

平成 22 年 5 月 26 日現在

研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2008 年度 ～ 2009 年度  
 課題番号：20780199  
 研究課題名（和文）ウシ脂肪酸代謝関連遺伝子の研究

研究課題名（英文）Studies on fatty acid metabolism related genes in cattle

## 研究代表者

笹崎 晋史 (SASAZAKI SHINJI)  
 神戸大学・大学院農学研究科・助教  
 研究者番号：50457115

研究成果の概要（和文）：不飽和脂肪酸は血中コレステロール値の増加を抑える効果があることなどから、ウシの育種改良において、牛肉内脂肪の脂肪酸組成が注目されている。我々は、これまでの研究で、SCD、SREBP、FASN の 3 遺伝子内の変異が、黒毛和種における脂肪組織の不飽和脂肪酸含有量に影響することを報告した。本研究では、脂肪酸代謝に関わっていると考えられる 7 つの遺伝子について、新たに多型探索を行い、脂肪酸組成に対する影響について調査した。FABP4、LXR $\alpha$ 、Cyt b5、ACSL1、ACSL4、DGAT 2、ACACA に着目し、翻訳領域の塩基配列決定と多型探索を行った結果、14 の SNPs を検出した。このうち、FABP4 と LXR $\alpha$  においてアミノ酸置換を伴う多型が 2 つずつ同定された（FABP4 I74V 及び V110M、LXR $\alpha$  G51E 及び V133I）。これら 4 つの多型について脂肪酸組成および枝肉形質との関連について分析したところ、FABP4 I74V は C16:1 の割合において高い有意差が観察され（ $P=0.0086$ ）、I/I ホモ接合体が V/V ホモ接合体よりも 0.51% 高い値を示した。また、FABP4 I74V の効果は相加的であり高い有意差が検出されたことから、種雄牛選抜における有効な DNA マーカーとなることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Fatty acid composition has become an important trait in the beef industry in terms of beef flavor and decreasing the circulating concentration of LDL cholesterol. In this study, we examined the association between polymorphisms of seven genes (FABP4, LXR $\alpha$ , Cyt b5, ACSL1, ACSL4, DGAT 2 and ACACA) and fatty acid composition. Sequence comparisons revealed 14 single nucleotide polymorphisms in seven genes. Four of them, I74V and V110M in FABP4 and G51E and V133I in LXR $\alpha$ , were nonsynonymous substitutions. The genotypes of FABP4 I74V was significantly associated with palmitoleic acids (C16:1,  $P=0.0086$ ) content in intramuscular fat. Especially, FABP4 I74V had highly significant effect ( $P<0.01$ ) on C16:1 proportion, indicating that the I/I homozygote exhibited 0.5% higher percentage than V/V homozygote.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用動物科学

キーワード：ウシ、牛肉、不飽和脂肪酸、遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

ウシの育種改良においては、産肉能力を向上させることに重点が置かれている。肉量に関しては、ロース芯面積、正肉歩留、一日あたり増体量の増大が枝肉の価値を決めるうえで重要である。一方、肉質に関するものとしては、脂肪交雑（さし）の増加が重視されているが、脂肪の物理的性状に影響する脂肪の色、脂肪の光沢、脂肪の質は食味性に大きく影響することが考えられている。また、不飽和脂肪酸は血中コレステロール値の増加を抑える効果が指摘されており、嗜好の面のみならず人の健康面に関しても利点がある。すなわち、脂肪の質は肉用牛を育種改良する上で重要な因子であると考えられる。

近年、ウシ体脂肪中の不飽和脂肪酸が牛肉の熟成期間中に芳香物質となることが報告された。ウシは反芻生理学的特性から脂肪酸はルーメン内で一度分解され、揮発性脂肪酸として第一胃壁から吸収される。その後、飽和脂肪酸は脂肪組織において脂肪酸合成が行われ、脂肪酸の不飽和化が行われる。そのため、ウシの脂肪酸組成は単胃動物に比べると飼料の影響を受けにくい。また、これまでの研究で、ウシ体脂肪の脂肪酸組成が品種あるいは系統に特異的な性質を有することが報告されている。これらのことから、ウシ体脂肪の不飽和度は遺伝的要因により制御されることが示唆される。

ウシ体脂肪を構成する主な脂肪酸はパルミチン酸 (C16:0)、パルミトオレイン酸 (C16:1)、ステアリン酸 (C18:0)、そして、オレイン酸 (C18:1) で、脂肪酸組成のほぼ 90%を占める。このうち一価不飽和脂肪酸 (MUFA) のパルミトオレイン酸とオレイン酸が、脂肪酸組成全体の約 60 から 70%を占める。これまでの研究では、我が国固有の肉専用種である黒毛和種はその他の品種に比べて不飽和脂肪

酸含有量が有意に高く、体脂肪の融点が低いことが示されている。黒毛和種は高度な脂肪交雑を有し世界的にも優れた肉質を有する牛肉を生産するが、このような品種間での脂肪の質の違いが黒毛和種特有の熟成香を生み出す要因となっている。

## 2. 研究の目的

本研究では、牛肉の不飽和脂肪酸の遺伝的要因を明らかにし、不飽和脂肪酸の含有量に基づいた美味しく健康的な牛肉の DNA 評価法の開発とそれを用いた牛集団の育種改良を目的とする。

## 3. 研究の方法

脂肪代謝に関わる遺伝子群の遺伝変異探索を行い、同定された多型について黒毛和種、ホルスタイン種における枝肉形質（脂肪酸組成を含む）への影響を調査する。

対象とする遺伝子群は、SCD、SCD を調節する SREBP-1、その他脂肪代謝関連遺伝子に着目する。SCD に関しては、我々のこれまでの研究によって、この遺伝子の突然変異が脂肪の不飽和度に影響することを明らかにしている。また、この遺伝子の発現量も脂肪の不飽和度に関連していることを示唆した。脂肪の不飽和度は最終的にこの SCD 遺伝子が代謝を行うため、その発現量が重要となるが、この遺伝子の調節領域には個体、品種間において変異が認められなかった。

したがって、SCD を調節する SREBP-1 やその他の調節因子や脂肪代謝関連遺伝子の探索が重要であると考えている。これらの遺伝子群は複雑なネットワークを構成していると考えられており、SCD を中心として脂肪酸組成に影響を及ぼす可能性が高いと思われる。したがって、これらの遺伝子における遺伝変異を個体間、品種間で探索し、検出された変

異については脂肪の不飽和度に影響するかを調べる。

牛のゲノム配列については、2004年にドラフトシーケンスが公表されたため、この配列情報を基礎とし、黒毛和種、ホルスタイン種を対象にし、それぞれの遺伝子に対し各個体の塩基配列を決定する。同定された変異については、その変異に基づいた PCR-RFLP を間検出法として開発し、黒毛和種 234 個体について遺伝子型判定を行い、脂肪酸組成を含む枝肉形質との関連について調査する。

#### 4. 研究成果

1) 脂肪酸代謝における関連が報告されている 7 つの遺伝子、adipocytes fatty acid binding protein (FABP4)、liver X receptor  $\alpha$  (LXR  $\alpha$ )、cytochrome b5 (Cyt b5)、long-chain acyl-CoA synthetase (ACSL) 1、ACSL4、diacylglycerol acyltransferase (DGAT) 2、Acetyl-CoA carboxylase- $\alpha$  (ACACA) に着目し、翻訳領域の塩基配列決定と多型探索を行った。多型探索によって同定された多型に対して、これらの遺伝子型と脂肪酸組成および枝肉形質との関連について相関分析を行った。

黒毛和種 5 個体とホルスタイン種 3 個体の 8 個体による多型探索の結果、14 の SNPs を検出した。このうち、FABP4 と LXR  $\alpha$  においてアミノ酸置換を伴う多型が 2 つずつ同定された (FABP4 I74V 及び V110M、LXR  $\alpha$  G51E 及び V133I)。これら 4 つの多型について脂肪酸組成および枝肉形質との関連について分析したところ、FABP4 I74V は C16:1 の割合において高い有意差が観察され (P=0.0086)、I/I ホモ接合体が V/V ホモ接合体よりも 0.51%高い値を示した。LXR  $\alpha$  V133I は C18:2 の割合において有意な差が観察され (P=0.0121)、V/I ヘテロ接合体が V/V ホモ接

合体よりも C18:2 の割合において 0.22%有意に高い効果を示した。

本研究において同定された遺伝子多型、特に FABP4 I74V の効果は相加的であり高い有意差が検出されたことから、種雄牛選抜における有効な DNA マーカーとなることが示唆された。

2) ホルスタイン種去勢肥育牛 198 頭を実験に供し、筋組織よりゲノム DNA を抽出し、PCR-RFLP 法により各遺伝子の遺伝子型判定を行った。対象遺伝子マーカーは、SCD、SREBP、FABP4、LXR  $\alpha$ 、とし、対象形質は枝肉 6 形質及び横隔膜筋の脂肪酸組成割合とした。結果、SREBP においては多型が観察されず、LXR  $\alpha$  は遺伝子型頻度に極端な偏りが見られた。いずれの遺伝子も、枝肉形質に効果は見られなかった。FABP4 遺伝子型においては C16:0 との関連が見られた。また、SCD 遺伝子型においては C14:0、C14:1、C18:0、SFA との関連が見られたが、黒毛和種において報告のある C18:1 に対する有意な効果は本研究では見られなかった。しかしながら、これは V/V 型の個体数が少なかった (n=18) ためであると考えられ、最小二乗平均値では黒毛和種と同様に A アリルに相加的な効果を示す傾向が見られた。以上により、SCD 遺伝子マーカーはホルスタイン種においても脂肪酸組成の改良に有効であることが示唆され、大衆牛肉として好まれているホルスタイン牛肉における肉質向上に貢献できると期待される。

#### 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)

① H. Ohsaki, A. Tanaka, S. Hoashi, S. Sasazaki, M. Taniguchi, K. Oyama, F. Mukai

and H. Mannen. 2009. Effect of SCD and SREBP genotype on fatty acid composition in adipose tissue of Japanese Black cattle fattened in the field. Animal Science Journal. 80(3), 225-232.

② Shogo Hoashi, Atsuko Tanaka, Hideki Ohsaki, Shinji Sasazaki, Masaaki Taniguchi, Kenji Oyama, Fumio Mukai and Hideyuki Mannen. 2008. Association between fatty acid compositions and genotypes of FABP4 and LXR-alpha in Japanese Black cattle. BMC genetics. 9:84.

[学会発表] (計4件)

①鳴神 貴太・笹崎 晋史・大山 憲二・野儀 卓哉・万年 英之 2009 ホルスタイン種における枝肉形質に関する遺伝子多型の効果 第111回日本畜産学会大会

②鳴神 貴太、笹崎 晋史、大山憲二、庄司 則章、中嶋 宏明、万年 英之 2009 黒毛和種におけるDGAT1 遺伝子多型の枝肉形質に対する効果 第112回日本畜産学会大会

③Shinji SASAZAKI, Atsuko TANAKA, Hideki OHSAKI, Kenji OYAMA, Fumio MUKAI, Hideyuki MANNEN. 2008. Effect of SCD, SREBP and FASN genotypes on fatty acid composition in adipose tissue of Japanese Black cattle. 31th International Conference on Animal Genetics.

④ Shogo Hoashi, Atsuko Tanaka, Hideki Ohsaki, Shinji Sasazaki, Kenji Oyama, Fumio Mukai, Hideyuki Mannen. 2008. Polymorphisms of fatty acid related genes and association between genotypes and

fatty acid composition in Japanese Black cattle. 31th International Conference on Animal Genetics.

[図書] (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/gste-animgent/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

笹崎 晋史 (SASAZAKI SHINJI)

神戸大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：20457115