

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 7日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580346

研究課題名（和文） アラキドン酸代謝に関わるデルタ6デサチュラーゼ遺伝子の多型と発現調節機構の解明

研究課題名（英文） Genetic polymorphisms of chicken delta 6 desaturase gene affecting arachidonic acid metabolism

## 研究代表者

高橋 秀彰（TAKAHASHI HIDEAKI）

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所・家畜育種繁殖研究領域・主任研究員

研究者番号：80399427

研究成果の概要（和文）：鶏肉のおいしさの指標であるアラキドン酸の遺伝的改良を目的として、デルタ6デサチュラーゼ遺伝子の解析を行った。その結果、デルタ6デサチュラーゼ遺伝子の5'上流のプロモーター領域に、一塩基多型（SNP、A または G）の存在を確認した。同 SNP と鶏肉のアラキドン酸との関連性を調査した結果、デルタ6デサチュラーゼ遺伝子の G アリルには、鶏肉のアラキドン酸路含量を高める効果があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Association between genetic polymorphisms of delta 6 desaturase gene and arachidonic acid content of thigh meat of Hinai-jidori and broiler chickens was elucidated. Single nucleotide polymorphism (A or G) found in the promoter region of delta 6 desaturase gene was associated with arachidonic acid content of thigh meat in the chickens and arachidonic acid content of the G allele was significantly higher than that of the A allele.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

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：鶏・脂肪酸・アラキドン酸・デルタ6デサチュラーゼ・遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

(1)ブロイラーと比べ、食味性に優れるいわゆる「地鶏」に対する消費者の購買意欲が高まっている。しかしながら、地鶏がなぜおいしいのか、いまだに明確な答えがでていない。官能試験を行うと、一様に、地鶏の方がブロイラーよりもおいしい、という結果を得る。ブロイラーに比べて地鶏肉は噛みごたえがあり、消費者がおいしいと感じる一因である。

しかしながら、噛みごたえだけならば卵専用種の廃鶏も同様であって、廃鶏を使った偽装表示事件も過去にあった。鶏肉中のグルタミン酸など遊離アミノ酸についても多くの研究がなされているが、個々の遊離アミノ酸含量はブロイラーの方が有意に多いか、多い傾向にあり、遊離アミノ酸総量はブロイラーの方が有意に多い。この結果は、官能試験にも反映され、ブロイラーから作られた鶏肉スー

プの方が、地鶏スープよりもおいしいと報告されている。さらに比内地鶏では、イノシン酸含量がブロイラーよりも多いという報告があるが、他の地鶏では、ブロイラーと有意差がないと報告されている。最近、人工脂質膜を用いた味覚センサーが開発され、官能試験に代わる手法として期待されているが、脂質膜を介した電圧の変化を測定しているのであって、おいしさを決める物質を定量化しているわけではない。我々は、油においしさの源があるのでは？と考えているが、味覚センサーでは、人工脂質膜センサーを用いているために、油を含むスープを測定することができない。

(2)過去の報告を精査した結果、試験設計上の問題を含んでいることがわかった。問題は大きく2つに分けられた。

① 飼養環境・飼料・飼養期間が斉一ではない、あるいは市場で購入した飼養条件が全く不明な地鶏とブロイラー鶏肉を比較していた。

② 官能評価は、油を除去した水溶性部分だけのスープ形態で行われていた。

①の問題については、鶏肉という最終生産物の性状の違いを比較しても、おいしさの本体に迫ることはできないと我々は考えた。そこで、秋田県農林水産技術センター畜産試験場と共同し、比内地鶏とブロイラーを同じ期間、同じ飼料で、同じ飼い方をした時に、鶏肉の脂肪酸組成に差異が生ずるか、実験を行った。その結果、比内地鶏のアラキドン酸含量およびドコサヘキサエン酸含量は、ブロイラーよりも有意に多いことを明らかにした(表1、力丸ら、日本家禽学会 2009 秋季大会、2009)。

表1 ブロイラーと比内地鶏の脂肪酸組成の比較(抜粋)

鶏種	ブロイラー	ブロイラー	比内地鶏
飼育期間	8週	22週	22週
オレイン酸	43.26±1.32	43.24±0.77	43.72±1.11
パルミチン酸	21.56±0.80	21.46±0.74	20.68±0.83
リノール酸	17.06±1.56	18.06±0.59	17.48±1.23
アラキドン酸	1.42±0.27 <sup>a</sup>	1.26±0.33 <sup>a</sup>	1.92±0.04 <sup>b</sup>
ドコサヘキサエン酸(DHA)	0.20±0.07 <sup>a</sup>	0.24±0.11 <sup>ab</sup>	0.38±0.04 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup>: 異符号間に有意差あり

②の問題について、我々は、おいしさの原因物質は脂溶性成分ではないか、と考えているのだから、油を含むスープ形態で官能評価を実施すれば、解決すると思われた。

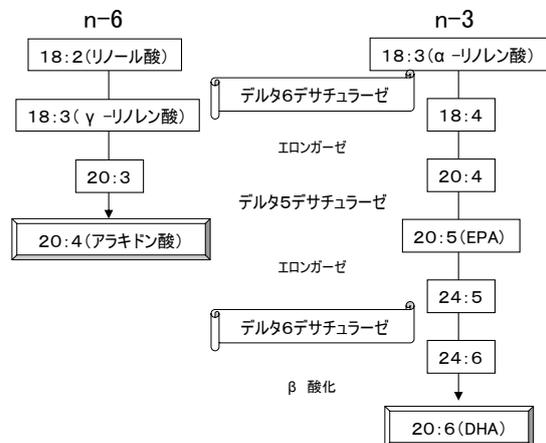
(3)一方、(株)J-オイルミルズは、自社の植物性調理油にアラキドン酸を添加しチャーハンやフライドポテトを調理したとき、料理のおいしさが増進するとプレスリリースした(2008年6月)。その中で、一定の高濃度に至るまで、官能試験の指標値は、アラキドン酸含量に比例して高くなることを報告した。(株)J-オイルミルズの研究成果は、タイムリーであり、これによって比内地鶏のおいしさの原因物質として、アラキドン酸の可能性が急浮上した。そこで、アラキドン酸高含有の比内地鶏鶏肉と、アラキドン酸低含有のブ

ロイラー鶏肉を比較する官能評価を、油を含むスープ形態で実施した。その結果、比内地鶏は、ブロイラーよりも官能評価値が高いことを確認した(比内地鶏ネットホームページ、[http://www2.e-komachi.jp/hinaijidori/up\\_pdf/668\\_1.pdf](http://www2.e-komachi.jp/hinaijidori/up_pdf/668_1.pdf))。

## 2. 研究の目的

比内地鶏で高いアラキドン酸およびドコサヘキサエン酸は、それぞれn-6系およびn-3系の長鎖不飽和脂肪酸の最終産物であり、含量の違いが生ずる原因として、代謝経路中に存在する酵素活性の違いの存在を、最も想定しやすい。我々はデルタ6デサチュラーゼに着目した。デルタ6デサチュラーゼは、n-6、n-3系共通経路の第一段階およびドコサヘキサエン酸生合成の最終段階に関わっている(図1)。

図1 長鎖不飽和脂肪酸の生合成経路



(1)目的1: ニワトリゲノムの概要解読結果(ドラフトシーケンス)は、2004年に決定され、インターネットを通じて公開されている。しかしながら、ドラフトシーケンスにおいては、デルタ6デサチュラーゼ遺伝子の5'上流の遺伝子発現調節領域に未解読部分が存在するため、その部分のDNA塩基配列を決定する。

(2)目的2: デルタ6デサチュラーゼ遺伝子の5'上流の遺伝子発現調節領域に検出される遺伝子多型が、同遺伝子の発現調節に及ぼす影響を、ルシフェラーゼレポーターアッセイを行って、実験的に解明する。

(3)目的3: 遺伝子発現調節領域に存在する多型によって、遺伝子発現に違いがあるようであれば、おいしい鶏肉を生産する商業鶏を新たに作出する場合や、おいしい地鶏をもっとおいしく改良しようとする場合、その遺伝子多型は、非常に重要な意味を持つてくる。そこで、比内地鶏、ロードアイランドレッド種のほか、ブロイラー生産に関わる白色プリマストック種や白色コーニッシュなど、多くのニワトリ品種・系統を用いて、デルタ6デサ

チュラーゼ遺伝子の多型性を調査する。さらに、ブロイラーおよび比内地鶏において、遺伝子型が異なる個体を、同一環境飼育した時、鶏肉のアラキドン酸に差があるか、検証する。

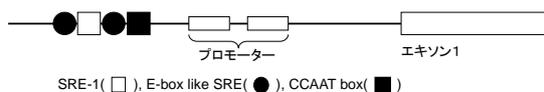
### 3. 研究の方法

- (1) 比内地鶏生産に関わる比内鶏とロードアイランドレッド種、およびブロイラーの3者のデルタ6デサチュラーゼ遺伝子の5'上流領域のDNA塩基配列を決定し比較した。
- (2) デルタ6デサチュラーゼ遺伝子の発現制御領域に存在する遺伝子多型が、同遺伝子の発現調節に及ぼす影響を明らかにするため、ルシフェラーゼレポーターアッセイを用いて、プロモーター活性を測定した。
- (3) 遺伝子多型と、鶏肉中のアラキドン酸含有率の関連性を、ブロイラーおよび比内地鶏を用いて、調査した。

### 4. 研究成果

- (1) ニワトリのデルタ6デサチュラーゼ遺伝子の発現調節領域は、ヒトやマウスと同様の基本構造を持ち、プロモーター領域には一ヶ所、一塩基多型(SNP、AまたはG)が存在することが明らかになった(図2)。

図2 デルタ6デサチュラーゼの発現調節領域の模式図



- (2) 比内鶏、ロードアイランドレッド種およびブロイラー各3羽の塩基配列を比較したところ、比内鶏は3羽ともA/A型を示した。ロードアイランドレッド種は、2個体がA/A、1個体がA/G型を示した。ブロイラーは、2個体がG/G、1個体がA/G型を示した。

比内地鶏(比内鶏とロードアイランドレッド種の一代交雑鶏)は、ブロイラーよりもおいしいと仮定すると、Aアリルを持つニワトリは、アラキドン酸含量が高い鶏肉を生産するかもしれないと推察した。

- (3) AおよびGアリルをホモ型で保有する鶏2個体のDNAを鋳型として、デルタ6デサチュラーゼ遺伝子の発現制御領域部分をPCR増幅した後、ルシフェラーゼ発現ベクターpGL4(プロメガ社)のルシフェラーゼ遺伝子上流に分子クローニングし、同ベクターを大量調製した。これを、HeLa細胞にトランスフェクションし、2日間培養後、細胞を溶解し、発光基質を加えた後、ルミノメーターによって、発光量(プロモーター活性)を測定した。その結果、AアリルとGアリル型の間には、プロモーター活性の有意差は認められなかったが、G型が高い傾向を示した。

- (4) 比内鶏、軍鶏などのいわゆる「地鶏」品種

のほか、ロードアイランドレッド種、白色プリマスロック種、白色コーニッシュ種など、商業鶏生産に汎用されている西洋品種における、デルタ6デサチュラーゼ遺伝子のSNPの出現頻度を、ミスマッチ増幅変異分析法

(Mismatch Amplification Mutation Assay)を用いて検出した。その結果、比内鶏、岐阜地鶏、地頭鶏および土佐地鶏では、A型頻度:1であり、A型に固定していた。軍鶏では、A型頻度:0.43(G型頻度:0.57)であった。ブロイラー鶏種では、白色プリマスロック種では、A型頻度:0.09(G型頻度:0.91)、白色コーニッシュ種では、A型頻度:0.83(G型頻度:0.17)であった。

(5) 同日孵化した商業用ブロイラーの雌雛を、同一環境下で8週齢まで飼育し、デルタ6デサチュラーゼ遺伝子の一塩基多型と鶏肉の脂肪酸組成の関連性を調査した。商業用ブロイラーでは、A型頻度:0.71(G型頻度:0.29)であった。脂肪酸組成では、G/G型のアラキドン酸およびドコサヘキサエン酸が、A/A型に比べて有意に多かった。SNPアリルの効果を推定したところ、Gアリルのアラキドン酸およびドコサヘキサエン酸は、Aアリルに比べて有意に多かった。

(6) 同様に、同日孵化した比内地鶏の雌雛を、同一環境下で22週齢まで飼育し、デルタ6デサチュラーゼ遺伝子のSNPと鶏肉の脂肪酸組成の関連性を調査した。比内地鶏ではA/A型とA/G型だけが検出され、A/G型個体のアラキドン酸は、A/A型個体よりも有意に高かった。

(7) ブロイラーと比内地鶏の結果を総合考察すれば、デルタ6デサチュラーゼ遺伝子のGアリルには、鶏肉のアラキドン酸含量を高める効果があることが示唆され、(2)に記載された当初の仮説とは反対の効果が示唆された。

### 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3件)

- ① 高橋秀彰、力丸宗弘、清原玲子、山口進、Effect of arachidonic acid-enriched oil diet supplementation on the taste of broiler meat, Asian-Australasian Journal of Animal Sciences、査読有、25巻、2012、845-851
- ② 清原玲子、山口進、力丸宗弘、高橋秀彰、Supplemental arachidonic acid-enriched oil improves the taste of thigh meat of Hinai-jidori chickens、Poultry Science、査読有、90巻、2011、1817-1822
- ③ 力丸宗弘、高橋秀彰、Evaluation of the

meat from Hinai-jidori chickens and broilers: analysis of general biochemical components, free amino acids, inosine 5'-monophosphate, and fatty acids、 Journal of Applied Poultry Research、査読有、19 巻、2010、327-333

〔学会発表〕（計 3 件）

- ① 高橋秀彰、力丸宗弘、清原玲子、山口進、デルタ 6 デサチユラーゼ遺伝子の多型とブロイラー鶏肉の脂肪酸組成の関連性、日本家禽学会 2011 年度春季大会、平成 23 年 3 月 28 日、東京農業大学
- ② 力丸宗弘、高橋大輔、小松恵、石塚条次、清原玲子、山口進、高橋秀彰、Comparison of meat quality characteristics between the Hinai-jidori and broiler chickens、Proceedings of the 9th Asia Pacific Poultry Conference（第 9 回アジア太平洋家禽会議）講演論文集（CD 収録）、平成 23 年 3 月 21 日、台北（台湾）
- ③ 清原玲子、山口進、力丸宗弘、小松恵、石塚条次、高橋秀彰、アラキドン酸等油脂添加飼料が比内地鶏の肉の味に及ぼす影響、日本家禽学会 2010 年度秋季大会、平成 22 年 9 月 15 日、信州大学

〔図書〕（計 1 件）

- ① 力丸宗弘、清原玲子、山口進、高橋秀彰、木香書房『鶏の研究』8 号、「技術革新は養鶏産業の改革を進める」、「アラキドン酸給与は鶏肉をよりおいしくする」、2010、25-27

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

名称：鶏の鑑定方法  
発明者：高橋秀彰、山口進、江川やよい  
権利者：独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構、株式会社 J-オイルミルズ  
種類：特許  
番号：2012-195383  
出願年月日：2012 年 09 月 05 日  
国内外の別：国内

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等  
[http://www2.e-komachi.jp/hinaijidori/up\\_pdf/668\\_1.pdf](http://www2.e-komachi.jp/hinaijidori/up_pdf/668_1.pdf)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 秀彰 (TAKAHASHI HIDEAKI)  
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産草地研究所・家畜育種繁殖研究領域・主任研究員  
研究者番号：80399427

(2) 研究分担者

力丸 宗弘 (RIKIMARU KAZUHIRO)  
秋田県畜産試験場・比内地鶏研究部・研究員  
研究者番号：90500885