

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：12201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20608

研究課題名（和文）黒毛和種の枝肉形質とルーメン微生物の関係解析—マルチオミクス解析を用いて—

研究課題名（英文）Investigation of relationships between carcass traits and the rumen microbiome in Japanese Black cattle using multi-omics analysis.

研究代表者

佐藤 元映 (Sato, Yoshiaki)

宇都宮大学・農学部・助教

研究者番号：10962805

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では黒毛和種のルーメン原核生物叢、真核生物叢およびルーメンウイルス叢を解析し、BMSナンバー（肉質の指標）および枝肉重量との関係性を次世代シーケンサーを用いて調べた。BMSナンバーの高い個体と低い個体のβ多様性を比較した結果、明らかに異なるルーメン原核生物叢およびルーメンウイルス叢が形成されていることが示唆された。同様に、枝肉重量の大きい個体と小さい個体の間にもルーメン微生物叢に違いが見られた。以上の結果より、黒毛和種の枝肉形質とルーメン原核生物およびルーメンウイルス叢には大きな関連があることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、黒毛和種のルーメン微生物叢と枝肉形質（脂肪交雑および枝肉重量）の間には深い関係があることが示唆された。また、脂肪交雑が高い個体や枝肉重量の大きい個体に特徴的なMetagenome-assembled genomes (MAG) が数多く見つかった。このMAGをバイオマーカーとして育種を行うことができれば、黒毛和種の枝肉形質を向上させることができ、日本の肉牛生産にも大きく貢献することができると考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to investigate the relationship between the rumen microbiome and carcass traits, such as marbling and carcass weight, in Japanese Black cattle. Metagenomic sequencing was used to compare the rumen microbiome between high-carcass weight (HW) and low-carcass weight (LW) cattle, and high-marbling (HM) and low-marbling (LM) cattle. As a result, the prokaryotic and viral communities in the rumens of HW vs. LW and HM vs. LM were different. In summary, this study revealed that the rumen microbiome of Japanese Black cattle was associated with carcass traits.

研究分野：動物生産科学

キーワード：反芻動物 枝肉形質 ルーメン微生物 メタゲノム

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様 式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

わが国の代表的な肉用種である黒毛和種は筋肉内の脂肪含量が高く、脂肪交雑が優れている。この黒毛和種の特異的な脂肪交雑の謎を解き明かすことは牛肉の質を向上させるために極めて重要である。

反芻動物の第一胃（ルーメン）には様々な微生物が棲息している。その微生物がエサを分解し、宿主は微生物によって生成された短鎖脂肪酸やタンパク質を利用し、肉や乳を生産する。近年、次世代シーケンサー(NGS)を用いたルーメン微生物叢の解析が広く行われており、海外品種では脂肪交雑とルーメン原核生物叢の関係が報告されている（Kim et al., 2020, *Animals*, 10:712; Krause et al., 2020, *Journal of Animal Science*, 98: skaa287）。そのため、黒毛和種の優れた脂肪交雑とルーメン原核生物や、その代謝産物が関連すると考えられるが、解明されていない。さらに、ルーメン原核生物に感染するウイルスは宿主の動態の制御に大きな役割を果たしているため、脂肪交雑に影響を及ぼしている可能性が考えられるが、ウイルス叢の解析はほとんど行われていない。

2. 研究の目的

本研究では黒毛和種の枝肉形質とルーメン微生物が関係しているかどうかを調べることを目的とした。そこで、本研究ではNGSを用い、黒毛和種のルーメン原核生物叢、真核生物叢およびウイルス叢を網羅的に解析し、枝肉重量および脂肪交雑との関係性の解明を目指した。

3. 研究の方法

(1) 16S rRNA および 18S rRNA シーケンス

サンプルには屠畜場より採取した、55頭の黒毛和種のルーメン液を用いた。MiSeq (2×300 bp)を用いた16S rRNA および18S rRNA アンプリコンシーケンスにより、原核生物叢および真核生物叢を調べた。脂肪交雑の指標として、BMS ナンバーを用い、脂肪交雑の優れている個体（HM、n=13）および劣る個体（LM、n=12）のルーメン原核生物叢および真核生物叢を比較した。さらに枝肉重量の高い個体（HW、n=12）および低い個体（LW、n=12）も比較した。指標には1個体の多様性を表す α 多様性および個体間の多様性を表す β 多様性を用いた。

(2) 全ゲノムショットガンシーケンス

HM、LM、HW および LW の個体のルーメン液中の微生物叢全体を HiSeq X Ten (2×150 bp)を用いたショットガンシーケンスにより解析を行った。出力されたデータより Metagenome-assembled genomes (MAG) を取得し、各試験区に特徴的な MAG が存在するかどうかを検討した。

(3) ルーメンウイルス叢の解析

HM、LM、HW および LW の個体のルーメン液中のウイルス様粒子を精製、DNA 抽出を行った後、HiSeq X Ten (2×150 bp)および NovaSeq X Plus (2×150 bp)を用い、ショットガンシーケンスを行った。出力されたデータより得られたコンティグを種レベル (vOTU) にクラスタリングし、 α 多様性および β 多様性解析を行った。

4. 研究成果

(1)16S rRNA アンプリコンシーケンスの結果、HM と LM の間には α 多様性に有意差はなかった。一方で HW の α 多様性は LW より有意に低かった ($P < 0.05$)。 β 多様性解析の結果、HM と LM および HW と LW の原核生物叢が大きく異なることが示唆された ($P < 0.01$) (図 1)。18S rRNA アンプリコンシーケンスの結果、HW と LW の真核生物叢が大きく異なることが示唆された ($P < 0.01$)。

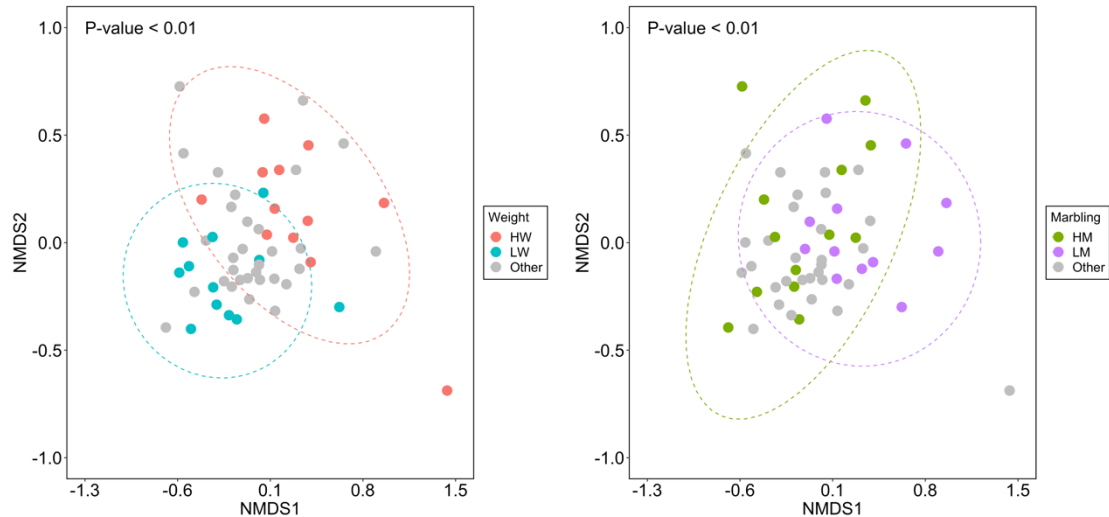


図 1 β 多様性解析の結果 (Sato et al., 2024, *Scientific Reports*, 14: 6064)

(2)全ゲノムショットガンシーケンスのデータより、807 個の MAG を構築した。HW と LW に特徴的な MAG を調べた結果、147 MAG が HW で、162MAG が LW で存在割合が多かった。HW に特徴的な MAG の中で、7 つの MAG はルーメン内でのメタン産生に関連する *Methanobrevibacter_A* 属および *Methanobrevibacter* 属であった。また、プロピオン酸産生に関連する *Selenomonas* 属や *Succiniclasicum* 属に属する MAG も HW で存在割合が多かった。

一方で、HM と LM を比較した結果、HM で存在割合の多い 77MAG および LM で存在割合の多い 36MAG を見つけた。HM に多い 77MAG の中で、43MAG が Firmicutes_A 門に属する MAG であった。先行研究で Firmicutes 門の存在割合が脂肪交雑と関連していると報告されている (Wang et al., 2022, *Frontiers in Microbiology*, 13:978263)。そのため、本研究の HM で特徴的な 43 の Firmicutes_A MAG が黒毛和種の脂肪交雑の形成に関連していることが示唆された。

(3)ウイルス画分をショットガンシーケンスしたデータより、20000 以上もの vOTUs を構築した。 α 多様性解析の結果、HW と LW の間に差はなかったが、HM が LM よりも有意に高かった ($P < 0.05$)。 β 多様性解析の結果、原核生物叢と同様に HM と LM、HW と LW でウイルス叢が大きく異なることが明らかになった ($P < 0.05$)。以上の結果より、原核生物や真核生物だけでなく、ルーメンウイルスも黒毛和種の脂肪交雑や枝肉重量と関連している可能性が示唆された。

本研究の結果、黒毛和種のルーメン微生物叢と枝肉形質 (脂肪交雑および枝肉重量) との間には深い関係があることが示唆された。また、脂肪交雑が高い個体や枝肉重量の大きい個体に特徴的な MAG が数多く見つかった。この MAG をバイオマーカーとして育種を行うことができれば、黒毛和種の枝肉形質を向上させることができ、日本の肉牛生産にも大きく

貢献することができると考えられる。一方で代謝産物と枝肉形質との関係性は不明であるため、さらなる研究が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sato Yoshiaki、Sato Ruki、Fukui Emiko、Yoshizawa Fumiaki	4. 巻 14
2. 論文標題 Impact of rumen microbiome on cattle carcass traits	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6064
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-024-56603-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 —

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

—

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------