

## 毛色関連遺伝子の多型情報を用いた食肉からの豚品種推定

畜産試験場 育種部遺伝子機能研究室 三橋 忠由

### 1. はじめに

平成10年頃から、スーパーでは「黒豚」の表示を多く見かけるようになったが、消費者等から「本当の黒豚であるか疑問」、「ランドレースなどと交配すると白い豚になる。白い豚を黒豚と表示するのはどうか」といった意見があがっていた。このため「黒豚」について、純粋バークシャー種同士の交配による産子、とすることになった。ここで、食肉になった段階で純粋バークシャー種であることが分かるのか、という疑問が起こる。日本における主要な豚品種は白、茶色、黒と異なった毛色を持つことから、毛色を支配する遺伝子の異なりから品種を推定することが可能と考えられる。

日本の豚生産では主に、ランドレース種や大ヨークシャー種等の西洋白色種と褐色のデュロック種からの3元交雑種が用いられている(図1)。この三元交雑による豚は西洋白色種の優性白色により白色である。ここで取りあげる「黒豚」とは鼻先、尾端と四肢端の計6カ所が白く「六白」といわれているバークシャー種のことである。バークシャー種の脂肪は融点が高く、肉には甘みがあり特においしいとされてきた。しかし、一腹産子数が少なく、体重の増加も遅いため飼養頭数は徐々に減少し、平成9年2月時点では全国で約12万頭(全体の約1.8%)となっていた。

### 2. MC1R遺伝子

平成10年6月頃、DNAレベルでの豚の品種識別を目指し、畜産試験場とSTAFF研究所はその交流共同研究の中で毛色関連遺伝子のDNA多型を用いた豚の品種識別に関する研究を開始した。毛色は実験家系を用いた連鎖解析の結果からブタ第6番染色体上に支配領域があることが分かっており、その候補遺伝子はメラノサイト刺激ホルモンレセプター(MC1R)遺伝子であった。国内の主要品種は毛色において異なることから、MC1R遺伝子の解析を行えば主要な品種については交雑種かを知ることができると予測され、MC1Rの塩基配列測定を行った。

ランドレース種(白色)、大ヨークシャー種(白色)、デュロック種(褐色)、バークシャー種(黒色六白)、ハンプシャー種(黒色白ベルト)、梅山豚(黒色四肢端白)、モンカイ(黒色)、ニホンイノシシ(野生褐色)について、MC1R遺伝子の第2膜貫通領域を含む664bpの塩基配列を調べた。遺伝子増幅のためのプライマーの設計はデータベース(GenBank)に登録されているウシ、ヒト、マウスの当該遺伝子の情報から共通性の高い配列を作ることにより行った。

各ブタ品種のMC1R遺伝子の塩基配列決定を行った結果、8カ所に塩基配列の違いを認めた。違いの認められた部分をアミノ酸の翻訳単位コドンで示した(表1)。コドン90, 97, 116, 119, 159, 161, 163, 238において塩基置換が観察され、コ

ドン116, 163はアミノ酸の変化を伴わない置換、その他の変異は全てアミノ酸の変化を伴う置換であった。なお、コドン番号はマウスのMC1R遺伝子の配列の番号に倣った。

研究の途中、平成10年11月にスウェーデンのグループから、パークシャー種についての情報は含まれていなかったが、複数の品種についてMC1R遺伝子の多型測定の結果が公表された<sup>1)</sup>。同じ品種についての結果は両グループで一致していた。また、パークシャー種についてわれわれが調べたところ、西洋白色種と同じ型を示しており(表1)、MC1Rの遺伝子型のみでは識別できないことがかった。

### 3. KIT遺伝子

MC1R遺伝子の情報からだけでは、西洋白色種(ランドレース種, 大ヨークシャー種)とパークシャー種の識別ができなかった。そこで、毛色に関連するとされるもう一つの遺伝子, KIT遺伝子の塩基配列調査を行った。

大ヨークシャーおよびランドレースの白色は優性である。白色の理由が, KIT遺伝子の重複と重複遺伝子における変異によることがJohansson等<sup>2)</sup>, Markland等<sup>3)</sup>により示されていた。すなわち, 西洋白色種のKIT遺伝子は重複しており, 重複した方の遺伝子にはイントロン18に4塩基対の欠失がある。遺伝子は普通は1対だが白色豚のKIT遺

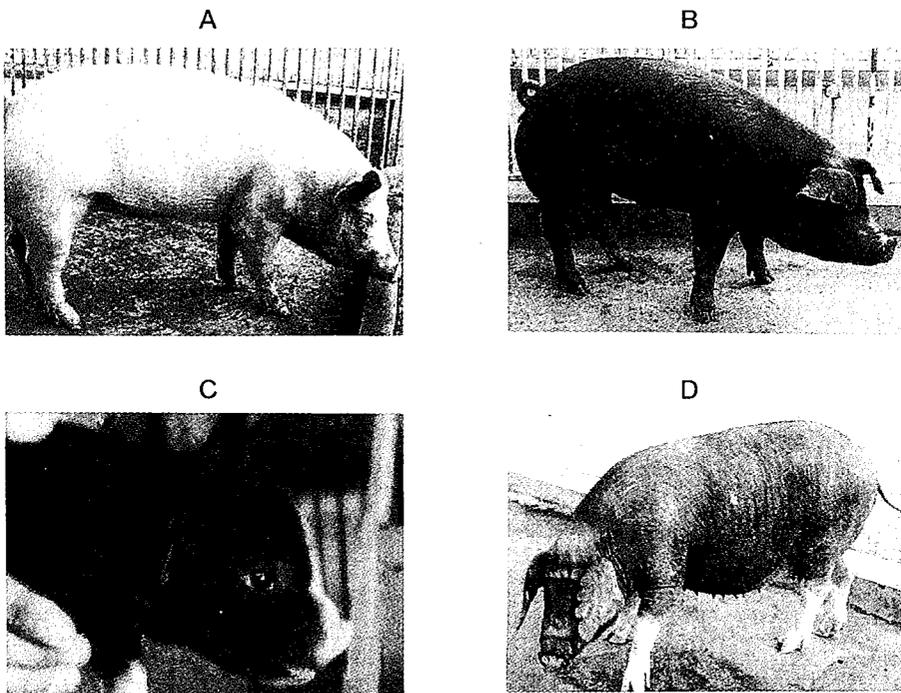


図1 豚品種とその毛色

- A. 西洋白色種(ランドレースあるいは大ヨークシャー)。本写真はデュロック(B)が交配されている「三元交雑種」であるが、優性白色遺伝子(KIT遺伝子)の影響で白色となっている。
- B. デュロック種。毛色は褐色であり肉質がよいとされる。
- C. パークシャー種(子豚)。鼻先、尾端、四肢端が白い(六白)。肉質が良好であるが産子数が少なく、増体も小さい。
- D. メイシャントン(梅山豚)。黒色で畜産試験場保有の個体は四肢端が白い。産子数が多い(16頭程度)。

伝子はコピーされ、計2対4つのKIT遺伝子を持つものや3つの遺伝子を持つものがある、ということになる。さらにコピーされたKIT遺伝子はエクソン17とイントロン17の境界に変異をもつ。すなわちイントロン17の最初の塩基がグアニン(G)からアデニン(A)に変化している。このことにより、その転写産物はエクソン17を欠く。

KIT遺伝子はブタ第8染色体の短腕に存在し、ヒトでは約70K bpの長さを持つ。KIT遺伝子のエクソン16から19にわたる約4Kbpについて、MC1R遺伝子の場合に加えヨーロッパイノシシ(野生褐色)とユカタンマイクロブタ(黒色)の塩基配列を調べた。品種間で配列の違いが見いだされた部分を抜粋して示した(表2)。

われわれの研究の中でも全ての試料において矛盾のないことが確認された。すなわち、西洋白色種と有色種の違い(表2の1313番目)、イントロン18内の4塩基対の有無(表2の3884~3887番目)が確認された。

この塩基配列情報により西洋白色種と有色種が識別可能となり、前述のMC1R遺伝子の情報と組み合わせることにより、主要な品種の推定は可能になった。

しかし、同じ白と黒の体毛色を持つバークシャー種(黒色六白)とハンブシャー種(黒色白ベルト)の識別は未だ可能ではなく、後述するイントロンの塩基配列情報を用いる必要があった。

#### 4. KIT遺伝子イントロンの多型

バークシャー種とハンブシャー種はどちらも白黒の体表面色を持ち、前述までの配列情報では識別できなかった。だが、KIT遺伝子のイントロン部分に両品種の推定に用いることができるとされる多型が存在していた。イントロン部分の配列比較の結果、以下のような塩基置換の特徴が認められた。

①バークシャー種の配列はニホンイノシシ、梅山豚、モンカイの配列と類似しており、東洋起源

表1 各品種に認められたMC1R遺伝子の配列

	コドン番号							
	90	97	116	119	159	161	163	238
M1 ニホンイノシシ	GTG	CTG	AAC	GAC	GCG	CGG	ATT	GCG
M2 ニホンイノシシ	---	---	---	---	---	---	--C	--A
M3 大ヨークシャー	---	---	--T	A--	---	---	--C	---
ランドレース								
バークシャー								
ハンブシャー								
M4 ランドレース	---	---	--T	A--	---	T--	--C	---
M5 デュロック	---	---	--T	---	-T-	---	--C	A--
M6 メイシャン	A--	-C-	---	---	---	---	--C	--A
モンカイ								

配列番号M1はニホンイノシシ6個体からの配列である。ニホンイノシシ2個体はM1およびM2のヘテロ型であった。M3に示す塩基配列は、大ヨークシャー6個体、ランドレース2個体、バークシャー8個体、ハンブシャー8個体からのものである。またランドレースでは上記のM3に示す塩基配列のホモ型2個体以外に、M3およびM4のヘテロ型が2個体、M4のホモ型が2個体であった。M5はデュロック6個体からの配列である。メイシャン6個体とモンカイ3個体を調べた結果、すべての個体はM6に示すタイプのホモ型であった。

毛色関連遺伝子の多型情報を用いた食肉からの豚品種推定

表2 KIT 遺伝子において塩基配列の品種間差が認められた部分

position	398	549	595	659	695	844	884	958	959	1313	1342	1632	1724	1837	1979	1986
K 1	T	A	A	T	C	G	C	C	A	G	G	G	C	A	A	A
K 2	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-
K 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-
K 4	C	G	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	T	-	T	G
K 5	C	G	-	-	-	-	A	-	G	-	A	-	T	-	T	G
K 6	C	G	-	-	-	-	-	-	G	A	-	-	T	-	T	G
K 7	C	G	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	T	-	T	G
K 8	C	G	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	T	-	T	G
K 9	C	G	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	T	-	T	G
K 10	-	-	T	-	-	A	-	-	G	-	-	A	-	-	T	G
K 11	-	-	-	-	T	-	-	T	G	-	-	A	-	G	T	G
position	2073	2179	2295	2313	2314	2360	2377	2391	2429	2449	2470	2472	2530	2600	2611	2622
K 1	G	C	G	C	C	C	C	G	C	G	G	C	T	G	A	C
K 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K 3	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K 4	-	G	-	-	-	-	T	C	-	-	-	A	-	A	G	-
K 5	-	G	-	-	-	-	T	C	-	-	-	A	-	A	G	-
K 6	-	G	-	-	-	-	T	-	-	-	-	A	-	A	G	-
K 7	-	G	-	-	-	-	T	-	-	-	-	A	-	A	G	-
K 8	-	G	-	-	-	-	T	-	-	-	-	A	-	A	G	-
K 9	-	G	-	-	-	-	T	-	-	-	A	A	-	A	G	-
K 10	-	-	A	T	A	T	-	-	*	A	-	-	-	-	G	T
K 11	A	-	A	T	A	-	-	-	*	A	-	-	G	-	G	T
position	2663	2674	2680	2717	2834	2840	2899	3020	3049	3154	3207	3221	3258	3296	3317	3323
K 1	A	C	T	C	A	A	G	G	C	A	C	A	G	T	T	T
K 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-
K 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-
K 4	G	-	C	-	-	T	-	A	-	G	T	C	A	C	C	C
K 5	G	-	C	-	-	T	-	A	-	G	T	C	A	C	C	C
K 6	G	-	C	-	-	T	-	A	-	G	T	C	A	C	C	C
K 7	G	-	C	-	-	T	-	A	-	G	T	C	A	C	C	C
K 8	G	-	C	-	-	T	-	A	-	G	T	C	A	C	C	C
K 9	G	-	C	-	-	T	A	A	-	G	T	C	-	C	C	C
K 10	G	G	C	T	G	T	-	-	A	G	-	C	-	C	C	C
K 11	G	-	C	T	-	T	-	-	A	G	-	C	-	C	C	C
position	3341	3373	3387	3420	3482	3597	3666	3705	3737	3773	3884	3885	3886	3887		
K 1	G	G	G	A	G	G	A	G	A	C	A	G	T	T		
K 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
K 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
K 4	A	-	A	-	A	-	G	A	-	-	-	-	-	-		
K 5	A	-	A	-	A	-	G	A	-	-	-	-	-	-		
K 6	A	-	A	-	A	-	G	A	-	-	-	-	-	-		
K 7	A	-	A	-	A	-	G	A	-	-	-	-	-	-		
K 8	A	-	A	-	A	-	G	A	-	-	*	*	*	*		
K 9	A	-	A	-	A	-	G	A	-	T	-	-	-	-		
K 10	-	T	-	G	A	T	G	A	G	-	-	-	-	-		
K 11	-	T	-	G	A	T	G	A	-	-	-	-	-	-		

測定した部分の約半分のみを表示している。K 1 : ニホンイノシシ。K 2 : メイションおよびパークシャー。K 3 : モンカイ。K 4 : ヨーロッパイノシシ(ヨーロッパイノシシとデュロック各1個体は、どちらも配列K 4 と K 5 のヘテロ接合体であった)。K 6 ~ K 8 : 大ヨークシャーおよびランドレース各1個体。K 9 : ハンプシャー。K 10 : パークシャー。K 11 : ユカタンマイクロブタ。

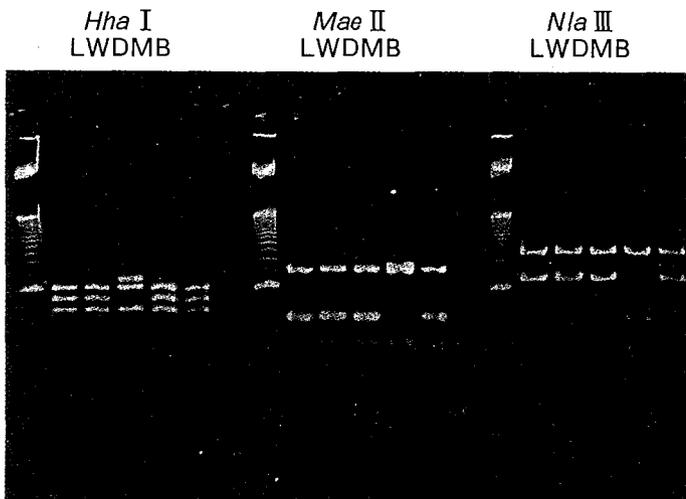


図2 MC1R遺伝子の制限酵素多型測定結果

L: ランドレース (白色), W: 大ヨークシャー (白色).  
 D: デュロック (褐色), M: メイシャン (黒色).  
 B: バークシャー (黒色)

と推察される。

②一方ハンプシャー種はヨーロッパイノシシ, 大ヨークシャー種, ランドレース種, デュロック種と類似しており, 西洋起源と推察される。

③また, 鹿児島県産の一部のバークシャー種の配列はユカタンマイクロブタと類似していた。

このようなイントロンの塩基配列の解析から, 調査したバークシャー種は東洋起源と考えられる配列を持ち, KIT遺伝子959番目の塩基多型(表2)により識別できると思われた。なお, バークシャー種はイギリスにおいて中国種を用いて造成された品種である。また, 鹿児島県にはかつてバークシャー種を南の島にいる島豚と交配した経緯があるとのことである。

ハンプシャー種は西洋起源と考えられる配列を持ち, KIT遺伝子2600番目の塩基多型により識別できると考えられた(表2)。

以上のように2つの毛色関連遺伝子の塩基配列

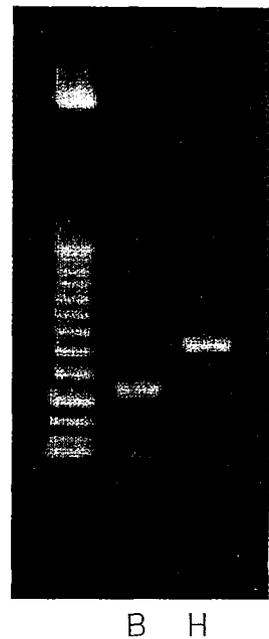


図3 制限酵素SmaIによるバークシャーとハンプシャーの識別

B: バークシャー, H: ハンプシャー

多型を複数の制限酵素を用いた切断長多型で検出することにより, 日本における主要なブタ品種, 白色品種(ランドレース, 大ヨークシャー), デュロック, バークシャー, ハンプシャーを食肉段階で推定できると考えられた(図2, 図3)。なお, 本方法はハム・ソーセージについても応用可能であった(表3)。

引用文献

1) Kijas, J., Wales, R., Tornsten, A., Chardon, P., Moller, M. and Anderson, L. (1998) Melanocortin Receptor 1 (MC1R) Mutations and Coat Color in Pigs. *Genetics*, 150:1177-1185.

2) Johansson, M.M., Chaudhary, R., Hellmen,

毛色関連遺伝子の多型情報を用いた食肉からの豚品種推定

E., Hoyheim,B., Chowdhary,B., Anderson,L. (1996) Pigs with the dominant white coat color phenotype carry duplication of the KIT gene encoding the mast/stem cell growth factor receptor. Mammalian Genome, 7:822-830.

3) Markland,S., Kijas,J., Rodoriguetz-Martinez,H., Ronnstrand,L. Funa.K., Moller,M., Lange,D., Edfors-Lilja,I. and Anderson,L.(1998) Molecular basis for the dominant white phenotype in the domestic pig. Genome Research. 8:826-833.

表3 5種類の制限酵素を用いたハム、ソーセージ等加工肉における遺伝子診断の結果

	制限酵素の種類(+ : PCR増幅部分が酵素で切断された, - : 切断されない)				
	MCIR遺伝子用		KIT遺伝子用		
	HhaI	NlaIII	Csp45I	MseI	SmaI
純粋パークシャー種					
ボンレスハム(A社)	+	-	-	+	+
ロースベーコン(A社)	+	-	-	+	+
ベーコン(A社)	+	-	-	+	+
ロースハム	+	-	+/-	+/-	+/-
ウインナー(A社)	+	-	-	+	+
F1パークシャー					
ボンレス(A社)	+	+	+/-	+/-	+/-
ロースベーコン(A社)	+	+	+/-	+/-	+/-
ベーコン(A社)	+	+	+/-	+/-	+/-
ウインナー(A社)	+	+	+/-	+/-	+/-
ウインナー(B社)	+	+	+/-	+/-	+/-
ポローニア(B社)	+/-	+	+/-	-	+/-
フランクフルトS(C社)	+/-	+	+	-	-
その他の品種					
ボンレス(D社)	+/-	+	+	-	-
ロースハム(E社)	+/-	+	+	-	-
ロースハム(F社)	+	+	+	-	-
ウインナー(B社)	+/-	+	+	-	-
ウインナー(F社)	+/-	+	+	-	-
ウインナー(E社)	+/-	+	+	-	-

測定結果：純粋パークシャー種ロースハム（西洋パークシャー種素材の混入），F1フランクフルト以外は全て表記通りの材料が用いられている。F1フランクフルトには国内パークシャー種は入っていない可能性がある。