

2020-02：熊本系褐毛和種の遺伝学および衛生学的解析

松本 大和¹⁾、稲永 敏明¹⁾³⁾、檜村 敦¹⁾、今井 早希¹⁾、村田 浩平²⁾、今川 和彦³⁾、荒木 朋洋³⁾ (分析支援)

1) 農学部応用動物科学科、2) 農学部応用植物科学科、3) 総合農学研究所

(1) 遺伝学的解析

1. *PMEL* p.L18del の影響を受ける遺伝子群の解明

和牛 4 品種の一つである褐毛和種はその被毛から品種名が付けられており、「あか一枚」と呼ばれる単褐色の被毛が熊本系褐毛和種の最大の特徴である。しかしながら、熊本系褐毛和種では稀に被毛が淡色化した個体が現れ、この淡色化個体は淘汰の対象となる。これまでに我々は熊本系褐毛和種における毛色淡色化の原因遺伝子として *PMEL* p.L18del を同定した。この del 型は品種特性に負の効果を持つ対立遺伝子だが、その一方で BMS 等の肉質等級においては優良対立遺伝子であることが示唆されている。多型の影響により *PMEL* の機能や局在、発現量等が変化し、その変化が他の遺伝子群にも影響を及ぼしたため、*PMEL* p.L18del は肉質等級に効果が見られたのではないかと考えられるが、その詳細は不明である。そこで、本年度は *PMEL* p.L18del の遺伝子型に着目し、熊本系褐毛和種の通常色個体 (L/L 型) と淡色化個体 (del/del 型) を対象とした網羅的遺伝子発現解析により、*PMEL* p.L18del の影響を受ける遺伝子群を調査した。

阿蘇実習フィールドで飼養管理されている熊本系褐毛和種を供試動物とした。遺伝子発現への影響を除外するため、供試動物には月齢が近く、性別が同じで、血縁関係のない 2 個体を選抜し、同日に尾根部より各々 10 本程度の毛を採取した。この採材により得られた毛根より RNA を抽出し、RNA-seq 解析に供した。その結果、多岐にわたる遺伝子群において発現変動が確認された。Table 1 ではパスウェイ解析のトップ 10 を示したが、複数の代謝経路に關与する Metabolic pathways や MAPK signaling pathway において有意性が高かった。また、発現変動遺伝子には *DGAT2* 等の既知の経済形質関連遺伝子も複数含まれており、これらの結果は *PMEL* p.L18del による肉質等級への効果を支持するものだった。今後の研究では RNA-seq 解析の結果を real time PCR 法で検証すると共に、*PMEL* p.L18del に影響を受け、肉質に効果を持つ具体的な経路の解明が必要である。

Table 1 PMEL p.L18del の影響を受ける遺伝子群

Map Name	P-Value	Bonferroni	FDR
Metabolic pathways	2.4669E-30	7.9435E-28	7.9435E-28
MAPK signaling pathway	2.046E-13	6.588E-11	3.294E-11
Human papillomavirus infection	1.0274E-10	3.3081E-08	1.1027E-08
Pathways in cancer	4.0948E-10	1.3185E-07	2.833E-08
Glutamatergic synapse	4.7205E-10	1.52E-07	2.833E-08
Ras signaling pathway	5.5461E-10	1.7858E-07	2.833E-08
PI3K-Akt signaling pathway	6.1587E-10	1.9831E-07	2.833E-08
Herpes simplex virus 1 infection	1.6453E-09	5.2978E-07	6.0114E-08
Estrogen signaling pathway	1.6802E-09	5.4103E-07	6.0114E-08
Calcium signaling pathway	1.9391E-08	6.244E-06	6.244E-07

(2) 衛生学的解析

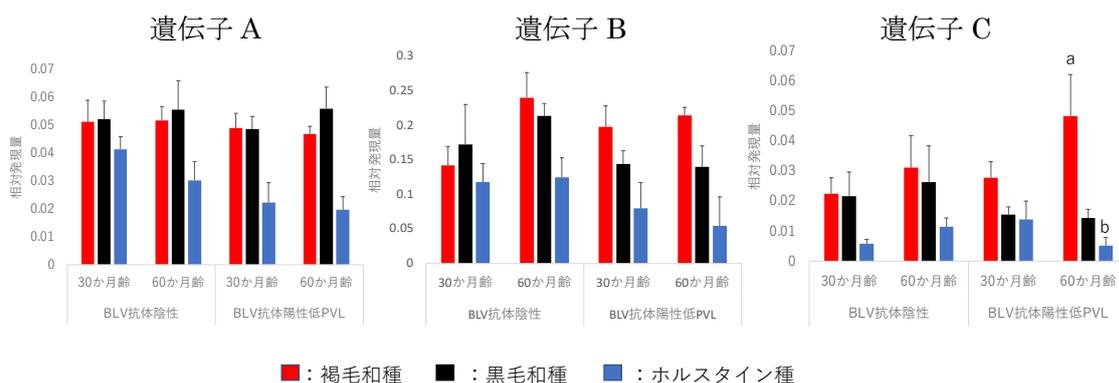
1. 褐毛和種における地方病性牛伝染性リンパ腫 (EBL) の発症抵抗性に関する解析

地方病性牛伝染性リンパ腫 (EBL) は牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) 感染が原因で起こる牛の伝染病である。EBL の原因病原体である BLV はレトロウイルスであり、血液中の B リンパ球に感染し、宿主細胞のゲノムに「プロウイルス」として組み込まれ、やがて B リンパ球の腫瘍化を起こし、感染牛の 30% 程度に持続性リンパ球増多症をもたらす。感染牛にはこの段階でもとくに症状はないものの、一部は全身に多発性のリンパ腫を発症し、起立不能や食欲不振といった牛伝染性リンパ腫の症状を発症する。本研究では、多くが熊本県内で飼養されている和牛の一品種である熊本系褐毛和種 (褐毛和種) において、牛伝染性リンパ腫の発生が非常に稀であることに注目して 2019 年度より研究を行ってきた。

本年度は、褐毛和種の BLV 感染牛における血中プロウイルス量が低いレベルで保たれるメカニズムを解明することを目的として、牛の条件をより厳密に揃えるため、褐毛和種、黒毛和種、ホルスタイン種のそれぞれの品種の牛を、月齢を 30 ヶ月齢前後、60 ヶ月齢前後に分け、それぞれの品種の BLV 抗体陰性牛および抗体陽性かつ低プロウイルス量 (PVL) 牛を用い、2020 年度までの RNA シークエンス解析などにより候補として上がった 10 遺伝子の血液における発現量をリアルタイム PCR で比較し、品種、月齢および PVL を要因とした分散分析を行った。

その結果、未発表データのため遺伝子名は伏せるが、10 遺伝子のうち、7 遺

伝子が品種の要因が有意であった。ただし、多重比較の結果、褐毛和種と黒毛和種間に有意差が検出された遺伝子はなかったものの、下記の遺伝子 A や C のように、一部の遺伝子はホルスタイン種において顕著に発現量が低く、和牛に比べ、ホルスタイン種が EBL への感受性が比較的高いことの原因である可能性もあり、更なる解析の必要性が示唆された。



分散分析：いずれも品種の要因が有意、多重比較検定：異符号間に有意差あり

(3) 業績

研究成果

【国内学会発表】

1. 木村聡志・齋藤怜・稲永敏明・櫻村敦・松本大和「熊本系褐毛和種における遺伝性疾患の保因牛の調査」日本畜産学会第129回大会. 2021年9月.

【学術論文】

1. Matsumoto H, Kimura S, Nagai Y, Fukuda Y, Miyazaki K, Imai S, Inenaga T, Kashimura A. (2022) *Leptin* gene contributes to beef marbling standard, meat brightness, meat firmness, and beef fat standard of the Kumamoto sub-breed of Japanese Brown cattle. *Animal Science Journal*. 93: e13698.
2. 西角光平・稲永敏明・西明仁・米澤隆弘・野口龍生・鳥居恭司・今川和彦・小林朋子、(2022)「褐毛和種における BoLA-DRB3 遺伝子の多様性解析」日本獣医疫学雑誌、26(2)掲載予定