

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14565

研究課題名(和文)酸素消費量を用いた飼料効率の選抜に関する量的遺伝学およびゲノム科学的研究

研究課題名(英文)Genetic and genomic dissection of selection using oxygen consumption for improving feed efficiency

研究代表者

小川 伸一郎(Ogawa, Shinichiro)

東北大学・農学研究科・助教

研究者番号：50804192

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)：量的遺伝学的手法にもとづくマウスの酸素消費量(OC)における核ゲノム遺伝およびミトコンドリア遺伝の影響度の調査および次世代シーケンサーを用いたOC関連遺伝子の探索を行った。ミトコンドリア遺伝効果の寄与率は非常に低い一方、直接遺伝率は中程度と推定され、OCに関与する遺伝的要因は主に核ゲノム上に存在すると推察された。次に、pool-seq法を用いて系統間のアリル頻度の違いから核ゲノム上に存在するOC関連候補遺伝子の抽出を試みた。抽出された遺伝子の中には、電子伝達系に関連する遺伝子が複数存在し、偽陽性に留意の必要性はあるものの、本研究で検出された遺伝子群はOCとの関連性が高いことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

飼料利用性の向上は、わが国の持続的な畜産業発展における喫緊の課題である。OCは維持エネルギー要求量(MER)の簡便な間接測定指標であり、MERは余剰飼料摂取量(RFI)の重要な構成要素と考えられる。本研究において『OC関連候補遺伝子』として抽出された遺伝子群は、RFIに関連する候補遺伝子とも解釈され得る。ウシやブタなどの主要家畜種において、これら候補遺伝子に関する多型を検出できれば、得られた多型情報を活用したマーカーアシスト選抜やゲノミック選抜が可能となり、飼料利用性に関する効率的な選抜の達成に貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The proportion of phenotypic variance due to maternal mitochondrial inheritance was estimated to be minimal for oxygen consumption in mice, whereas the direct heritability was estimated to be moderate. This indicates the possibility that the genetic polymorphisms causing inter-individual variation would be mainly located on nuclear genome. Next, the extraction of candidate genes for OC was tried using pool-seq approach. As a result, some plausible genes, including ones for mitochondrial electron transfer system, could be identified as the candidate genes. The results could give basic insight into the genetic mechanism of OC.

研究分野：動物遺伝育種学

キーワード：酸素消費量 マウス 遺伝的パラメーター 維持エネルギー要求量 次世代シーケンサー ミトコンドリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

飼料利用性の向上は、飼料費が家畜の生産コスト全体の約6割を占めることも含めて、わが国の畜産における持続的な発展における喫緊の課題である。現在、「無駄食い」の指標である余剰飼料摂取量などを対象とした飼料利用性に関する育種改良が牛や豚において実施されている。

家畜が摂取した飼料中のエネルギーは、維持および生産のためのエネルギーとして分配される。維持エネルギーとして分配される量は、飼料中エネルギーのうち約7割に達する (Ferrell と Jenkins, 1985; Zhang ら, 2014)。摂取エネルギー量が一定ならば、維持エネルギー要求量 (MER) の少ない個体ほど生産エネルギーへの分配量が多くなり、生産効率 (= 生産エネルギー / 摂取エネルギー) は高い。よって、MER の制御による飼料利用性の改善が期待された。

MER の直接的な測定は容易でなく、代替指標の開発等も進んでいないことから、MER の簡易な測定法が新たに確立されればその意義は大きい。申請者が所属する研究室では、マウスをモデルに、MER の間接指標として酸素消費量 (OC) の測定装置を開発し、8週齢時に測定される OC の高低2方向 (OC 高系および OC 低系) への選抜試験を実施してきた。その結果、8週齢時 OC の遺伝率推定値は中程度 (0.3 ~ 0.4) であり、OC 低系個体は OC 高系個体に比べて飼料要求率が有意に低いことが示された (紅玉ら, 2013)。また、OC 低系は OC 高系に比べて MER が有意に低い傾向にあることも示された (Darhan ら, 2017)。これらの結果は、OC 選抜による飼料利用性の遺伝的改良の可能性を示唆している。

一方、OC の90%を担うと考えられるミトコンドリアの呼吸活性およびプロトンリーク能について、OC 高系が OC 低系に比べていずれも高いことが明らかにされ (Hong ら, 2015)。OC に関するメカニズムの解明を目指す検討が加えられてきているが、そもそも OC 選抜により造成した集団ではどのような (遺伝的) 変化が生じたのか、その詳細については未だ不明点が多い。

2. 研究の目的

『飼料効率の間接指標としての OC による選抜の実態解明』を目的に、酸素消費量の高低にもとづく選抜系マウス集団の OC、代謝体重 (OC の測定時体重の0.75乗) 当たり OC、および3、4、5、6、7および8週齢時体重を対象に、量的遺伝学的手法を用いて核ゲノム遺伝およびミトコンドリア遺伝の影響度を推定した。続いて、『酸素消費量に関連する遺伝的指標の同定』を目的に、OC の高低にもとづく選抜系マウス集団から得たサンプルから DNA を抽出し、全ゲノムシーケンシング結果を用いた OC 関連遺伝子の探索を試みた。

3. 研究の方法

OC の高系、低系それぞれ17世代分のマウス4,670匹の8週齢以降に測定された OC、代謝体重当たり OC、3 ~ 8週齢時の体重を対象に、母性遺伝効果、一腹共通環境効果および基礎集団の母個体もつミトコンドリアの遺伝を想定した母方家系 (maternal lineage) の効果を変量効果として含むアニマルモデルを用いて遺伝的パラメーターを推定した。

OC 高系および低系の基礎集団より40匹分、高系および低系17世代目の親集団よりそれぞれ33匹および31匹分の凍結尾部サンプルより DNA を抽出した。基礎集団、OC 高系、OC 低系ごとに DNA をプーリングして3つの DNA サンプルを用意し、NovaSeq6000 (Read Length は150 bp、Run Scale は180 Gb/sample) を用いて次世代シーケンサー解析を行い、多型を検出した。検出した多型の頻度を3サンプル間で比較し、フィッシャーの正確確率検定にもとづく p 値が0.05 > 多型数を下回る多型が5つ以上連続する常染色体上のゲノム領域を『OC 関連候補領域』として抽出し (Canstro ら, 2019) OC 関連候補領域と重複する遺伝子を OC 関連候補遺伝子とした。

4. 研究成果

遺伝的パラメーターの推定結果を図1に示した。OC および代謝当たり OC の直接遺伝率の推定値は0.3程度と中程度であった。したがって、OC を発現する個体自身の核ゲノム上には、OC の系統間差を説明しうる要因の存在する可能性が示唆された。一方、基礎集団の母に由来するミトコンドリア遺伝を想定した母方家系の効果の分散の表型分散に占める割合は、いずれの形質においても2%以下と非常に低く推定された。したがって、ミトコンドリア上には OC の系統間差を説明しうる要因の存在する可能性が低い、存在しても検出するのが困難である可能性が推察された。本結果は、Hong ら (2015) で観察されたミトコンドリア呼吸活性やプロトンリーク能の系統間差をもたらす遺伝的要因が核ゲノム側に存在する可能性の高いことを示唆すると考えられた。

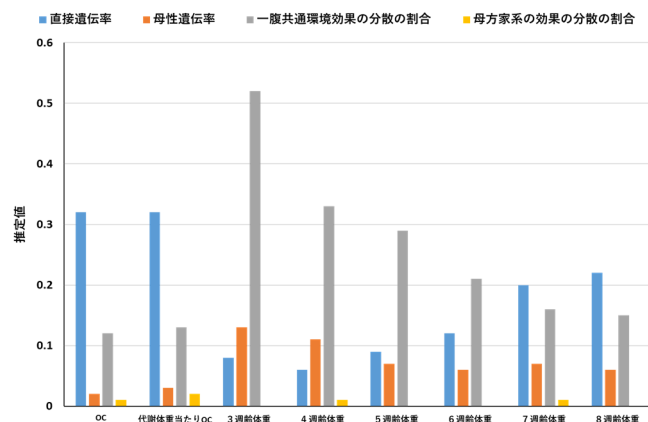


図1. 遺伝的パラメーターの推定結果

OC 関連候補遺伝子の抽出に際し、当初、OC に関する選抜の痕跡検出のため Rubin ら (2012) の ZHp 指標を用いる予定であったが、3 サンプル全てにおいて ZHp のヒストグラムは釣鐘状の分布とは言い難く、本研究における ZHp 指標の利用は適当でないと考えられた。これは、近交系マウスを用いた基礎集団の形成過程に大きく依存するものと推察された。OC の高系、低系作出の際、厳密には選抜指標の異なる世代が存在することも鑑みた結果、本研究では、フィッシャーの正確確率検定により OC の高系、低系間で頻度が有意に異なると判断される多型を探索することとした。

OC の高系、低系由来 DNA サンプル間で共通して利用できた常染色体上の多型は、およそ 415 万箇所であった。このうち、サンプル間で多型頻度が有意に異なる多型が 5 箇所以上連続するゲノム領域付近に位置する遺伝子として、およそ 2,700 遺伝子を抽出できた。抽出されたこれら遺伝子の中には、電子伝達系を司る複合体 Ⅰに関連すると考えられる Ndufa12、Ndufa412 および Ndufb4 遺伝子、複合体 Ⅱに関連すると考えられる Sdhaf2 および Sdhc 遺伝子、複合体 Ⅲに関連すると考えられる Uqc3 および Lym5 遺伝子、そして ATP 合成酵素に関連する 11 の遺伝子が含まれていた。このことは、先行研究において系統間にみられた肝臓ミトコンドリア呼吸活性およびプロトンリーク能の差 (Hong ら, 2015) を説明しうるものであり、抽出された遺伝子の少なくとも一部が OC と関連する可能性を示唆すると考えられた。また、炎症性サイトカインに関連する複数の遺伝子 (インターロイキン系や TNF 系) が抽出されており、ミトコンドリア・免疫間のクロストークと OC との関連性が示唆されたのは興味深い結果と考えられる。その他、肥満遺伝子として知られる Fto 遺伝子や脂質生成に関与すると考えられる Igfbp1 遺伝子、レプチンシグナリングに関わり体重調節に関連することが報告されている Stat6 遺伝子、飼料利用性への関与が疑われる遺伝子が複数抽出された。さらに、速筋で発現するといわれる Actn3 遺伝子が抽出されており、系統間で骨格筋における速筋・遅筋の比率が異なっている可能性がある。これら抽出された遺伝子群の機能的偏りに関する情報は、OC に関する選抜にともなう相関反応の有無についての重要と考えられる。一方で、検定に際しボンフェローニ補正を施したものの、遺伝的浮動や有効な集団サイズの観点から、候補遺伝子中に偽陽性を含む可能性に留意する必要がある。

引用文献

- Castro, J. P. L., Yancoskie, M. N., Marchini, M., Belohlavy, S., Hiramatsu, L., Kucka, M., et al. (2019). **An integrative genomic analysis of the Longshanks selection experiment for longer limbs in mice.** *eLife*, 8, e42014.
- Darhan, H., Kikusato, M., Toyomizu, M., Roh, S. G., Katoh, K., Sato, M., & Suzuki, K. (2017). **Selection for high and low oxygen consumption induced differences in maintenance energy requirements of mice.** *Animal Science Journal*, 88, 959–965.
- Ferrell, C. L., & Jenkins, T. G. (1985). **Cow type and the nutritional environment: nutritional aspects.** *Journal of Animal Science*, 61, 725–741.
- Hong, Y., Ardiyanti, A., Kikusato, M., Shimazu, T., Toyomizu, M., & Suzuki, K. (2015). **Selection for high and low oxygen consumption altered hepatic mitochondrial energy efficiency in mice.** *Animal Science Journal*, 86, 818–825.
- Hong, Y., Komaki, N., Shimazu, T., & Suzuki, K. (2013). **Effect of the selection of high and low oxygen consumption on the feed conversion ratio in mice.** *Nihon Chikusan Gakkaiho*, 84, 327–332. (In Japanese).
- Rubin, C. J., Megens, H. J., Barrio, A. M., Maqbool, K., Sayyab, S., Schwochow, D., et al. (2012). **Strong signatures of selection in the domestic pig genome.** *Proc Natl Acad Sci.*, 109, 19529–19536.
- Zhang, G. F., Liu, D. W., Wang, F. L., & Li, D. F. (2014). **Estimation of the net energy requirements for maintenance in growing and finishing pigs.** *Journal of Animal Science*, 92, 2987–2995.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小川伸一郎・上本吉伸・鈴木啓一・佐藤正寛
2. 発表標題 マウスの酸素消費量および体重における母性効果の推定
3. 学会等名 日本畜産学会第125回大会
4. 発表年 2019年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----