

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26660210

研究課題名(和文) 近年におけるウシの繁殖性低下は経済形質の選抜によるものか

研究課題名(英文) Association study between DNA markers for carcass traits and reproduction traits in Japanese Black cattle

研究代表者

万年 英之(Mannen, Hideyuki)

神戸大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：20263395

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：肉用牛では産肉形質と繁殖形質の両面からの育種改良が必要であるが、両形質が同時に調査された報告はない。そこで本研究では、産肉形質のDNAマーカーが繁殖形質に対する影響を調査した。DNAマーカーは、SCD、FASN、DGAT1、EDG1、PLAG1遺伝子の合計5つの多型を対象とした。集団に対する多型解析および統計解析の結果、SCD、DGAT1、PLAG1、EDG1マーカーで一部の繁殖形質との関連が認められた。これらの結果は、産肉形質関連遺伝子マーカーが産肉形質だけでなく、繁殖形質と関連していることを示唆していた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated association between DNA markers for carcass traits and reproduction traits in Japanese Black cattle. As a result, a few DNA markers (SCD, DGAT1, PLAG1 and EDG1 markers) have genetic effects on several reproduction traits (first calving month). This study first revealed the association between DNA markers for carcass traits and reproduction traits in beef cattle.

研究分野：動物遺伝育種学

キーワード：育種 繁殖性 産肉形質 DNAマーカー 選抜

1. 研究開始当初の背景

最近の厳しい国際情勢の中、飼料価格の高騰などにより国内の畜産経営は著しく不安定な状態になっている。その経営安定化のためには、畜産物の高品質化による輸入製品との差別化とともに、家畜の生産性の向上が重要である。生産性向上のための課題の一つとして、繁殖能力の向上があげられる。生産農家当たりの年間生産頭数を増加させることは生産コストの低減に直結する。しかしながら、肉用牛および乳用牛のいずれにおいても、その繁殖成績は年々低下する傾向にあり、国内外で畜産分野の大きな問題となっている。

肉用牛の産肉形質に関しては、統計遺伝学的手法を用いた育種改良によって、大幅に改良が進みその能力が向上している。これら肉用牛の経済形質の能力向上は繁殖能力の低下と無関係だろうか？

例えば、肉用牛においては脂肪交雑評点と枝肉重量の増加が顕著であるが、これらは成長の代謝速度やエネルギー蓄積に大きく関与している。繁殖能力に関わる遺伝的機序については未だに不明な点がほとんどであり、どのような遺伝子や分子が繁殖形質に関わっているのかはわかっていない。これら産肉乳形質と繁殖形質は遺伝的な関与がないと考えられているが、エネルギー代謝の観点から考えればあながち無関係ではない可能性がある。しかし肉用牛において、繁殖能力は繁殖集団において推定され、産肉能力は肥育集団において推定されるのが普通である。このような背景から、産肉能力と繁殖能力は同じ集団を用いた土俵で評価されてきていない。

これまでの家畜ゲノム解析研究により、成長形質・肉質形質・遺伝病などについて様々な知見が得られており、枝肉重量や脂肪交雑、脂肪酸組成などの責任遺伝子と原因変異が同定されてきている。近年では、これら DNA マーカーを用いた育種改良も進んできている。一方で、繁殖形質は遺伝率が低いこともあり、責任遺伝子の同定があまり進んでいない。

2. 研究の目的

そこで本研究課題では、これまで産肉形質に対して責任遺伝子・変異が特定されている DNA マーカーを用い、繁殖能力との関係を推定することを目的とする。加えて、集団遺伝学手法に基づいた、産肉形質と繁殖形質の間の遺伝相関を推定する。産肉能力と繁殖能力の両方に影響を及ぼす遺伝子や遺伝相関が明らかになれば、改良目標時の明確な指標となることができる。一方で、これら産肉形質に対する改良が繁殖能力に影響を及ぼさなければ、DNA マーカーの利用に育種改良の妨げにならないことが証明できる。いずれにせよ、本課題は様々な形質を同時に改良する上での重要な改良指針の一つになると考えられる。

申請者が発見した産肉形質（特に脂肪酸組成）に対する責任遺伝子同定と DNA マーカーの利用は国内のみならず、国外でもウシの育種改良マーカーとして使用されている。これら DNA マーカーの利用が進む一方、負の側面については検討されてきていない。もし、これら産肉形質の DNA マーカーが繁殖能力に影響するようであれば、2 つの形質に対して分子重みづけを行うことにより両形質を考慮した改良指針を示すことができるようになる。逆に、これら DNA マーカーが繁殖能力に影響を及ぼさない場合は、DNA 育種の妨げにならないことを説明できる。どちらの結果が得られたとしても、その遺伝情報は重要であると考えられる。

また、本課題では DNA マーカーに対する検討に加えて、統計学的手法を用いた繁殖能力と産肉能力間の遺伝相関を推定する予定である。この解析により、両形質に対する育種改良の基本的な情報を得ることができ、黒毛和種の生産性向上に対する重要な知見となる。

近年の家畜に対する育種改良は、様々な改良目標（産肉性、繁殖性、抗病性など）が集団ごとに定められている。本研究課題では、独立した「産肉形質」と「繁殖形質」の間の遺伝子効果の推定を試みる。しかし、本来はすべての改良形質に対し、すべての影響を持つ遺伝子群を対象として分析することが理想である。現在では様々な経済形質に対する責任遺伝子の同定が不十分であるために、そのような分析は未だ困難である。本研究課題を通して、一見関連のない形質間に対する解析の必要性と DNA マーカーを用いた家畜改良の新しいランドマークを示したい。

3. 研究の方法

近年における肉用牛の繁殖性低下と経済形質に対する選抜の影響を検討するために以下の研究を実施した。黒毛和種の 2 繁殖集団に対して繁殖成績及び血縁情報を収集し、繁殖性指標に関する遺伝的能力を推定した。さらに、繁殖形質と産肉形質との間の遺伝相関を統計学的手法により推定した。12~15 の産肉形質に対する遺伝子多型を用い、2 集団に対して PCR-RFLP 法を中心とした多型解析を実施した。得た遺伝子多型と繁殖形質との関連解析を行い、繁殖形質に関連する遺伝子を同定しその効果について推定した。

1) 供試動物

産肉形質関連マーカーの繁殖 3 形質及び枝肉 6 形質に対する効果の検証には、以下の 2 集団を用いた。

1-1) 兵庫県黒毛和種繁殖雌牛集団

兵庫県内で 2009 年、2010 年、2011 年に飼養されている兵庫県黒毛和種繁殖雌牛集団（兵庫県集団）716 頭より、血統情報及び形質データを考慮して選抜した 409 頭を使用し

た。血統情報については、父親当たり 10 頭以上となるように個体を選抜した。形質データについては、分娩間隔、初産月齢、子牛生産指数（繁殖 3 形質）及び、枝肉重量、ロース芯面積、バラの厚さ、皮下脂肪の厚さ、推定歩留、脂肪交雑基準値（枝肉 6 形質）の情報をもつ個体を選抜した。兵庫県集団の形質評価は全平均 + 育種価で評価されている。

1-2) 岐阜県黒毛和種繁殖雌牛集団

岐阜県内で 1990 年から 2013 年までに飼養されていた岐阜県黒毛和種繁殖雌牛集団（岐阜県集団）11178 頭より、血統情報及び形質データを考慮して選抜した 516 頭を使用した。血統情報については、種雄牛当たり 10 頭以上 20 頭以下となるように個体を選抜した。形質データについては繁殖 3 形質及び、枝肉 6 形質の情報をもつ個体を選抜した。岐阜県集団の形質評価は集団平均 + 育種価で評価されている。

ゲノム DNA は血液から定法にしたがって精製した。

2) 産肉形質化関わる DNA マーカー

産肉形質に対する DNA マーカーとして、脂肪酸組成に関しては SCD 遺伝子内の c.878T>C 多型、FASN 遺伝子の g.841G>C 多型、皮下脂肪厚とロース芯面積に関しては、DGAT1 遺伝子の K232A 多型、脂肪交雑基準値に関して、EDG1 遺伝子の g.1471620G>T 多型、皮下脂肪厚、ロース芯面積に関しては、DGAT-1 (Diacylglycerol-0-acyltransferase-1) 遺伝子の K232A 多型、枝肉重量関連遺伝子では CW-1 (carcass weight-1) 領域内に存在する PLAG1 遺伝子の ss319607405 マイクロサテライト多型の合計 5 つの多型を対象とした。

3) 統計学的分析

本研究で用いた 5 マーカーにおける遺伝子型の繁殖形質及び枝肉形質に対する効果を調べるために、最小二乗法による分散分析 (ANOVA) を行った。形質評価を行うための分析モデルは以下の式で行った。

兵庫県集団: 枝肉形質

表現型値 = 全平均 + 性 + 年次 + と場の効果 + 肥育農家の効果 + と殺月齢 (1 次、2 次回帰) + 近交係数 (1 次回帰) + 育種価 + 環境効果

兵庫県集団: 繁殖形質: 初産月齢

表現型値 = 全平均 + 出産年 + 出産月 + 子牛の性 + 母体の栄養度 + 繁殖農家の効果 + 子牛の近交係数 (1 次) + 母牛の近交係数 (1 次回帰) + 育種価 + 環境効果

兵庫県集団: 繁殖形質: 分娩間隔

表現型値 = 全平均 + 出産年 + 出産月 + 子牛の性 + 繁殖農家の効果 + 分娩時の年齢 (1 次、2 次回帰) + 子牛の近交係数 (2 回目の分娩

時測定) + 母牛の近交係数 (1 次回帰) + 永続的環境効果 + 育種価 + 残差

岐阜県集団: 枝肉形質

表現型値 = 性 + 出荷年次 + と場の効果 + 肥育農家の効果 + 出荷月齢 (2 次回帰) + 近交係数 (1 次回帰) + 育種価 + 環境効果

岐阜県集団: 繁殖形質: 初産月齢

表現型値 = 出産年 + 出産月 + 子牛の性 + 母体の栄養度 + 授精時の繁殖農家の効果 + 母牛の近交係数 (1 次回帰) + 育種価 + 残差

兵庫県集団: 繁殖形質: 分娩間隔

表現型値 = 出産年 + 出産月 + 子牛の性 + 授精時の繁殖農家の効果 + 前回の産次の年齢 (1 次、2 次回帰) + 母牛の近交係数 (1 次回帰) + 永続的環境効果 + 育種価 + 残差

そして、遺伝子型による効果を詳細に調べるために、Tukey-Kramer の honestly significant difference (HSD) 検定による最小二乗平均差の有意差検定を行った。ただし、特定の遺伝子において個体数の少ない遺伝子型が観察された場合には、その遺伝子型を有する個体を除外し解析を行った。

4. 研究成果

兵庫県集団、岐阜県集団における遺伝子型判定の結果、SCD マーカーでは 2 集団においてメジャーアリルは優良アリルであるとされる A アリルであり、頻度はそれぞれ 0.942、0.611 であった。FASN マーカーの遺伝子型判定の結果、2 集団においてメジャーアリルは優良アリルであるとされる G アリルであり、頻度はそれぞれ 0.994、0.911 であった。DGAT1 マーカーの遺伝子型判定の結果、2 集団においてメジャーアリルは優良アリルであるとされる K アリルであり、頻度はそれぞれ 0.911、0.726 であった。PLAG1 マーカーの遺伝子型判定の結果、2 集団においてメジャーアリルは優良アリルであるとされる 11 回反復アリルであり、頻度はそれぞれ 0.559、0.719 であった。EDG1 マーカーの遺伝子型判定の結果、岐阜県集団においてメジャーアリルは優良アリルであるとされる T アリルであったが、頻度は 0.273、0.508 と低かった。

ANOVA 及び student の t 検定の結果、SCD マーカーにおいて兵庫県集団では対象形質との関連は認められなかったが、岐阜県集団では初産月齢、バラの厚さ、脂肪交雑基準値で有意な差が認められた。全ての形質で A アリルが形質に好ましいアリルであった。FASN マーカーにおいて岐阜県集団では、対象形質との関連は認められなかった。

DGAT1 マーカーにおいては兵庫県集団では初産月齢、ロース芯面積と脂肪交雑基準値で有意な差が認められ、全て K アリルが形質に好ましいアリルであった。岐阜県集団では初産月齢、枝肉重量とバラの厚さで有意な差が

認められ、全てAアレルが形質に好ましいアレルであった。集団によって好ましいアレルが異なっていることから、DGAT1は直接各形質に影響を与えているのでは無く、周辺に原因変異が存在する可能性があることが示唆された。PLAG1マーカーにおいては兵庫県集団では枝肉重量と脂肪交雑基準値で有意な差が認められた。岐阜県集団では初産月齢、枝肉重量、ロース芯面積と脂肪交雑基準値で有意な差が認められた。両集団とも全て11回反復アレルが形質に好ましいアレルであった。EDG1マーカーにおいて、兵庫県集団では対象形質との関連は認められなかったが、岐阜県集団では初産月齢、ロース芯面積、バラの厚さ、脂肪交雑基準値との関連が認められ、全てTアレルが形質に好ましいアレルであった。兵庫県集団では過去に報告のあった脂肪交雑基準値との関連が認められなかったことから、脂肪交雑基準値に対するDNAマーカーとして用いることが出来ないと考えられた。

以上のことから、本研究で使用したマーカーにおいて、兵庫県集団では、EDG1マーカーを除くと、過去に報告されてきたような産肉形質に対して関連を示した。一方繁殖形質に対してはDGAT1マーカーのみ関連が認められ、肉質に対して好ましいアレルが繁殖形質にも好ましいアレルであることが分かった。岐阜県集団では、全て過去に報告されてきたような産肉形質に対して関連を示した。一方繁殖形質に対してはSCD、PLAG1、EDG1マーカーにおいて関連が認められ、肉質に対して好ましいアレルが繁殖形質にも好ましいアレルであることが分かった。このように本研究で用いたDNAマーカーの内FASNマーカーを除いた4マーカーは繁殖形質との関連が認められた。ただし、これらのマーカーにおいて、枝肉形質に好ましいアレルが、繁殖形質にも好ましいアレルであり、マーカーを用いた育種改良を行う際には、同時に繁殖形質も改良出来る可能性が示された。

よって本研究で用いた産肉形質関連遺伝子マーカーは産肉形質だけで無く、繁殖形質との関連が認められることが示された。本研究においては、産肉形質と繁殖形質の優良アレルは一致していたが、これらマーカーの繁殖形質に対する機能は定かではなかった。したがって、肉質に対して開発されたマーカーを集団で用いる際には、繁殖形質にどのように影響しているかを調査した上で用いることが必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

Hayakawa K, Ishii A, Yamaji K, Uemoto Y, Sasago N, Kobayashi E, Kobayashi N, Matsushashi T, Maruyama S, Matsumoto H,

Mannen H, Sasazaki S. The g.841G>C SNP of FASN gene is associated with fatty acid composition in beef cattle. *Animal Science Journal*, 査読有、86(8):737-46. 2015.

Honda T, Oguri Y, Mizuno Y, Mannen H, Ishida T, Iwaisaki H, Kuge S, Saito K, Oyama K. Change of fatty acid composition of the lumbar longissimus during the final stage of fattening in the Japanese Black cattle. *Animal Science Journal*, 査読有、(in press)

[学会発表](計 5 件)

深澤謙治、笹崎晋史、大山憲二、本多健、小林栄治、福島 護之、秋山 敬孝、小浜 菜美子、万年英之。黒毛和種における産肉形質関連マーカーの繁殖形質に対する効果の推定。第16回日本動物遺伝育種学会大会。2015.11.7. 神戸大学(兵庫県)。

Hayakawa K, Ishii A, Yamaji K, Uemoto Y, Sasago N, Kobayashi E, Kobayashi N, Matsushashi T, Maruyama S, Matsumoto H, Sasazaki S, Mannen H. The g.841G>C SNP of FASN gene is associated with fatty acid composition in beef cattle. 34th International Conference on Animal Genetics. 2014.7.28-8.1, Xian, China.
Koga S, Oyama K, Sasazaki S, Mannen H. LPL gene polymorphisms are associated with fatty acid composition in Japanese Black The g.841G>C SNP of FASN gene is associated with fatty acid composition in beef cattle. 34th International Conference on Animal Genetics. 2014.7.28-8.1, Xian, China.

早川きり、阿部剛、長谷部浩行、小林栄治、大山憲二、万年英之、笹崎晋史。ホルスタイン種におけるFASN-g.841及びg.16024多型の乳形質に対する効果。第15回日本動物遺伝育種学会大会。2014.10.31-11.1和光(埼玉)。

川口 芙岐、大倉 一輝、大山 憲二、万年 英之、笹崎 晋史。黒毛和種集団におけるLeptin 遺伝子翻訳領域内多型の脂肪酸組成に対する効果。第118回日本畜産学会大会。2015.3.29. 宇都宮大学(栃木県)。

[図書](計 2 件)

万年英之 他。応用分子遺伝学とその実践。獣医遺伝育種学。pp.76-87. 朝倉書店。2014。

万年英之 他。家畜の品種と遺伝的多様性。獣医遺伝育種学。pp.104-113. 朝倉書店。2014。

6. 研究組織

(1)研究代表者

万年 英之 (MANNEN, Hideyuki)
神戸大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：20263395

(2)研究分担者

笹崎 晋史 (SASAZAKI, Shinji)

神戸大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号：50457115

大山 憲二 (OYAMA, Kenji)

神戸大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：70322203

小林 栄治 (KOBAYASHI, Eiji)

(独)農業・食品産業技術総合研究機構

・研究員

研究者番号：00186727