— 特 集 —

遺伝子研究によるおい・かおりの研究動向

黒毛和牛の優れた風味とそれをもたらす遺伝子の解明

佐久間 弘典, 小林 栄治

和牛肉は優れた食味を持っている。ロース内の脂肪量（霜降り）だけでなく、脂肪の質（脂肪酸組成）および風味の要素である香りも輸入牛肉とは大きく異なっている。1 価の不飽和脂肪酸であるオレイン酸は、脂肪の融点に大きく影響し、牛肉を食した際のやわらかさや食味の良さに結び付いている。我々は、黒毛和種と外国種との交雑家系および黒毛和種集団を用いて、脂肪酸組成、特にオレイン酸割合に影響する遺伝子の一つを特定した。現在は、脂肪酸組成に影響するその他の遺伝子および和牛肉の特徴の一つである香り（和牛香）に影響する遺伝子の探索に取り組んでいる。

1. はじめに

神戸牛、米沢牛、飛騨牛といった牛肉は、値段が高いことから高級品である。牛肉の値段を決める第一は肉質、つまりおいしさであると考えてよい。一般に、外国産、国産、和牛の順においしさも値段も上がっていく。「外国産牛」は外国で生産され輸入されたものであり、「国産牛」とは日本国内で3か月以上飼育された牛を指している。牛肉の表示でわかりにくいのは「和牛」と「国産牛」の違いであろう。「和牛」は、国産牛に含まれるが、品種を指す言葉であり、黒毛和種、褐毛和種、無角和種および日本短角種またはこれらが交配された牛に限られる。一方、「国産牛」は主に乳用のホルスタイン種またはホルスタイン種と黒毛和種が交配された牛である。

牛肉のおいしさには脂肪交雑（牛肉への脂肪の入り方）の程度が大きく関与する。「A-5」とか「B-4」といった言葉を聞いたことがないだろうか。この中で後ろの数字が脂肪交雑のレベル（肉質等級）を指し、脂肪交雑の程度により1から5までクラス分けされている（<http://www.jmga.or.jp/>, (社)日本食肉格付け協会）。さらに、ロース肉の脂肪交雑の程度を示す指標であるBMS (Beef Marbling Standard) ナンバーは、この5段階をさらに詳細に12段階に分類したもので、市場価格を決める際の大きな要因になっている。黒毛和種は、役牛として利用されていた我が国の在来牛から脂肪交雑を増加させるように育種改良された品種である。一般に、輸入牛肉が赤身肉であるのに対し、国産牛肉は中程度の、和牛肉は霜降りの肉となっている。また、外国では牧草等の粗飼料を多く給与しているのに対し、国内ではトウモ

ロコシや麦類等の濃厚飼料を多給し生産している。おいしさには、好き嫌いといった主観的な嗜好性も加わるので、その要因を突き止めることは容易ではないが、少しでも畜産業の発展と豊かな食生活に寄与したいと考えている。そこで我々は、おいしい牛肉を効率良く生産することに貢献することを目的に、和牛肉のおいしさを科学的に明らかにし、優良な牛を選び出す育種改良というシステムの中で遺伝子の研究を進めている。本稿では、和牛肉の特徴、特に優れた食味の源である成分の分析とそれに関与する遺伝子の探索を紹介したい。さて、和牛肉はいったい何がおいしいのだろうか。

2. 牛肉の食味について

牛肉のおいしさに大きく影響する食味は、味、香り、食感（やわらかさや多汁性等）等によって構成されている。脂肪交雑が特徴である和牛肉では、輸入牛肉に比べ優れた食感や味、香りを持ち、消費者の評価も高い。ところが、それらの科学的な評価はそれほど明らかにされていない。一方、これらの要素に影響を及ぼしている項目は、脂肪の量や質、肉の物理性、呈味成分、香氣成分等多岐にわたっている。近年牛肉市場において、肉質を決める要素の一つとして脂肪の質が注目されてきていることから¹⁾、新たな改良形質として脂肪酸組成が重要な形質として考えられている。特に、食味に影響する因子として、以前から肉の断面を見て脂肪の量（脂肪交雑の程度）を評価しており、最近では脂肪の質を示す脂肪酸組成、特にオレイン酸（C18:1）の量が評価されるようになってきた。

牛肉の好ましさ、いわゆるおいしさには、国内外問わ

佐久間 弘典（さくま ひろのり）、小林 栄治（こばやし えいじ）

独立行政法人 家畜改良センター技術部 〒961-8511 福島県西白河郡西郷村大字小田倉字小田倉原1番地

E-mail: h0sakuma@nlbc.go.jp（肉質分析）、e0kobays@nlbc.go.jp（遺伝子分析）

ず、その食味の中でも風味が最も強く影響し、次いで食感であると報告されている^{2),3)}。特に黒毛和種牛肉が高く評価されるのは、脂肪交雑が良く入っている（脂肪の量が多い）ため、やわらかく感じることにある。また、おいしさに最も強く影響している風味には、脂肪の量や質（脂肪酸組成）、香气成分、赤肉由来の成分である呈味成分（遊離アミノ酸等）等が関与しているとされている。その中でも脂肪の質である脂肪酸組成と風味との関係については、飽和脂肪酸（SFA : saturated fatty acid）が少なく C18 : 1 含量が多いと風味が良くなるという海外の報告⁴⁾や、C18 : 1 は牛肉の良い香りに、リノレン酸（C18 : 3）は香りの強さにそれぞれ関係するという報告⁵⁾がなされていることから、近年日本で特に注目されている。黒毛和種牛肉における脂肪酸組成と風味との関係についての報告はまだ少ないものの、脂肪酸組成と脂肪の舌ざわりとの関係⁶⁾や中性脂肪の分子種と食感との関係⁷⁾等の報告があり、脂肪酸組成の重要性が増してきている。さらに、和牛には焼き肉の咀嚼後口から鼻に抜ける特有の「脂っぽく甘い香り」いわゆる「和牛香」が存在していることも和牛肉が高く評価される要因である。

3. 黒毛和種牛肉と輸入牛肉の肉質比較

まず、輸入牛肉に比較した黒毛和種牛肉の肉質の特徴を検討するため、通常肥育、すなわち濃厚飼料多給により肥育された黒毛和種（黒毛和種牛肉）と牧草だけで育てられた豪州産交雑種（輸入牛肉）のロースにおける理化学特性と官能特性を比較した。なお、官能評価については、試料間の差の有無、あるいは差の程度を識別する分析型官能評価と試料に対する人の嗜好を把握する嗜好型（一般型）官能評価の2つに大別されるが、本稿では、5味テストや識別能力判定テストをクリアした後に評価尺度等に関する訓練を経たパネルを用いて分析型官能評価を行った。

理化学特性の中でも一般成分（水分、粗脂肪および粗蛋白質含量）、加熱損失および剪断力価について比較した結果を表-1に示した。ロース肉における脂肪の占める割合を示す粗脂肪含量は、黒毛和種牛肉で38.0%、輸入牛肉で5.1%であり、給与飼料として濃厚飼料の多給と牧草のみの給与と異なるとはいえ、その差は30%以上と大きい結果であった。一方、粗脂肪含量とは逆に水分含量や赤身の占める割合を示す粗蛋白質含量は、輸入牛肉で黒毛和種牛肉より高い値を示した。肉を加熱した時の肉汁の流れ出る割合を示す加熱損失は、黒毛和種牛肉で輸入牛肉より10%程度低かったことから、加熱後の牛肉に残る肉汁の量は輸入牛肉より黒毛和種牛肉で多いことが示された。また、肉のかたさを示す剪断力価は黒毛和種牛肉で輸入牛肉より低かったことから、肉を嚼

表-1 黒毛和種牛肉および輸入牛肉の胸最長筋における一般成分および物理的特性

	黒毛和種牛肉 (n=7)	輸入牛肉 (n=10)	有意性
水分含量 (%)	47.6±3.0	73.1±1.0	**
粗脂肪含量 (%)	38.0±4.0	5.1±0.9	**
粗蛋白質含量 (%)	13.8±1.0	21.1±0.4	**
加熱損失 (%)	19.4±1.3	28.1±1.4	**
剪断力価 (kgf)	2.10±0.64	3.80±1.01	**

** ; p<0.01

表-2 黒毛和種牛肉および輸入牛肉の胸最長筋における脂肪酸組成および脂肪融点

	黒毛和種牛肉 (n=7)	輸入牛肉 (n=10)	有意性
C16 : 0 (%)	25.3±1.8	29.2±2.5	**
C16 : 1 (%)	3.7±0.5	2.4±0.9	**
C17 : 0 (%)	1.0±0.1	1.5±0.2	**
C17 : 1 (%)	0.9±0.2	0.7±0.2	
C18 : 0 (%)	10.8±1.1	19.5±4.8	**
C18 : 1 (%)	51.2±2.5	38.9±4.4	**
C18 : 2 (%)	2.3±0.4	2.3±0.3	
C18 : 3 (%)	0.1±0.0	0.6±0.2	**
SFA (%)	40.4±2.5	54.5±4.8	**
USFA (%)	59.6±2.5	45.5±4.8	**
MUFA (%)	57.2±2.5	42.6±4.9	**
PUFA (%)	2.5±0.5	2.9±0.4	
US/S	1.49±0.15	0.85±0.18	**
脂肪融点 (°C)	28.2±3.3	42.0±3.2	**

** ; p<0.01

み切る時に必要な力は黒毛和種牛肉で輸入牛肉より少ないことが示された。以上のことから、粗脂肪含量の多さが黒毛和種の大きな特徴であり、加熱後に残る肉汁の量ややわらかさも黒毛和種牛肉の特徴であることが確認された。

次に、脂肪の質、すなわち脂肪酸組成および脂肪融点について比較した結果を表-2に示した。脂肪酸組成は、リノール酸（C18 : 2）等一部の脂肪酸を除き、C18 : 1、パルミチン酸（C16 : 0）、一価不飽和脂肪酸（MUFA : mono unsaturated fatty acid）等の各脂肪酸で黒毛和種牛肉と輸入牛肉との間で有意な差がみられた。特に、黒毛和種牛肉は輸入牛肉よりC18 : 1、パルミトレイン酸（C16 : 1）といったMUFAで高く、逆にC16 : 0、ステアリン酸（C18 : 0）等のSFAで低かった。脂肪酸組成は、性、飼養条件、月齢等の影響や、品種や種雄牛等の要因にも影響を受けることが知られており、特に黒毛和種はホルスタイン種等の他品種に比べてC18 : 1やMUFAの割合が高い傾向にあることが報告されている⁸⁾。今回の分析においても、黒毛和種牛肉は濃厚飼料多給による肥育に対し、輸入牛肉は外国種の交雑種であ

り、かつ、牧草のみの給与であることから、C18:1やMUFA等で差が生じたものと考えられる。脂肪の融点については、脂肪酸組成の不飽和度 (US/S: total unsaturated fatty acid/total saturated fatty acid) が高まるほど脂肪融点は低くなることが知られている。本結果においても黒毛和種牛肉と輸入牛のUS/Sではそれぞれ1.49, 0.85, 筋肉内脂肪融点ではそれぞれ28.2℃, 42.0℃と大きな差が確認された。また、ヒトの口腔内温度は約35~36℃であることから、口腔内において黒毛和種牛肉の脂肪は溶けやすく、輸入牛肉の脂肪は溶けにくいことが示された。以上のことから、C18:1やMUFAの割合の高さや、口腔内での脂肪の溶けやすさが黒毛和種牛肉の特徴であることが確認された。

実際に人が食べたときに感じる黒毛和種牛肉の特徴について、官能評価の結果から検討を行った(表-3)。その結果は、「肉様の香り」を除いて、すべての評価項目で黒毛和種牛肉と輸入牛肉との間の評価値に有意な差がみられた。特に、「やわらかさ」、「多汁性」、「脂っぽい香り」および「甘い香り」において黒毛和種牛肉の評価値は輸入牛肉の評価値より4以上と大きく、黒毛和種牛肉の官能特性における大きな特徴であることが確認された。この「脂っぽい香り」および「甘い香り」は、「和牛香」いわゆる「脂っぽく甘い香り」を分けて評価したものであり、両方の香りとも輸入牛肉には少ない黒毛和種牛肉特有の香りであることが示された。なお、「脂っぽい香り」、「甘い香り」、「肉様の香り」、「鉄様の香り」および「酸っ

表-3 黒毛和種牛肉および輸入牛肉の胸最長筋における官能評価値

	黒毛和種牛肉 (n=7)	輸入牛肉 (n=10)	有意性
やわらかさ	8.9±0.9	3.7±0.6	**
多汁性	8.5±0.7	4.0±0.7	**
脂っぽい香り	8.7±0.7	2.9±0.5	**
甘い香り	7.4±0.7	3.1±0.4	**
肉様の香り	7.7±0.4	8.3±0.8	
鉄様の香り	2.4±0.3	4.0±0.8	**
酸っぽい香り	3.0±0.6	4.1±0.7	**

** ; p<0.01

12段階の評価尺度, パネル数: 4~7名

ばい香り」の評価項目については、「鼻をつまんで開けた時に鼻を抜ける香り」を対象として評価を行った。

4. 黒毛和種牛肉における理化学特性と官能特性との関係

引き続き、黒毛和種牛肉での理化学特性と官能特性との関係を検討するため、通常肥育された黒毛和種(黒毛和種牛肉)のロースにおける各分析値間の関連を検討した。一般成分、加熱損失および剪断力値と官能評価値との相関関係について表-4に示した。粗脂肪含量については、全ての官能評価項目との間に有意な相関関係がみられたが、特に「あぶらっこさ」との相関が強く、次いで「やわらかさ」、「多汁性」との相関が強い結果であった。このことから、粗脂肪含量は、やわらかさや多汁性等の食感に關与する要素に対して特に強い影響を及ぼしていると考えられる。また、粗脂肪含量は「香り」と正の相関関係が、「くさみ」と負の相関関係がみられた。ここでの「香り」は「味」と「鼻をつまんで開けた時に鼻を抜ける香り」を混同したいわゆる「風味」と同感覚で、また、「くさみ」はいわゆる「オフフレーバー」と同感覚で用いられていたことから、粗脂肪含量は「風味」や「オフフレーバー」にも影響を及ぼしていることが考えられた。水分含量、粗蛋白質含量および加熱損失については、粗脂肪含量と強い負の相関関係があることから、官能特性との相関関係も粗脂肪含量と逆の関係を示す結果となった。剪断力値については、「やわらかさ」と最も強い負の相関関係がみられた一方、「香り」および「くさみ」との強い相関関係はみられなかった。

次に、脂肪酸組成と官能評価値との相関関係について表-5に示した。全ての脂肪酸と「やわらかさ」、「多汁性」または「くさみ」との間に有意な相関関係がみられなかった一方、一部の脂肪酸と「香り」との間には有意な相関関係がみられた。「香り」との間では、不飽和脂肪酸(USFA: unsaturated fatty acid), MUFAおよびUS/Sで正の相関関係が、C16:0, ヘプタデカン酸(C17:0)およびSFAで負の相関関係がそれぞれみられた。脂肪酸組成の中でも特に注目されているC18:1については、有意性こそみられなかったものの、正の相関関係を

表-4 理化学分析値と官能評価値との相関係数

	やわらかさ	多汁性	あぶらっこさ	香り	くさみ
水分含量	-0.65**	-0.64**	-0.83**	-0.39	0.44*
粗脂肪含量	0.66**	0.65**	0.83**	0.41*	-0.45*
粗蛋白質含量	-0.69**	-0.69**	-0.81**	-0.37	0.50*
加熱損失	-0.58**	-0.56**	-0.75**	-0.46*	0.46*
剪断力値	-0.63**	-0.57**	-0.54**	0.16	0.03

** ; p<0.01, * : p<0.05

n=24

表-5 脂肪酸組成と官能評価値との相関係数

	やわらかさ	多汁性	あぶらっこさ	香り	くさみ
C16:0	-0.15	-0.10	-0.13	-0.48*	-0.03
C16:1	0.22	0.23	0.21	0.33	0.21
C17:0	-0.29	-0.20	-0.08	-0.52*	-0.05
C17:1	-0.27	-0.14	-0.06	-0.23	0.11
C18:0	-0.04	-0.14	-0.09	-0.16	-0.17
C18:1	0.05	0.08	0.08	0.40	0.05
C18:2	-0.05	-0.21	-0.34	0.07	-0.15
C18:3	0.37	0.36	0.43*	0.30	-0.28
SFA	-0.11	-0.11	-0.09	-0.47*	-0.11
USFA	0.11	0.11	0.09	0.47*	0.11
MUFA	0.10	0.13	0.13	0.44*	0.14
PUFA	0.02	-0.14	-0.25	0.12	-0.20
US/S	0.10	0.10	0.08	0.48*	0.13

**; $p < 0.01$, *; $p < 0.05$

示す傾向がみられた。以上から、C18:1, C16:0, MUFA等の脂肪酸組成は、官能特性の中でも「香り」(本節では「風味」と同感覚)に影響している可能性が考えられた。

5. 家畜の育種改良と遺伝子解析

家畜の育種改良は、生産性や品質に関する形質について遺伝的に能力の高い種畜を選別利用し、集団の能力の改善を図ることである。例えば肉牛なら、質または量もしくは両方ともに優れた産肉能力を持った雄牛や雌牛を選別し、これを用いて牛群全体の生産性を向上させることである。本来家畜の能力はその個体自身の記録で評価するが、直接的な測定や評価ができない形質の場合は、血縁個体の記録を用いて評価する。しかし種畜の場合、後代への能力の伝達が求められるため、種畜の能力は遺伝的能力(育種価、後代へ伝達される能力)で評価する。肉牛の場合、種雄牛候補の精液を用いて子牛を10頭程度生産し、これを育成・肥育して産肉性や肉質を調査し、種雄牛候補の産肉や肉質の能力に関する育種価を推定する。こうした育種価の推定には多くの時間と労力、経費が必要である。そのため、新たな遺伝的能力評価技術、すなわち遺伝子情報を利用した新たな育種技術の開発に期待が寄せられている。

家畜では、乳牛の泌乳能力や肉牛の肉量・肉質、ブタの産子数・肉質、鶏の産卵率等、経済的に重要な形質の多くが数量で評価され、個体ごとの測定値が連続的な分布を示す。こういう形質を量的形質という。これに対し角の有無や毛色のような不連続的変異としてとらえられる形質は、質的形質と呼ぶ。質的形質の場合、これを支配する遺伝子座の数は少なく、またメンデルの法則に従って遺伝するので、交配記録から遺伝子型が明確にできる。また遺伝子の差異が質的(外見的)差異として表

れ、しかも環境からの影響を受けにくい。

一方、量的形質は小さな効果を持つ多数の遺伝子、すなわちポリジーンにより支配されていると考えられており、量的形質を支配する遺伝子座をQTL(Quantitative Trait Loci, 量的形質遺伝子座)という。これまで量的形質については、遺伝子そのものの選抜ではなく、形質の表型値に対して選抜を行い、家畜の能力を改良してきた。したがって形質に関与するQTLを把握できれば、さらに効率的に改良が進められると期待されている。しかしQTL自体をとらえることは容易ではない。そこで目的のQTLと密接に連鎖するDNAマーカーを見つけて、育種に利用することが考えられている。

遺伝子情報を育種改良に利用するためには、まず関与する遺伝子または強く連鎖するDNAマーカーを見つけなくてはならない。QTL解析は、形質に関与する遺伝子の位置を検索する段階である。ここで、極端に形質の異なる品種の組み合わせによる実験家系を用いる方法と実際の育種集団または生産集団を用いる方法がある。形質に関与する遺伝子と単一のマーカーとの関連性(連鎖)は、基本的には形質情報とマーカーの遺伝子型情報から分散分析法、回帰分析法等により判定でき、QTL解析では複数のマーカーからなる連鎖地図を利用したインターバルマッピング法が一般に用いられている。実際には、まず関心ある形質のデータを持つ集団から分析材料を確保し、次に多数のDNAマーカーの型を分析し、最後にDNAマーカー型と形質データとの関係を調べることによってQTLの染色体上の位置を限定していく。

形質に関与する遺伝子を解明する方法には、基本的にファンクショナルクローニング(候補遺伝子解析)とポジショナルクローニング(QTL解析)の2通りある。ファンクショナルクローニング法は、遺伝子の機能から当該形質に関与すると推測される候補遺伝子を選定し、

その遺伝子を詳細に解析し形質との関係を検討する方法である。これには遺伝子の発現解析や形質に反映されるまでの生理機構の解明等が含まれる。この方法は、ある程度形質に関する研究が進展していることが条件となり、他分野の研究蓄積が不可欠である。次の段階はこれらの生理・生化学的側面に基ついて候補遺伝子を選定し遺伝子の単離と多型解析を行い、形質との関連性を検討する研究に続いていく。

ポジショナルクローニング法は、一般的には候補となる遺伝子の推定ができない形質について利用される方法で、地図上の位置に基づいて未知の遺伝子を単離する方法である。この第一歩はQTL解析とも呼ばれ、形質に関与する遺伝子が存在するおよその位置を特定することである。これには、多数のDNAマーカーと詳細な遺伝子地図および当該形質を測定した解析集団が必要となる。その後、領域を詳細に絞り込んだ上でDNAレベルで極めて近傍に位置するDNAマーカーをスタート地点として、分子生物学の技術を駆使して遺伝子を単離し、さらに遺伝子の構造と機能の解明へと進展していく。

6. 牛肉中の脂肪酸組成に影響する遺伝子の探索

牛肉中の脂肪酸組成を図-1に示す。牛肉の脂肪の中に含まれるSFAは主にミリスチン酸(C14:0)、パルミチン酸(C16:0)、ステアリン酸(C18:0)であり、USFAは主にミリストレイン酸(C14:1)、パルミトレイン酸(C16:1)、オレイン酸(C18:1)、リノール酸(C18:2)、リノレン酸(C18:3)である。SFAとは異なり、USFAは脂肪融点を減少させる効果があり、肉のやわらかさに影響を及ぼす。USFAの多くはMUFAから成り立っており、C18:1はMUFAの多くの割合を占める。C18:1は肉の酸化に影響されにくく、やわらかさや風味に影響を及ぼすといわれている⁴⁾。その上、C18:1は料理した牛肉における香りの原因であるとの報告もある⁵⁾。このように牛肉の食味が向上するため、脂肪酸組成、特にオレイン酸を指標に牛肉を評価し市場評価の指

図-1 牛肉脂肪中の脂肪酸組成の割合

標として利用することや、関連する遺伝子を解明し育種改良に利用し優秀な種雄牛を育成・利用することが考えられている。

これまでに候補遺伝子解析およびQTL解析により、いくつかの遺伝子が特定されている。候補遺伝子解析では、黒毛和種集団を用いて Stearoyl-CoA desaturase (SCD) 遺伝子⁹⁾ や Sterol regulatory element binding protein (SREBP) 遺伝子¹⁰⁾ が報告されている。一方QTL解析では、黒毛和種とリムジン種からなるF2交雑集団を用いた連鎖解析により¹¹⁾、Fatty acid synthase (FASN) 遺伝子が報告されている¹²⁾。また、黒毛和種集団を用いて、これら候補遺伝子の有効性を検討するとともに寄与率(特定の遺伝子に関わっている割合)が推定され、C18:1に影響を与えているFASN遺伝子およびSCD遺伝子の寄与率の合計が全遺伝分散(遺伝子に関わっているバラツキ)に占める割合の19.3%であることが示されている¹³⁾。このように、複数の関連遺伝子の効果が検出されているにもかかわらず、効果の寄与率は全遺伝分散の約2割と残り多くの遺伝的寄与が依然不明なままとなっている。

ここで、FASN遺伝子の特定について紹介する^{11), 12)}。家畜改良センターでは、黒毛和種と外国種の一つであるリムジン種を交配した遺伝子解析用の実験家系(P世代4頭、F1世代36頭、F2世代205頭)を生産し、同一の飼養環境下で育成・肥育した後、牛肉脂肪中の脂肪酸組成を含む多数の肉質形質を測定した。その後、各染色体に散在する約300個のDNAマーカーを分析し、QTL解析を行った。この結果、ウシの第19番染色体にオレイン酸割合に関与するQTLの存在が示され、この染色体領域に存在する遺伝子の中で脂肪酸合成に関わる遺伝子としてFASN遺伝子を候補として抽出した。さらに、この遺伝子について黒毛和種とリムジン種との塩基配列の比較を行ったところ、34番目のエクソン(塩基配列で実際にアミノ酸に対応する部分)にアミノ酸が変化する遺伝子変異を2箇所検出し、遺伝子の型(対立遺伝子)として2種類が存在することを発見した。また、これに加えて黒毛和種の集団を用いて解析したところ、いずれの集団においても黒毛和種型では牛肉霜降り部分の脂肪中、C14:0及びC16:0割合の減少とC18:1割合の増加に密接に関連していることを明らかにした(表-6, 表-7)。さらに、FASN遺伝子の2種類のタイプでは、黒毛和種と褐毛和種では約70%がオレイン酸を増加させる型(黒毛型)であるのに対し、ホルスタイン種および他の肉専用種(アバディーンアンガス種およびヘレフォード種)では約90%がオレイン酸を減少させる型(外国種型)を持っていた(表-8)。引き続き、幾つかの県と共同でFASN遺伝子の黒毛和種内の頻度調査と効

表-6 黒毛和種 x リムジン種からなる実験家系における FASN 遺伝子型の効果

FASN 遺伝子型	頭数	ミリスチン酸	パルミチン酸	パルミトオレイン酸 %, 平均値±標準偏差	ステアリン酸	オレイン酸
黒毛型ホモ	67	3.3±0.0 ^a	27.8±0.2 ^a	3.9±0.0 ^a	12.9±0.2 ^d	45.6±0.3 ^a
ヘテロ	91	3.6±0.0 ^b	28.4±0.2	4.2±0.0	12.8±0.2	44.6±0.3 ^b
外国型ホモ	26	4.5±0.1 ^c	29.6±0.3 ^b	4.7±0.1 ^b	11.8±0.3 ^e	42.5±0.4 ^c

* 異符号間に有意差あり。但し, a・b・c で $p<0.01$, d・e で $p<0.05$

表-7 黒毛和種における FASN 遺伝子型の効果

FASN 遺伝子型	頭数	ミリスチン酸	パルミチン酸	パルミトオレイン酸 %, 平均値±標準偏差	ステアリン酸	オレイン酸
黒毛型ホモ	76	2.4±0.0 ^a	22.3±0.2 ^d	7.3±0.1 ^a	7.5±0.1	53.05±2.09 ^a
ヘテロ	98	2.8±0.0 ^b	23.1±0.2 ^e	8.1±0.1 ^b	7.3±0.1	50.86±2.55 ^b
外国型ホモ	31	3.0±0.1 ^c	22.9±0.3	8.9±0.1 ^c	6.9±0.2	50.31±1.99 ^c

* 異符号間に有意差あり。但し, a・b・c で $p<0.01$, d・e で $p<0.05$

表-8 品種による FASN 遺伝子型の分布

品種名	遺伝子型頻度		
	遺伝子型	頭数	割合 (%)
黒毛和種 (66 頭)	黒毛型ホモ	31	47.0
	ヘテロ	26	39.4
	リムジン型ホモ	9	13.6
ホルスタイン種 (70 頭)	黒毛型ホモ	3	4.3
	ヘテロ	18	25.7
	リムジン型ホモ	49	70.0
アバディーンアンガス種 (65 頭)	黒毛型ホモ	0	0.0
	ヘテロ	2	3.1
	リムジン型ホモ	63	96.9
ヘレフォード種 (14 頭)	黒毛型ホモ	0	0.0
	ヘテロ	2	14.3
	リムジン型ホモ	12	85.7

果検証を実施したところ, これまでと同様に遺伝子型間に約 3% 程度の差があることを確認している。

近年, ウシのゲノム解読および DNA マーカーの一つである一塩基多型 (SNP: Single nucleotide polymorphism) マーカーの開発と情報の蓄積が進み, 家畜においてゲノム情報の基盤が整備されてきた。そして, SNP チップと呼ばれる多数の SNP マーカーを同時に型判定できる SNP タイピング法が開発された。2008 年以降, ウシ SNP チップが市販され (Bovine SNP50 BeadChip, Illumina 社), 数万個の SNP を短期間に解析することが可能になった。これにより, 世代間での組換え情報を利用した連鎖解析である QTL 解析から, 過去の組換えに由来する連鎖不平衡状態を検出する相関解析に発展した。この方法は一般的にゲノムワイド相関解析と呼ばれている¹⁴⁾。牛脂肪酸組成においては, 黒毛和種集団を用いたゲノムワイド相関解析により, FASN 遺伝子が存在する領域に有意な SNP マーカーを検出する等, この手

法の有用性が示されている¹⁵⁾。その後も, 別な黒毛和種集団を用いて遺伝子探索を継続し, 新たな候補遺伝子を見出している。

7. 牛肉の香りに影響する遺伝子の探索

牛肉の香りや香気成分に関する研究は非常に少ない。松石ら¹⁶⁾は, 和牛肉と豪州産の輸入牛肉を比較し, ラクトン類, アルコール類等 40 成分で輸入牛肉より和牛肉の方が多く検出されたことを報告し, 「和牛香」の「甘い香り」にはココナッツ様, 桃様の香りを有するラクトン類が寄与し, 「脂っぽい香り」には脂肪様香気を有するジアセチル, アセトインや一部のアルデヒド類等が寄与していると推定している。一方, Watanabe ら¹⁷⁾は, ダイナミックヘッドスペース法を用いて調理した牛肉の香気成分の分析を行い, 一部のラクトン類やアルコール類では和牛肉でも豪州産の輸入牛肉より低かったことを報告している。さらに, 松石¹⁸⁾は, 香りが牛肉のおいしさに果たす役割が大きいことを指摘している。彼らは, ロース肉の官能評価の結果, BMS ナンバーはやわらかさ, 脂肪のなめらかさ, 「和牛香」の強さ, 総合評価と正の相関があるのに対し, C18:1 割合ではそれらと相関がなかったことを報告し, 脂肪交雑の程度が高いほど「和牛香」の生成に有利であり, C18:1 も何らかの関係があると推察している。これまでの結果から, 香気成分の分析値は, 分析法や給与する飼料, 牛肉の処理の仕方により異なることから, さらなる調査・研究が必要である。

国内での牛肉香気成分の遺伝子解析は見当たらない。また, 海外でも牛肉の香りや香気成分に関する遺伝子解析の研究はほとんどない。唯一見つかった Gill ら¹⁹⁾は, サーロインステーキにおける官能評価値と 5 種類の候補遺伝子の SNP 遺伝子型との相関解析を行い, やわらかさとカルパイン遺伝子, 好ましさとレブチン遺伝子, 香

図-2 黒毛和種牛肉における香気成分（揮発性成分）の分析例（保持時間前半）

Peak No.	Compounds	Peak No.	Compounds
1	acetoin	9	Nonanal
2	Hexanal	10	1-Nonanol
3	Heptanal	11	Dodecane
4	2-Heptenal,(E)-	12	Decanal
5	Benzaldehyde	13	Nonanoic acid + gamma-octalactone
6	Octanal	14	2-Decenal,(E)-
7	1-Hexanol,2-ethyl-	15	Tridecane
8	2-Octenal,(E)-

図-3 黒毛和種牛肉における香気成分（揮発性成分）の分析例（保持時間後半）

Peak No.	Compounds	Peak No.	Compounds
16	2-Undecenal,(E)- + gamma-nonolactone	25	Phyt-1-ene
17	Tetradecane	26	Octadecane
18	Dodecanal	27	Phytane
19	Delta-decalactone	28	Phyt-2-ene(isomer1)
20	Pentadecane	29	neophytadiene
21	Hexadecane	30	Phyt-2-ene(isomer2)
22	Gamma-dodecalactone	31	Nonadecane
23	Heptadecane	32	Delta-tetradecalactone
24	Delta-dodecalactone	33	Delta-hexadecalactone

表-9 甘い香りに関する SNP 解析結果 (一例)

SNP マーカー型	頭数	甘い香り評価値 平均値±標準偏差
TT	28	7.34±0.64
TC	17	8.12±0.58
CC	4	8.62±0.26

りの強さと成長ホルモン受容体遺伝子との関連を報告している。

現在、我々は前述のようなゲノムワイド相関解析法を用いて和牛肉の香りや各香気成分量について、遺伝子探索に取り組んでいる。和牛肉の香気成分について分析例を図-2 および図-3 に示した。これまで、予備的な結果であるが、幾つかの SNP マーカーが香りの官能評価値である「甘い香り」や「脂っぽい香り」に関連することが示唆されている (表-9)。一方、香気成分については、その分析手法の確立も含めて検討しているところであり、今後、機器により分析された香気成分の量について関連する遺伝子を探索していく計画である。

8. おわりに

以上のように、黒毛和種牛肉の肉質の特徴として粗脂肪含量の多さや C18 : 1 および MUFA 割合の高さ等とともに、食味に対するそれらの重要性について紹介してきた。しかし、食味はそれら単一項目だけで決定されるものではない。また、香気成分、遊離アミノ酸、イノシン酸、結合組織を構成する成分、筋線維の種類等のように食味に影響を及ぼす可能性のある成分も多数あることから、それらとの複合的な検討が今後重要であると考えられる。

一方、これまで異業種の方々との交流により、当初の計画・目的が円滑かつ着実に達成されただけでなく、様々な副産物が必ず得られてきた。こうした経験から、今回も普段縁のない雑誌に寄稿するに際し、そのような副産物を期待して止まない。読者の中に関心がある方がおられたら、是非ともお問い合わせ願いたい。

キーワード : 和牛肉, 食味, 脂肪酸組成, 和牛香, 遺伝子

参考文献

- 1) David, C. : Meat meter measures marbled muscles, *Nature*, **451**, 1039, (2008).
- 2) Behrends, J.M., Goodson, K.J., Koohmaraie, M., Shackelford, S.D., Wheeler, T.L., Morgan, W.W., Reagan, J.O., Gwartney, B.L., Wise, J.W. and Savell, J.W. : Beef customer satisfaction : Factors affecting consumer evaluations of calcium chlorid-injected top sirloin steaks

when given instructions for preparation, *Journal of Animal Science*, **83**, 2869-2875, (2005).

- 3) 齋藤 薫, 奥村寿章, 佐久間弘典, 河村 正 : 食肉に対する消費者意識と牛肉の官能評価, 肉用牛研究会報, **90**, 22-28, (2010).
- 4) Westerling, D.B. and Hedrick, H.B. : Fatty acid composition of bovine lipids as influenced by diet, sex and anatomical location and relationship to sensory characteristics, *Journal of Animal Science*, **48**, 1343-1348, (1979).
- 5) Mandell, I.B., Buchanan-Smith, J.G. and Campbell, C.P. : Effects of forage vs grain feeding on carcass characteristics, fatty acid composition, and beef quality in Limousin-cross steers when time on feed is controlled, *Journal of Animal Science*, **76**, 2619-2630, (1998).
- 6) 常石英作, 渡辺 彰, 滝本勇治 : 牛体脂肪の脂肪酸組成とトリアシルグリセロール分子種との関連, 日本畜産学会報, **65**, 128-134, (1994)
- 7) 小林正人, 庄司則章 : 黒毛和種体脂肪の中性脂肪分子種分画の化学的性質と食味, 日本畜産学会報, **77**, 521-527, (2006).
- 8) Zembayashi, M., Nishimura, K., Lunt, D.K. and Smith, S.B. : Effect of breed type and sex on the fatty acid composition of subcutaneous and intramuscular lipids of finishing steers and heifers, *Journal of Animal Science*, **73**, 3325-3332, (1995).
- 9) Taniguchi, M., Utsugi, T., Oyama, K., Mannen, H., Kobayashi, M., Tanabe, Y., Ogino, A. and Tsuji, S. : Genotypes of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle, *Mammalian Genome*, **15**, 142-148, (2004).
- 10) Hoashi S., Ashida, N., Ohsaki, H., Utsugi, T., Sasazaki, S., Taniguchi, M., Oyama, K., Mukai, F. and Mannen, H. : Genotype of bovine sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle, *Mammalian Genome*, **18**, 880-886, (2007).
- 11) Abe, T., Saburi, J., Hasebe, H., Kawamura, T., Saito, K., Nade, T., Misumi, S., Okumura, T., Kuchida, K., Hayashi, T., Nakane, S., Mitsunashi, T., Nirasawa, K., Sugimoto, Y. and Kobayashi, E. : Bovine quantitative trait loci analysis for growth, carcass, and meat quality traits in an F2 population from a cross between Japanese Black and Limousin, *Journal of Animal Science*, **86**, 2821-2832, (2008).
- 12) Abe, T., Saburi, J., Hasebe, H., Nakagawa, T., Misumi, S., Nade, T., Nakajima, H., Shoji, N., Kobayashi, M. and Kobayashi, E., *Biochemical Genetics*, **47**, 397-411, (2009).
- 13) Matsunashi, T., Maruyama, S., Uemoto, Y., Kobayashi, N., Mannen, H., Abe, T., Sakaguchi, S. and Kobayashi, E. : Effects of bovine fatty acid synthase, steroyl-coenzyme A desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle, *Journal of Animal Science*, **89**, 12-22, (2011).
- 14) Andersson, L. : Genetic dissection of phenotypic di-

- versity in farm animals, *Nature Reviews Genetics*, **2**, 130–138, (2001).
- 15) Uemoto, Y., Abe, T., Tameoka, N., Hasebe, H., Inoue, K., Nakajima, H., Shoji, N., Kobayashi, M. and Kobayashi, E.: Whole-genome association study for fatty acid composition of oleic acid in Japanese Black cattle, *Animal Genetics*, **42**, 141–148, (2011).
- 16) 松石昌典, 久米淳一, 伊藤智己, 高橋道長, 荒井正純, 永富 宏, 渡邊佳奈, 早瀬文孝, 沖谷明紘: 和牛肉と輸入牛肉の香気成分, *日本畜産学会報*, **75**, 409–415, (2004).
- 17) Watanabe, A., Ueda, Y., Higuchi, M. and Shiba, N.: analysis of volatile compounds in beef fat by dynamic-headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Food Science*, **73**, C420–425, (2008).
- 18) 松石昌典: 牛肉の美味しさに貢献する香り, *栄養生理研究会報*, **53**, 39–46, (2009).
- 19) Gill, J.L., Bishop, S.C., McCorquodale, C., Williams, J.L. and Wiener, P.: association of selected SNP with carcass and taste panel assessed meat quality traits in a commercial population of Aberdeen angus-sired beef cattle, *Genetics Selection Evolution*, **41**, 36–47, (2009).

Excellent meat quality in Wagyu beef and its genetic analysis

Hironori SAKUMA and Eiji KOBAYASHI

National Livestock Breeding Center, Department of Technology, Odakurahara 1,
Odakura, Nishigo-mura, Nishishirakawa-gun, Fukushima, 961-8511, Japan

Abstract The Wagyu beef has an excellent eating quality. Not only the quantity of intramuscular fat (marbling) but also the fat quality (fatty acid composition) of the Wagyu beef is different from the imported beef. In addition, the flavor of beef is different greatly. The oleic acid which is classified to mono-unsaturated fatty acid effects a melting point of the fat in beef. It is resulting eating quality, such as tenderness and juiciness, when eating the beef. We have identified one gene that affected fatty acid composition, especially the content of the oleic acid, using a family from the crossing foreign breed, Limousin, with Japanese black and the Japanese black population. We are searching for other genes affecting fatty acid composition and Wagyu beef aroma now.

Key words: Wagyu beef, eating quality, Fatty acid composition, Wagyu beef aroma, gene