

## 学 位 論 文 要 旨

### ウシの経済形質に関連する遺伝子多型および初期胚の遺伝子発現プロファイル解析 Analyses of genetic variations and gene expression profiles in the early embryo for bovine economic traits

生物生産科学専攻 動物生産学大講座  
張 傳強

日本における家畜改良は、家畜改良増殖目標に従い進められており、これまでにホルスタイン種では乳質および乳量に関する形質について目覚ましい成果を挙げてきた。しかしながら、ここ数年の受胎率の全国平均は低下傾向にあり、特に乳用牛であるホルスタイン種では深刻な問題となっている。また、飼養頭数の減少および経産牛の供用期間も短縮傾向にある。2025年までのホルスタイン種の経済形質における目標は、乳脂肪率などの乳成分においては現在の値を維持し、乳量を9,500~10,000kgに改良していくというものである。この改良増殖目標を目指して、農林水産省は、SNPを利用した遺伝子解析技術の導入および体外生産された受精卵を用いた優良後継牛の効率的生産技術の推進を図っている。

本研究では、高い経済形質を維持するためにゲノムワイド関連解析により、栃木県内の高い乳量および乳脂肪率のホルスタイン種雌集団(T集団)におけるマーカー遺伝子の探索を行い、また、受胎率低下の対策に寄与できる新規のマーカー遺伝子を探索するために、ヒトやマウスにおいて着床に関わることが報告されている遺伝子について、体外生産されたウシの初期胚における遺伝子発現プロファイルを作成し、受胎しやすい胚の品質評価においてマーカーとなる遺伝子の探索を試みた。

第1章では、ウシの育種改良現状を整理し、本研究で解析する遺伝子の研究経緯を論じた。

第2章では、乳量、乳脂肪率および産歴において優れた能力を持つT集団においてゲノムワイド関連解析(genome-wide association study: GWAS)を行った。その結果、乳脂肪率と相関があるSNP (single nucleotide polymorphism)マーカーがウシ第14番染色体上の

*DGAT1*(*Diacylglycerol acyl transferase 1*)遺伝子の領域に検出された。そこで T 集団における *DGAT1* 遺伝子の遺伝子型構成および乳脂肪率との関連性を解析した。*DGAT1* 遺伝子の AA 型、AK 型および KK 型を有するホルスタイン種の平均乳脂肪率(±標準誤差)はそれぞれ 3.82 (± 0.41)%、3.91 (± 0.39)%、4.52 (± 0.47)%であり、KK 型を有するウシの平均乳脂肪率は AA 型および AK 型を有するウシより有意に高かった。

以上の結果より、*DGAT1* 遺伝子の KK 型は、乳脂肪率の遺伝子マーカーとして有効であり、T 集団における乳脂肪率の維持および向上に貢献できると考えられた。

第 3 章では、T 集団の経産牛および不妊牛において、*BRCA1*(*Breast cancer 1*)遺伝子の *BRCA1* cDNA の塩基配列および SNP1257 と不妊との関連性を解析し、また、体外生産された黒毛和種の初期胚における *BRCA1* 発現プロファイルを作成した。*BRCA1* cDNA は 5,550bp であり、1,257bp で 1 つの SNP(SNP1257)のみが同定された。SNP1257 の対立遺伝子頻度は、経産牛と不妊牛との間に有意差はなかった。*BRCA1* 遺伝子の発現量は、黒毛和種の 2 細胞期胚、8 細胞期胚、桑実胚、胚盤胞および脱出胚盤胞において有意な差はなかった。また、*BRCA1* タンパク質は、黒毛和種の 2 細胞期胚、8 細胞期胚、桑実胚の割球の接着部分ではなく、割球表面全体に発現していた。胚盤胞および脱出胚盤胞において、*BRCA1* タンパク質は内細胞塊では発現していなかったが、栄養外胚葉に発現していた。

以上のことから、ウシ *BRCA1* は初期胚において細胞分化および胚発生の制御において働いていることが示唆された。

第 4 章では、ホルスタイン種および黒毛和種における、経産牛および不妊牛の *CXCR1*(*Chemokine (C-X-C motif) receptor 1*)遺伝子の 5 つの SNP と不妊の関連性を解析した。また、黒毛和種の初期胚において *CXCR1* 遺伝子発現プロファイルを作成した。

本研究のホルスタイン種および黒毛和種において、それぞれの経産牛と不妊牛との間に、5 つの SNP の対立遺伝子の出現率では有意差は認められず、共通のハプロタイプは存在しなかった。この結果より、本研究の *CXCR1* の 5 つの SNP の対立遺伝子は、ウシの不妊に関わっていないことが明らかとなった。黒毛和種の初期胚において、*CXCR1* 遺伝子の発現量は、2 細胞期胚、8 細胞期胚、桑実胚では発現は認められず、胚盤胞で発現していた。

以上のことから、*CXCR1* は 2 細胞期胚、8 細胞期胚、桑実胚では働いていないことが示唆された。

本研究により、栃木県の T 集団において、*DGAT1* 遺伝子が乳脂肪率のマーカー遺伝子となることが明らかとなった。また、体外生産されたウシの初期胚において、*BRCA1* および *CXCR1* 遺伝子の発現プロファイルが作成され、*BRCA1* はウシ初期胚の細胞周期や栄養外胚葉の分化において働いていることが示唆された。

これらの結果は、ホルスタイン種雌集団における高い乳脂肪率の維持と体外生産されたウシ胚の受胎率低下への対策の一助となると考えられた。