシトシンであるか異常遺伝子のチミンであるかを検査します。

検査法は、まず、検査個体の血液、精液あるいは毛根等からDNAを抽出し、これを鋳型DNAとして用い、PCR(Polymerase Chain Reaction)法という方法によって、異常部分を含む特定の長さのDNA断片のコピーを数億本作り、検出し易

いようにします。この後、制限酵素を用いるRFLP法、SSCP法あるいは塩基配列検出法等のいずれかの方法で異常遺伝子であるかどうかを検査しますが、家畜改良事業団では、RFLP法と塩基配列検出法の両方法を用いてミスのないように検査を進めています。

#### 6. 家畜改良事業団での検査結果の表示法

##### 1) RYSR1-C/C (正常型の表示)

正常遺伝子のみで、異常遺伝子を持たないため、むれ肉になる可能性は低く、子孫に異常遺伝子を伝えることはありません。

##### 2) RYSR1-C/T (正常/異常の保因型の表示)

正常遺伝子と異常遺伝子を持ち、確率は低いがむれ肉になる可能性があります。1/2の確率でその子に異常遺伝子を伝えるため、交配豚によっては、子に異常ホモ型が現れる可能性があります。

##### 3) RYSR1-T/T (異常型の表示)

異常遺伝子のみを持つため、むれ肉になる可能性が高く、また、全ての子に異常遺伝子を伝えるため、子に異常型が現れる可能性が高い。

#### 7. 品種による異常遺伝子の出現頻度の違い

O'Brien et al. (1993) は、カナダ、アメリカおよびイギリスの集団を調査し、赤肉率が非常に高いベルギー原産のピエトレン種では、異常遺伝子の頻度が0.707と非常に高く、保因豚も含めると97%が異常遺伝子を持つと報告しています。また、デュロック種、大ヨークシャー種、ハンプシャー種およびヨークシャー種では同頻度がそれぞれ0.077, 0.096, 0.072および0.099であり、ラン

ドレース種では0.137から0.254で一般的な他の品種よりも多少高くなっています。しかし、これらの頻度は品種よりも集団によってかなりのばらつきがあることも観察されています。

国内の報告としては、芝田(1996)が品種を特定せずに450頭を調査し、異常遺伝子の頻度が0.082であり、保因豚が15.1%で、異常ホモ型が0.7%観察されたと報告しています。われわれの調査では、わが国の3品種700頭程度のRYR1異常遺伝子の頻度は、ランドレース種およびデュロック種で10%強、大ヨークシャー種で約4%でした。

このようにRYR1の異常遺伝子が品種や集団に広く分布してしまったのは、RYR1の異常遺伝子は赤肉生産のための遺伝子群と強く連鎖しているため、赤肉生産を高めるための育種の過程で浸透してきたものと考えられています。

#### 8. 異常遺伝子を減少させるための取り組み

家畜改良事業団は、(財)全国競馬・畜産振興会からの助成を受け、平成9年度から実施している「家畜遺伝子解析技術利用推進事業」の中で「ブタリアノジン受容体1遺伝子」も対象として調査をしています。

本事業は研究分野で開発された遺伝子解析技術等を、育種改良分野で利用するための方法を検討することを目的としており、異常遺伝子の広がりなどの程度なのか、どのぐらいの頻度で存在するのか等を調査しています。

調査対象豚は、各都道府県の系統造成用の種豚等で、畜産担当課を窓口として進められており、検査結果は各都道府県に報告されます。本事業で検査を実施する場合は、費用負担はありません。

その他の遺伝病についても、DNAによる検査法が確立された場合には、随時対応してゆく計画です。

RYR1遺伝子の検査につきましては、上記の事業以外に(財)日本種豚登録協会が進めている優良種豚広域利用促進事業の内の肉質改善促進事業を利用すれば、検査料および検体送料の2分の1が補助されます。手続きの詳細については、各都道府県の養豚協会にご相談下さい。

#### 9. 検査の申し込み方法

別添資料「家畜の遺伝子型検査実施要領」を参照して下さい。

#### 10. おわりに

現在調査しているRYR1遺伝子の1,843番目の塩基が正常であってもハロセン陽性豚やむれ肉になるものもあり、RYR1遺伝子の他領域の異常によって発症する可能性も考えられています。ヒトのRYR1遺伝子では、悪性高熱症の発症の原因となる数カ所の変異が観察されており、豚でも同様の可能性があります。また、RYR1遺伝子以外の異常によって起こる可能性も考えられており、今後の研究の進展に期待したいと思えます。

#### 参考文献

Fujii, J., K. Otsu, F. Zorzato, S. De Leon, V. K. Khanna, J. E. Weiler, P. J. O'Brien and D. H. MacLennan, (1991). Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253, 448-451.

藤井順逸 (1993). プタ HAL 遺伝子の検出: 骨格筋リアノジンリセプター遺伝子 (RYR1) の点突然変異. *J. Anim. Genet.*, 21, 56-61.

堀内 篤, 河原崎達雄, 知久幹夫, 曾根 勝, 野口博道 (1996). プタ骨格筋リアノジンリセプター遺伝子 (RYR1) 型と肉質の関係. *日畜会報*, 67(4), 387-392.

Nakajima, E., T. Matsumoto, R. Yamada, K. Kawakami, K. Takeda, A. Ohnishi, M. Komatsu, (1996). Use of a PCR-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) for detection of a point mutation in the swine ryanodine receptor (RYR1) gene. *J. Anim. Sci.*, 74, 2904-2906.

O'Brien, P. J., H. Shen, C. R. Cory, X. Zhang, (1993). Use of a DNA-based test for the mutation associated with porcine stress syndrome (malignant hyperthermia) in 10,000 breeding swine. *JAVMA*, 203, 842-851.

Oishi, T., H. Nishoji, A. Horiuchi, and I. Hyodo, (1981). Practical values of the Halothane, H, PHI, and 6PGD loci for exclusion of PSE pork in Japanese Landrace pigs. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, 52 (8), 586-594.

Otsu, K., V. K. Khanna, A. L. Archibald and D. H. MacLennan, (1991). Cosegregation of porcine malignant hyperthermia and a probable causal mutation in the skeletal muscle ryanodine receptor gene in backcross families. *Genomics*, 11, 744-750.

芝田 猛, 阿部恒夫, 川上和夫, 大西 彰, 武田久美子, 秋田富士, 落合 巖, 小坂昭三, 大山真二, 梶 雄次, 勝俣昌也 (1993). リアノジ

ンリセプターのミスセンス突然変異に由来する豚ハロセン遺伝子の DNA 診断と遺伝的多様性の予測. *日畜会報*, 65 (6), 563-570.

芝田 猛, 阿部恒夫, 秋田富士 (1994). ハプロタイプ (Hal, Gpi,  $\alpha 1$ Bg, 6Pgd) による豚ハロセン遺伝子型の推定. *九州東海大学農学部紀要*, 12, 19-26.

芝田 猛 (1996). 食肉用豚およびむれ肉発生個体における悪性高熱症原因突然変異. *日畜会報*, 67 (5), 476-481.

## 【資料】

### 家畜の遺伝子型検査実施要領

社団法人 家畜改良事業団 (以下「当団」という。)の実施する家畜の遺伝子型検査については、この要領の定めるところによる。

#### (目的)

第1 本検査は、分子生物学的手法により家畜のゲノム中に存在する特定の形質の発現に関与する遺伝子の変異を検出することにより当該形質の発現を予知し、その成績を家畜の育種に利用することを目的とする。

(検査の方法、判定の基準および検査成績の表示について)

第2 検査の方法、判定の基準および検査成績の表示法は、それぞれの遺伝子型検査について別に定めるものとする。

#### (検査の申し込み)

第3 検査を受けようとする者は、遺伝子型検査申込書 (別紙様式1) に必要事項を正確かつ明瞭に記載し、検査用試料 (以下「検体」という。) および検査手数料を添えて当団に送付するものとする。

2 申込者は原則として当該牛の所有者とする。

(検体の採取と送付)

第4 検体の採取とその表示ならびに送付は、申込者の責任において実施するものとする。

第5 検体は検査対象家畜の血液または他の体細胞とする。

(成績の通知)

第6 検査が終了したときは、判定結果を遺伝子型検査成績報告書(別紙様式2)により申込者に通知するものとする。

(検査手数料)

第7 検査手数料(消費税を含まず)は、別表に定める。

検査手数料は申込み時に支払うものとする。検査手数料を郵便振替、銀行振込などの方法で支払った場合、それを証明する書類(領収書など)のコピーを申込書に添付する。

(検体の衛生管理)

第8 検体は健康な動物から採取しなければならない。毛根部などのサンプルを採取する場合には、採取部位を水で洗った後消毒液でよく拭うなど、衛生保持に留意しなければならない。送付された検体が汚染されていると見なされたときは、検査を拒否することがある。

(個体の照合)

第9 申込書に記載する動物の個体識別に関する記録は、申込者の責任において正確かつ明瞭に記載しなければならない。また、試験管等の検体の表示と申込書の検体表示とは正確に一致させる。

(実施期日)

第10 この要領は、平成9年4月1日より実施する。

別 表

検査の種類	料 金	備 考
1 豚リアノジン受容体1	4,000円 (3,600円)	
2 牛白血球粘着不全症	6,500円	
3 牛バンド3欠損症	6,500円	
4 牛第XIII因子欠損症	6,500円	

( ) 内は、20サンプル以上を同時に送付する場合の料金