

機関番号：10105

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14564

研究課題名(和文) 日本鶏のもつ産卵性能に関わる遺伝子群の迅速同定

研究課題名(英文) Rapid identification of candidate genes affecting egg production in Japanese indigenous chickens

研究代表者

後藤 達彦 (Goto, Tatsuhiko)

帯広畜産大学・畜産学部・助教

研究者番号：30619391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：日本の観賞用鶏(産卵率32%程度)および実用鶏(産卵率68%程度)の集団ゲノム解析によって、日本で過去に起きた「産卵性能に関する選抜」の結果、どのようなゲノム領域が選抜されてきたのかを明らかにすることを目的に研究を行った。実用鶏2品種の集団(36個体)および観賞用鶏3品種の集団(30個体)の全ゲノムリシーケンスを行い、既報の野生原種集団(29個体)を含めた情報解析によって、3138万箇所を超える一塩基多型が検出された。観賞用鶏vs実用鶏vs野生原種集団の3つのFstからPBEを算出することで、実用鶏特異的なゲノム変異を有する48の領域を、高解像度にマッピングすることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国では、ギフジドリ・ミエジドリ・ショウコク等の観賞用品種が長く維持されており、戦後、産卵性能の向上を目指した本格的な改良が行われ始め、ナゴヤ、ヒナイドリ等の実用鶏品種が作られてきた。本研究では、日本オリジナルの多様な遺伝資源である日本鶏品種から、ギフジドリ・ミエジドリ・ショウコクの観賞用鶏3品種の集団およびナゴヤ・ヒナイドリの実用鶏2品種の集団の計66個体の全ゲノム解析を新規に行い、実用鶏特異的なゲノム変異を有する48の領域を発見した。今後、ニワトリの産卵性能に関わる遺伝的基盤の理解を進め、ゲノム情報を活用した地鶏の産卵性能の遺伝的改良に応用したい。

研究成果の概要(英文)：Using population genomics with Japanese fancy chickens (egg production rate: around 32%) and Japanese utility chickens (egg production rate: around 68%), we aimed to reveal what genomic regions were selected via long-term selection for egg production in Japanese indigenous chicken breeds. We have analyzed whole-genome sequencing of two Japanese utility breeds (n = 36) and three Japanese fancy breeds (n = 30). After adding publicly available whole-genome sequencing of wild ancestor (n = 29), we found more than 31,380,000 SNPs. PBE statistics were estimated from three Fst values (fancy vs utility, fancy vs ancestor, and utility vs ancestor) in each 20-kb window. Ultimately, we could achieve high resolution mapping for egg production and identify 48 genomic regions, which have Japanese utility breed-specific variants.

研究分野：動物遺伝育種学

キーワード：集団ゲノミクス ニワトリ 産卵性能 遺伝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本のような恵まれた環境ではその重要性は認知されにくいですが、人口爆発によって食料生産が間に合わず餓死する人々は世界中にたくさん存在するのが事実である。これまでに開発されてきた高生産性を示す家畜をもってしても人口増加の速度に食料生産が追いついていない (Hunger Map 2017)。これを打破するためには、世界各地の様々な環境それぞれに適応した上で、畜産物を高生産することができる多様な家畜が必要である。長期的な視点から畜産学研究を行う我々ができることの一つは、従来型の優良家畜のみではなく、環境への適応が可能な「遺伝的に優良かつ多様な家畜」を遺伝育種学的に作出することであると考える。

ニワトリは宗教上の忌避がほぼなく、世界での飼育家畜数は群を抜いて最多であることから明らかなように、より多くの人口に対する食料供給が可能である。赤道付近の乾燥・酷暑環境から北方の寒冷環境に至るまで、世界の隅々で各々の環境に適応した在来鶏が存在することから、遺伝的な多様性が高いことが証明されている。庭先で飼うミクロな規模から、集約して大量生産を行うマクロな規模まで、様々な飼育形態の全てにニワトリは適応できる。これらの理由から世界における将来の安定した食料生産を考えると、どのような環境においても、ヒトが最も利用しやすく、かつ、栄養価の高い鶏卵および鶏肉を多く提供してくれるという意味で、ニワトリの家畜としての潜在的な価値は高いと言える。

「遺伝的に優良かつ多様なニワトリ」作出のためには、様々な遺伝的背景をもったニワトリ品種を対象にした集団ゲノム解析を行い、基盤情報を収集することが必要である。様々な品種がもつ遺伝的特徴を把握し、どのようなゲノム領域が鶏卵・鶏肉の生産性向上ならびに当該環境への適応に重要であるのかを明らかにできれば、その基盤情報を将来の食料生産に向けた様々な環境に適応するような多様なニワトリの育種に活かすことができる。このような、畜産学における重要課題の一つである「ニワトリの集団ゲノム解析」は、将来にわたって重要であり続ける知見を提供してくれると期待されている。

我が国には日本の風土に適応したニワトリの遺伝資源が揃っている。日本列島には古くから地鶏(ギフジドリ・ミエジドリ等)およびショウコク等が、主に鑑賞目的に作られ、長く維持されてきた20以上の品種が存在する。戦後、産卵性能の向上を目指した本格的な改良が行われ始め、実用鶏(ナゴヤ、ヒナイドリ等)が作られてきた。卵用はもちろんのこと、肉用であっても、より多くの鶏肉を生産するためにはより多くのヒヨコを生産する必要があるため、産卵性能の向上を目指した改良が重要であり、50年以上継続して行われてきている。

これらの日本の遺伝資源を利用した集団ゲノム解析によって、観賞用の数品種からなる集団のゲノム領域にはその特徴が見つけられないが、産卵性能に関する遺伝的改良(人為選抜)がなされてきた実用鶏の集団において特異的に認められる「ゲノム上の選抜の痕跡」を見つけることができれば、そこには、産卵性能に関与する遺伝子群が存在する可能性が高い。近年、有意に低コスト化してきた次世代シーケンサーを用いることによって、個々の若手研究者でも集団ゲノム解析の遂行が現実的になり、それぞれの品種が示す表現型(産卵性能等)の特徴に関与しているゲノム領域の効率的かつ正確な全ゲノム探索が可能になってきた。

2. 研究の目的

『遺伝的に多様な日本鶏が示す、鶏卵の生産性(産卵性能)に関与しているゲノム領域はどのようなものか?』の問いに答えるために、日本の在来鶏(産卵率32%程度; Goto et al. Anim Genet 42: 634-641, 2011)および実用鶏(産卵率68%程度; 中村ら Res Bull Aichi Agric Res Ctr 43: 119-125, 2011)の集団ゲノム解析によって、日本で過去に起きた「産卵性能に関する選抜」の結果、どのようなゲノム領域が選抜されてきたのかを明らかにすることを目的に研究を行う。

3. 研究の方法

産卵性能に関する選抜を受けていない日本の在来品種である、ギフジドリ(10個体)、ミエジドリ(10個体)およびショウコク(10個体)ならびに、産卵性能に関する選抜を受けてきた実用鶏品種である、ナゴヤ(20個体)およびヒナイドリ(16個体)の5品種からなる5集団(計66個体)を用いて集団ゲノム解析を行った。広島大学日本鶏資源開発プロジェクトセンター、秋田県畜産試験場ならびに北海道立総合研究機構から分与された血液サンプルより、個体別のDNAを抽出する。DNAサンプルの品質を確認後、Illumina社の次世代シーケンサーによる全ゲ

ノムシークエンスの受託解析サービスを利用して、大規模な生データ (fasta ファイル) を取得した。ニワトリの野生原種であるセキショクヤケイ集団 (29 個体) の全ゲノムデータを NCBI の SRA よりダウンロードして利用した。

研究代表者の研究室が保有する Linux server を用いて、ビッグデータ (約 10 ギガ × 95 個体) のバイオインフォマティクス解析を行った。具体的には、Genome Analysis Tool Kit、BWA および Samtools 等を用いて、ニワトリゲノムの参照配列 (GRCg6a; 約 10 億塩基対) に対してマッピングを行い、カバー率 5-10 倍の個体別ゲノム配列を構築した。その後、参照配列と比較し、それぞれの個体が保有する遺伝的変異 (一塩基多型、挿入および欠失) を決定した。得られる数千万の遺伝的変異は VCF のフォーマットで管理した。

産卵性能に関する選抜を受けてきた実用鶏 2 品種の集団 (36 個体) が、過去に受けてきた選抜の結果、ゲノム領域の遺伝的変異の多様性が著しく低下した (ホモ型に固定されつつある) 領域を観賞用鶏 3 品種の集団 (30 個体) との比較によって明らかにする。実用鶏集団においてホモ化されつつあるゲノム領域を見つけるため、Fst (Weir and Cockerham, *Evolution* 38: 1358-1370, 1984) および PBE (Yassin et al., *PNAS* 113:4771-4776, 2016) の統計量を活用した。ゲノムを 20 kb 単位の window に分けて、それぞれの統計量を算出した。選抜集団および非選抜集団を比較した際に、著しく異なるゲノム領域を探索するために、VCFtools を用いて各 20kb-window の Fst 値を算出した。その後、ニワトリの野生原種であるセキショクヤケイの集団 (29 個体) を含めた 3 集団の比較による 3 つの Fst 値を基にして PBE 値を算出した。高い PBE 値を示すゲノム領域は、産卵性能の高い実用鶏の集団が特異的に選抜されたゲノム領域である可能性の高い重要な候補領域となる。これらの手法を用いて検出される、産卵性能に関与している「候補のゲノム領域」内には、どのような候補遺伝子群が存在するのかを調べた。

4. 研究成果

ギフジドリ、ミエジドリ、ショウコクからなる観賞用鶏集団 (30 個体) ならびに、ナゴヤ、ヒナドリからなる実用鶏集団 (36 個体) の総計 66 個体の日本鶏を対象に、全ゲノムリシークエンスを新規に行った。これに加えて、既報のセキショクヤケイからなる野生原種集団 (29 個体) の全ゲノム情報を基にした解析を行った結果、ニワトリ参照ゲノムに対して平均 5 倍以上のカバレッジでシークエンスリードを得ることができた。第 1 から第 33 染色体にマッピングすることによって、3138 万箇所を超える一塩基多型 (SNPs) が検出された。Window approach により、観賞用鶏集団、実用鶏集団および野生原種集団間において著しく異なるゲノム配列を検出するために、ゲノム領域を染色体の端から 20-kb 毎に区切った window を設定した。20-kb window 内に 30 以上の SNPs が含まれている 66,848 箇所の 20-kb windows を集団遺伝学的解析の対象とした。それらの 20-kb window 内の SNPs の数は、最小 30 SNPs、平均 107 SNPs、最大 596 SNPs であった。

66,848 箇所の 20-kb windows それぞれに対して、観賞用鶏集団 vs 実用鶏集団の Fst、観賞用鶏集団 vs 野生原種集団の Fst、実用鶏集団 vs 野生原種集団の Fst を算出し、それぞれの集団において著しく異なるゲノム配列を有する候補領域を探索した。さらには、上記の 3 つの Fst から、PBE 値を算出した。著しく高い PBE 値を示すゲノム領域は、観賞用鶏集団および野生原種集団には認められない、実用鶏集団特異的なゲノム変異を有することを示すため、実用鶏集団の特徴である高い産卵性能に関与する候補ゲノム領域であると考えられる。本研究では、PBE が 0.6 以上を示す 79 箇所の 20-kb windows が候補として検出された。隣接するゲノム領域に存在する windows をまとめたところ 48 領域に絞り込むことができた。これらの 48 の候補領域のサイズは、最小 20-kb、平均 47.5-kb、標準偏差 77.5-kb、最大 430-kb であり、実用鶏集団特異的なゲノム変異を有するゲノム領域を、遺伝子レベルの高解像度にマッピングできた。48 領域は、第 1、2、3、4、5、6、7、8、11、19 染色体上に検出され、それぞれ 17、3、7、5、3、4、6、1、1、1 個の領域であった。また、それらの領域内には、タンパク質をコードする遺伝子が 28 個存在し、それぞれの染色体毎に 15、4、2、0、3、2、1、0、1、0 個であった (論文準備中)。本研究によって、産卵性能に関わる複雑な遺伝的基盤の一端が見えてきた。今後さらに、日本鶏の遺伝資源を活用した集団ゲノミクス研究を展開していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 T. Goto, A. Ishikawa, M. Nishibori, M. Tsudzuki.	4. 巻 294
2. 論文標題 A longitudinal quantitative trait loci mapping of chicken growth traits.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Genetics and Genomics	6. 最初と最後の頁 243-252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00438-018-1501-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 T. Goto, A. F. A. Fernandes, M. Tsudzuki, G. J. M. Rosa.	4. 巻 294
2. 論文標題 Causal phenotypic networks for egg traits in an F2 chicken population.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Genetics and Genomics	6. 最初と最後の頁 1455-1462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00438-019-01588-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 S. Moroi, K. Nishimura, N. Imai, K. Kunishige, S. Sato, T. Goto.	4. 巻 9
2. 論文標題 Rapid behavioral assay using handling test provides breed and sex differences in tameness of chickens.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain and Behavior	6. 最初と最後の頁 e01394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/brb3.1394	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 -
1. 著者名 T. Goto, H. Mori, S. Shiota, S. Tomonaga.	4. 巻 9
2. 論文標題 Metabolomics approach reveals the effects of breed and feed on the composition of chicken eggs.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/metabo9100224	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 -

1. 著者名 H. Mori, M. Takaya, K. Nishimura, T. Goto.	4. 巻 99
2. 論文標題 Breed and feed affect amino acid contents of egg yolk and eggshell color in chickens.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Poultry Science	6. 最初と最後の頁 172-178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3382/ps/pez557	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 -

1. 著者名 T. Goto, S. Shimamoto, A. Ohtsuka, D. Ijiri.	4. 巻 92
2. 論文標題 Analyses of free amino acid and taste sensor traits in egg albumen and yolk revealed potential of value-added eggs in chickens.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 e13510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/asj.13510	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. Goto, S. Shimamoto, M. Takaya, S. Sato, K. Takahashi, K. Nishimura, Y. Morii, K. Kunishige, A. Ohtsuka, D. Ijiri.	4. 巻 11
2. 論文標題 Impact on genetic differences among various chicken breeds on free amino acid contents of egg yolk and albumen.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-81660-3	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 -

1. 著者名 R. Ono, H. Miyachi, H. Usui, R. Oguchi, K. Nishimura, K. Takahashi, Y. Yamagishi, N. Kawamura, R. Matsushita, T. Goto.	4. 巻 -
2. 論文標題 Phenotypic analysis of growth and morphological traits in miniature breeds of Japanese indigenous chickens.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Poultry Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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7件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 西村健志、國重享子、佐藤 駿、後藤達彦
2. 発表標題 全ゲノム情報を用いたナゴヤ種の産卵数に関するゲノム領域の探索
3. 学会等名 北海道畜産草地学会第8回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 後藤達彦
2. 発表標題 鶏卵の生産性および品質向上を目指したニワトリの集団ゲノム解析
3. 学会等名 スクラム十勝シンポジウム2019帯広市民大学講座・道民カレッジ連携講座『食と農に貢献する遺伝子データの活用』（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 後藤達彦
2. 発表標題 行動遺伝学に向けた多様なニワトリ品種の集団ゲノム解析
3. 学会等名 2018年度 遺伝研研究会「遺伝要因と環境要因の相互作用による行動決定のメカニズム」
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西村健志、國重享子、佐藤 駿、後藤達彦
2. 発表標題 全ゲノム情報を用いた名古屋種の産卵数に関する遺伝子の探索
3. 学会等名 日本家禽学会2019年度春季大会
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 T. Goto, R. A. Lawal, J. E. Pool, D.-D. Wu, Y.-P. Zhang, P. M. Hocking, D. W. Burt, and O. Hanotte.
2 . 発表標題 Signature of positive selection in Langshan chicken comparison with the Indonesian breed and red jungle-fowl.
3 . 学会等名 50th Anniversary of the Neutral Theory of Molecular Evolution (SMBE 2018) (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 T. Goto, R. A. Lawal, J. E. Pool, D.-D. Wu, Y.-P. Zhang, P. M. Hocking, D. W. Burt, and O. Hanotte.
2 . 発表標題 Population genomics approach revealed signatures of selection in Langshan chicken.
3 . 学会等名 The 125th Annual Meeting of the Japanese Society of Animal Science
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 T. Goto.
2 . 発表標題 Searching for genes underlying a variety of phenotypes using genetic resource of chickens
3 . 学会等名 Research Institute for Sustainable Humanosphere (RISH) in Kyoto University, The 265th Regular Open Seminar (招待講演)
4 . 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

http://www.nougaku.jp/award/award2.2020.html http://jsas-org.jp/about/winners/132.html
--

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
---------	---------