

令和 5 年 4 月 6 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K22367

研究課題名（和文）全ゲノム情報を用いたヤギの起源と伝播、環境適応形質の包括的解明に向けた先駆的研究

研究課題名（英文）Advance research for the origin and transmission of goats and environmental adaptive traits using whole-genome information

研究代表者

万年 英之（Mannen, Hideyuki）

神戸大学・農学研究科・教授

研究者番号：20263395

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、世界規模で収集されたヤギのDNA試料に対し、全ゲノム解析を用いた大規模DNA情報解析を利用した起源・伝播経路等の包括的研究を実施することを目的とした。その結果、1)ハプログループBは異なる起源地を持つ、2)中央・南・東南アジア在来ヤギのミトゲノム配列からサブハプログループB1とB2の分岐年代は約30万年前と推定、3)49集団を対象とした高密度SNP解析から、フィリピンではヨーロッパ及び南アフリカ集団との遺伝的類似性が示され、この遺伝構造は数百年前の海洋貿易による、とする新しい仮説を提唱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

家畜ヤギは人類の生活に最も重要な家畜の一つである。この家畜ヤギの新しい起源や伝播経路を提唱できたことにより、家畜ヤギへの基本的理解、遺伝資源保護、ヒトの移動や伝播、家畜に関する文化人類学への重要な知見を提供できた。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to conduct a comprehensive study of the origin and transmission pathways of goat DNA samples collected on a global scale using large-scale DNA information analysis using whole-genome analysis.

As a result, we proposed 1) haplogroup B has different origin(s), 2) the divergence age of sub-haplogroups B1 and B2 is estimated to be about 300,000 years ago, and 3) high-density SNP analysis of 49 populations showed genetic similarity in the Philippines to European and South African populations, and this genetic structure was due to marine trade hundreds of years ago.

研究分野：動物遺伝育種学

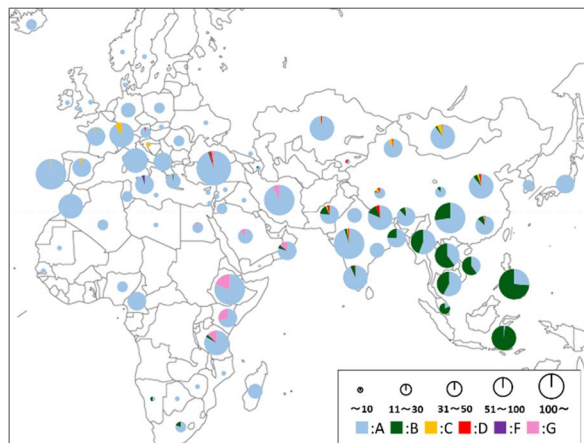
キーワード：ヤギ ミトコンドリアDNA Y染色体由来マーカー 高密度SNPアレイ 遺伝的多様性 伝播 起源

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

研究構想の背景と経緯：これまで申請者は世界の家畜ヤギの遺伝的類縁関係を明らかにする目的で、アジア各国から申請者自身が 20 数年かけて DNA 試料を収集し(アジア在来ヤギ 10 数か国、合計頭数 1200 頭)、mtDNA や Y 染色体遺伝子解析を実施してきた。これらの研究を通して、東アジアにおけるヤギの新起源の可能性や伝播経路を提示してきた。一方、この仮説を証明するためには、母父系統 DNA 解析のみならず、常染色体由来の大規模 DNA データによる解析が必須と考えられた。同時期にヤギ高密度 SNP アレイ解析の利用が可能となったことから、この手法を通して申請者が収集した世界規模の DNA 試料に対して大規模 DNA データを利用すれば、東アジアにおけるヤギの起源や伝播経路が解決できると考えた。

加えて、申請者は試料収集とともに、各個体の地域、標高、平均気温、毛色、体高、顔面形状、耳垂形状、角の形状・有無、毛髭・肉髭の有無など数十の形質データを確実に記録してきた。一方で、在来ヤギの多様な環境適応形質に対する遺伝様式や責任遺伝子はほとんど明らかになっておらず、申請者の有する DNA 試料、保有データ、大規模ゲノム分析を融合解析することによって、これまで未知であった環境適応形質に対する責任遺伝子の解明と環境適応因子の分子メカニズムにメスを入れることができると着想した。



そこで本研究では、これら形質データを有する家畜ヤギに対して大規模な全ゲノム解析を実施すれば、1) アジア在来ヤギの伝播経路の全貌と新たな起源が検証でき、2) ヤギの数十におよぶ環境適応形質の候補染色体領域・遺伝子の全貌を明らかにできる。3) 一方で本研究の規模からすべての形質遺伝子に着手するのは困難なため、ここでは 1) と 2) の全容解明の足掛かりとなる萌芽研究として位置付けたい。

### 2. 研究の目的

概要：世界規模で収集されたヤギの DNA 試料に対し、全ゲノム解析を用いた大規模 DNA 情報解析を利用して、起源・伝播経路の解明と環境適応形質遺伝子の全貌解明の足掛かりとなる包括的研究を目的とする。

目的：ヤギは最古に家畜化された反芻動物の一つである。その強健性と環境適応性から極地を除く世界の大部分の地域で飼育され世界人口の約 65% がヤギの肉乳を利用しているなど、ヤギは人類が幅広く利用している最も重要な家畜の一つである。他の家畜とは異なり、ヨーロッパやインドなどの品種除いて、その多くが育種改良・品種化されていない「在来家畜」として飼育・利用されている。にもかかわらず、世界各地の在来ヤギは、高地・耐暑・抗病性適応、成長速度、毛質(例：カシミヤ)、乳量、肉質などの有益形質に加え、角・顔面・耳などの外部形態も地域環境に適応した極めて多様性に富む形質を有する。しかし、これら有用形質に対する遺伝様式や特性はほとんど明らかになっていない。

申請者はこれまで、世界の家畜ヤギの遺伝的類縁関係を明らかにする目的で、アジアを中心に DNA 試料を収集し、ミトコンドリア(mt)DNA や Y 染色体由来の遺伝子解析を実施してきた。その結果、世界に先駆けてヤギの伝播経路の提示や新しい起源について成果をあげてきた。一方近年、ヤギに対するゲノム解析が終了し全ゲノム遺伝解析が可能となってきた。申請者が 20 年間をかけて収集した 10 数か国のアジア在来ヤギの DNA 試料は、地域、標高、平均気温、毛色、体高、顔面形状、耳垂形状、角の形状・有無、毛髭・肉髭の有無など数十の環境適応形質を記録した稀有なものであり、その個体数は 1200 頭を超える。

本研究ではこれらアジア在来ヤギ個体に対する全ゲノム解析による大規模 DNA データを用いて、1) 遺伝的類縁関係と遺伝構造解析を実施し、アジア在来ヤギの伝播経路の全貌と新たな起源地の仮説を検証すること、2) ヤギの数十におよぶ形質に対する候補染色体領域・遺伝子をゲノムワイド相関解析(GWAS) を通じて明らかにすることを目指し、3) 近い将来、この 1) と 2) の全容解明の足掛かりとなる研究として位置付ける。

### 3. 研究の方法

これまで申請者は 12 か国の在来ヤギ(各国 ~ 100 頭)に対する mtDNA や Y 染色体由来の遺伝子解析を実施してきた。本研究ではこれらの個体に対して、50K 高密度 SNP アレイ(1 解析で常染色体 5 万以上の DNA 変異の検出が可能)を用いた分析を実施し、大規模なゲノム情報を取得する。この大規模遺伝情報を利用し、以下の 2 解析を実施する。

1) アジア在来ヤギの起源と伝播経路の解明：ヤギはメソポタミア文明発祥の地において家畜化され、それが世界に伝播した説が有力である。一方、申請者はアジア在来ヤギに対する mtDNA や Y 染色体遺伝子解析を実施し、世界に先駆けて複数の家畜センターの存在を示唆した。特に南・東南アジア特有の遺伝子型起源は申請者が提示した独創的なものであり、この起源の真相に迫るには大規模 DNA データによる解析が最も有効であると考えた。本研究では、この南・東南アジアに特有に見られる遺伝子型の起源と伝播を、大規模 DNA 解析により提示する。2) 得られた収集試料データは、数十の形質を含み、加えて申請者は高密度 SNP アレイの遺伝情報も蓄積してきた。DNA 試料と情報利用が可能になりつつある現在、本データを利用した包括的なゲノム解析を実施すれば、ヤギの様々な環境適応形質の責任遺伝子を明らかにできると着想した。

この課題 1) と 2) を通して、家畜ヤギの知られていない起源伝播の解明と環境適応形質に関する責任遺伝子を明らかにすることにより、世界における最重要家畜の一つであるヤギの環境適応性や形質責任遺伝子の全貌解明の足掛かりとしたい。最終的に得られる成果の遺伝情報は、世界規模でのヤギの育種改良の基礎情報として利用でき、世界をリードできる研究つながると期待できる。また、各国政府や FAO などによる在来ヤギの遺伝子資源保全の計画立案に大きく貢献できる。

#### 4. 研究成果

本研究課題の当初予定では 2022 年度終了と計画していたが、数百個体でのミトゲノム解析が終了できなかった。この理由としては、コロナ禍に伴い、大量ミトゲノム解析に必要な REPTIDE 試薬を提供している海外メーカーの吸収が行われ、しばらくの間試薬が提供されなかったためである。2022 年度に試薬等の入手が可能となり、ミトゲノム解析も終了した。下記にこれも含めた研究課題全体の概要を示す。

##### 1) 中央・南・東南アジア在来ヤギのミトゲノム解析

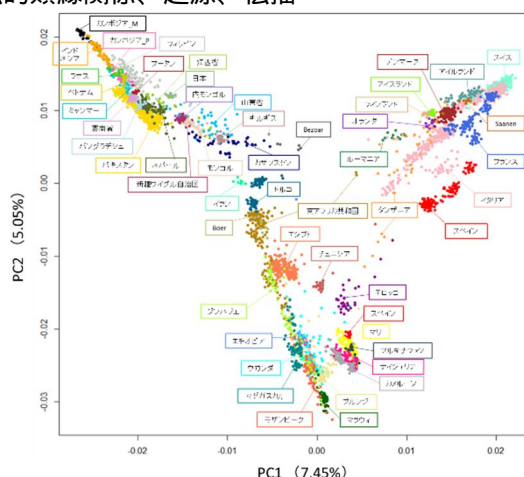
当研究室が所有するアジア在来ヤギのサンプルの中から、mtDNA ハプログループ A と B を有する 480 個体を選出し配列決定に供した。次世代シーケンサーによる遺伝情報に基づいて NJ 系統樹を作成した。

Median Joining Network において、アジア在来ヤギハプログループ A の大半は 1 つのハプロタイプに 1 個体であったことから、高い遺伝的多様性が確認された。一方でフィリピンやベトナム、またラオスの一部の地域の個体はまとまって確認された。その主な要因として、フィリピンの個体については地理的隔離があったこと、ベトナムとラオスの個体については、他個体とは異なる経路で伝播としたことが考えられた。また、枝長から、モンゴルの個体と比較してラオス、ベトナムの個体の遺伝的分化の度合いが高いことが示唆された。この結果は、NJ 系統樹で推定された、家畜化中心地からシルクロードを通り中国へ到達後、南下し東南アジアに伝播した経路を支持する結果であった。

得られた配列から、年代推定を行った結果、サブハプログループ B1 と B2 の分岐年代は 30,1600~307,700 年前と推定された。

##### 2) 大規模 DNA データによるアジア在来ヤギの遺伝的類縁関係、起源、伝播

高密度 SNP 解析では、49 集団 4,155 個体を対象とした解析を行った。PCA 解析と STRUCTURE 解析 (K=3) の結果から、ヨーロッパ・アフリカ・アジアの 3 つのクラスターに明確に分離した。また、STRUCTURE 解析 (K=3) の結果からは、アジアではヨーロッパやアフリカの祖先集団の遺伝要素をほとんど有していないことが示された。migration 解析においては、アジア - アフリカ間では少し、アジア - ヨーロッパ間では全く遺伝子流入は推定されなかった。以上の結果から、アジア在来ヤギは独自の遺伝構造を保持していることが示唆された。

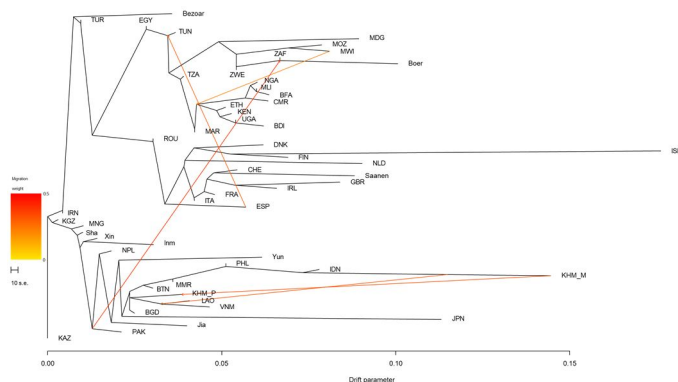


次にアジア在来ヤギと Boer の 23 集団 1,417 個体を用いて、核ゲノム SNP に基づく各種解析を実施した。STRUCTURE 解析では K=4 において、アジア北部ではトルコの祖先集団の要素の割合が高いが、南・東南アジアではほとんど見られなかった。この結果から、アジアの北部と南部で伝播ルートが異なり、遺伝構造に地理的差異が現れたと考えられた。PCA 解析ではベトナム・ラオスのサンプルが中国と東南アジアサンプルの間にプロットされ、migration 解析でベトナム・ラオス - 中国間での遺伝子流入が多数観察された。これらの結果から、中国と東南アジアの特にベトナム・ラオス間で遺伝子流入があったことが示唆された。さらに、ヒトの伝播の動きを踏まえ、中国から東南アジアへヤギが南下した伝播経路があったと考えられた。

以上の結果・考察を踏まえ、東南アジアへは (1) 中東よりも東部で家畜化され、ヒマラヤ山

脈沿いに伝播したルート(2) 中国から東南アジアへ南下したルート(3) 中東から南アジアを経由して伝播したルート、の3つの波が存在していたという説を提唱した。

加えて東南アジア諸島における在来ヤギに対しては、系統解析、遺伝構造解析、遺伝子流入解析より、フィリピンではヨーロッパ及び南アフリカ集団との遺伝的類似性が示唆される結果となった。この遺伝構造は数百年前の海洋貿易によってもたらされたことを新しい仮説として提示した。



### 3) ヤギの無角に関わる責任多型および責任遺伝子の解明

ヤギには品種や性別に関係なく、有角個体と無角個体が存在する。古くから角の表現型を制御する遺伝子座についての研究が行われており、有力な候補多型として1番染色体の“置換”が挙げられているが、この多型が角の発生や成長に関与する機構や関わる遺伝子については明らかにされていない。本研究では、ヤギの無角の責任多型を網羅的に調査し、その結果とともにヤギの角の表現型を制御する機構について考察した。

まず、有力候補多型である置換内におけるmiRNAの調査、ウシの無角の責任多型内に位置する遺伝子との比較を、NCBIを参照して行った。次にアジア在来ヤギ8個体(有角7個体、無角1個体)の全ゲノムリシークエンス解析データを用いて、得られた多型の内、8個体において角の表現型が完全に説明される多型を探索した。さらにその中からいずれかの遺伝子の機能に影響を及ぼし得る多型について有角、無角のヤギそれぞれにおいて遺伝子型判定を行い、角の表現型との関連について検討した。

置換内には既知のmiRNAは存在せず、ウシの無角の責任変異内に位置する6遺伝子のオーソログについても、置換内は存在していなかった。また全ゲノムリシークエンスにより得られた多型から8個体において角の表現型が完全に説明される多型は143多型存在し、その中から遺伝子の機能への影響や、先行研究の報告を踏まえ、COPB2遺伝子5'UTR多型、RBP2遺伝子上流3多型、PISRT1内の1bp欠失多型の計5多型を無角関連候補多型として選出した。5多型の遺伝子型判定を行った結果、いずれの多型についても、角の表現型を説明する多型ではないと考えられた。以上の検証により、既報の1番染色体における置換がヤギの無角の責任多型である可能性は極めて高いと結論付けた。最後に置換によって影響を受ける遺伝子および角の表現型への影響について、先行研究を踏まえて考察を行った。その結果、置換部分の下流に位置するPISRT1を介してFOXL2の発現が促進、または置換によってFOXL2の発現が直接制御されており、置換が起こるとFOXL2の発現が増加する考えた。このFOXL2の発現増加に伴ってSOX9の発現が抑制されることで、RXFP2のプロモーター活性が抑制される。最終的に、RXFP2のプロモーター活性の抑制により、ヤギの前頭骨においてRXFP2を介した骨形成が阻害されることで無角となると結論付けた。今後、PISRT1、FOXL2、SOX9、RXFP2を対象にした遺伝子発現解析など、より詳細な検証を行うことで、角の発生学的機構や無角となる要因について本研究で論じた仮説を裏付ける知見が得られることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sasazaki S, Tomita K, Nomura Y, Kawaguchi F, Kunieda T, Shah MK, Mannen H	4. 巻 92
2. 論文標題 FGF5 and EPAS1 gene polymorphisms are associated with high-altitude adaptation in Nepalese goat breeds	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anim Sci J	6. 最初と最後の頁 e13640
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/asj.13640	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 Mannen H, Iso K, Kawaguchi F, Sasazaki S, Yonezawa T, Dagong MIA, Bugiwati SRA	4. 巻 91
2. 論文標題 Indonesian native goats ( <i>Capra hircus</i> ) reveal highest genetic frequency of mitochondrial DNA haplogroup B in the world	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Animal Science Journal	6. 最初と最後の頁 e13485
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/asj.13485	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 Tabata R, Kawaguchi F, Sasazaki S, Yamamoto Y, Rakotondraparany F, Ratsoavina FM, Yonezawa T, and Mannen H	4. 巻 36
2. 論文標題 Phylogeographic analysis of Madagascan goats using mtDNA control region and SRY gene sequences	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 294-298
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2108/zs180184	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 Vargoats Consortium, Kawaguchi F, Nomura Y, Sasazaki S, Econogene Consortium, Mannen H, Lenstra JA et al.	4. 巻 31
2. 論文標題 Geographical contrasts of Y chromosomal haplogroups from wild and domestic goats reveal ancient migrations and recent introgressions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Ecology	6. 最初と最後の頁 4364 ~ 4380
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/mec.16579	査読の有無 無
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 Hilmia Nena, Rahmat Dedi, Dagong Muhammad Ihsan Andi, Bugiwati Sri Rachma Aprilita, Sutopo Sutopo, Lestari Dela Ayu, Setiaji Asep, Matitaputty Procula Rudlof, Sutikno Sutikno, Mannen Hideyuki	4. 巻 221
2. 論文標題 Study of Kosta goat (Capra hircus) mitochondrial DNA and their phylogenetic based on whole genome sequencing	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Small Ruminant Research	6. 最初と最後の頁 106937 ~ 106937
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.smallrumres.2023.106937	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 政岡真帆, 笹崎晋史, 川口英岐, 米澤隆弘, 呉佳齊, 山本義雄, Muh. Ihsan A. DAGONG, Sri Rachma Aprilita BUGIWATI, 万年英之
2. 発表標題 父母系および核ゲノムSNPマーカーを用いたインドネシア在来ヤギの遺伝構造解析及び遺伝子流入の推定
3. 学会等名 第22回日本動物遺伝育種学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森澤亮, 笹崎晋史, 万年英之, 川口英岐
2. 発表標題 アジア在来ヤギにおける角の有無と既報の1番染色体無角関連多型との関連
3. 学会等名 第22回日本動物遺伝育種学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 万年英之
2. 発表標題 近年における在来家畜・海外学術調査の概要報告と研究成果「フィリピン・インドネシア島嶼における在来家畜の遺伝学的調査研究」
3. 学会等名 日本動物遺伝育種学会・在来家畜研究会合同シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 富田宏一郎、野村悠登、笹崎晋史、万年英之
2. 発表標題 ネパール在来ヤギにおけるEPAS1, FGF5遺伝子多型と高地適応形質との関連調査
3. 学会等名 第21回日本動物遺伝育種学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 AYIN、田端 里彩、笹崎 晋史、川口 芙岐、小林 栄治、山本 義雄、米澤 隆弘、呉 佳齊、Masangkay JS、万年 英之
2. 発表標題 父母系および高密度 SNPマーカーを用いたフィリピン在来ヤギの遺伝構造と伝播の推定
3. 学会等名 第128回日本畜産学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Iso K; Sasazaki S; Kawaguchi F; Yonezawa T; Wu J; Nomura K; Takahashi Y; Kobayashi E; Shah M; Faruque O; Masangkay JS; Bakhtin M; Kazymbet P; Dorji T; Mannen H
2. 発表標題 Genetic diversity and structure in 11 native Asian goat populations analyzed by high density SNP array
3. 学会等名 37th International Society for Animal Genetics Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nomura Y; Kunieda T; Shah M; Kawaguchi F; Sasazaki S; Mannen H
2. 発表標題 Phylogenetic analysis of Nepalese goats using mtDNA D-loop region and SRY gene sequences
3. 学会等名 37th International Society for Animal Genetics Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Lenstra JA, Vargoaats Consortium, Kawaguchi F, Nomura Y, Sasazaki S, Econogene Consortium, Mannen H, et al.
2. 発表標題 "Y-chromosomal haplogroups from wild and domestic goats reveal ancient migrations and recent introgressions"
3. 学会等名 WCGALP congress (国際学会)
4. 発表年 2022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
研究分担者	笹崎 晋史 (Sasazaki Shinji)  (50457115)	神戸大学・農学研究科・准教授  (14501)	
研究分担者	米澤 隆弘 (Yonezawa Takahiro)  (90508566)	東京農業大学・農学部・准教授  (32658)	

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			
インドネシア	Hasanuddin大学動物科学部			
フィリピン	University of Philippines, Los Banos			
カザフスタン	Medical University Astana			