

DNAマーカーを指標とした牛の育種手法の開発に関する研究 —岡山県基幹種雄牛「花茂勝2」におけるQTL領域の推定(第1報)—

中藤由紀・黒岩 恵*・馬場 誠・溝口 康***・杉本喜憲****

Research on the development of breeding technique of the Japanese black cattle used of the DNA marker

Yuki NAKATOU, Megumi KUROIWA, Yasushi MIZOGUCHI, and Yoshikazu SUGIMOTO

要 約

岡山県基幹種雄牛「花茂勝2」において、産肉形質に関連するQTLを推定するため、DNAマーカーを用いて判定したDNA型データと実測値(枝肉重量、ロース芯面積、BMS No.、皮下脂肪厚、バラ厚)及び育種価を用いて連鎖解析を実施した。その結果、実測値、育種価ともに推定されたQTLは10カ所であった。実測値・育種価ともに実験ワイズ5%有意水準以下で推定されたQTL領域及び、産肉形質で重視されるBMS No.のQTL領域について、ハプロタイプ効果を検証した。枝肉重量に関連する5番染色体のQTL領域、ロース芯面積に関連する6番染色体のQTL領域、BMS No.に関連する18番染色体のQTL領域において、効果のあるハプロタイプをそれぞれQ5、Q6、Q18、もう一方のハプロタイプをq5、q6、q18として、産子をハプロタイプ別に分け、各集団の平均値を比較した。その結果、Q5集団-q5集団間、Q6集団-q6集団間、Q18集団-q18集団間で、有意差が認められた。

今後は、有意水準の高いQTLから、サンプル数及びDNAマーカー数を追加して2次解析を実施し、本結果を「花茂勝2」の後継牛選抜の指標として活用するとともに、他の岡山県種雄牛におけるQTLの調査に有効活用していきたいと考える。

キーワード：黒毛和種 産肉形質 DNAマーカー QTL

緒 言

黒毛和種における育種改良は、BLUP等の統計遺伝学的手法で算出した育種価(Breeding Value)を用いるのが一般的である。これに加えて種雄牛の優良遺伝子を特定し、その遺伝子情報を活用することにより選抜の正確度が向上し、また効率のよい育種改良を行うことが可能となる。

牛の枝肉重量や脂肪交雑といった産肉形質は、複数の遺伝子により支配されている量的形質であることから、遺伝子の特定は困難であった。

しかし、近年、DNAマーカーを用いたQTL解析により、産肉形質に関連する量的形質遺伝子座(QTL)が多数同定され¹⁾²⁾³⁾、その遺伝子情報を活用した選抜手法が取り込まれている⁴⁾。

この手法では、種雄牛及びその産子からなる半兄弟家系を用いて連鎖解析を実施し、QTLの推定を行うが、家系や系統ごとに推定されるQTL領域が異なる。

今回は、既報⁵⁾⁶⁾で解析を実施した「利花」と

は血統の異なる岡山県基幹種雄牛「花茂勝2」の家系を用いて連鎖解析を実施し、産肉形質に関連するQTLを推定した。

材料及び方法

1 サンプル

「花茂勝2」産子197頭(去勢)の腎周囲脂肪組織及び血液を採取し、DNAサンプルに用いた。

2 DNAの調製

既報⁵⁾により、DNAを抽出し、20ng/μlに希釈調整した。

3 DNA型の判定

はじめに「花茂勝2」のDNAサンプルを用いて、動物遺伝研究所供与のDNAマーカー703個について、PCR法によりDNAを増幅した。そのPCR産物をDNAシーケンサー(Applied Biosystems)を用いて電気泳動し、

解析ソフト (Applied Biosystems) を用いて DNA型を決定した。その結果から、本解析に用いる DNAマーカー 248 個を選抜し、これを用いて産子の DNA型を決定した。

なお、DNAマーカーは、対立遺伝子のうち片方の遺伝子が産子に伝わるため、DNA型がヘテロのマーカーを用いた。

4 連鎖解析

得られた DNA型データと実測値・育種価の連鎖解析を、解析プログラム (glissardo build 169、動物遺伝研究所) を用いて実施した。

実測値には、社団法人日本食肉格付協会による枝肉格付成績 (枝肉重量、ロース芯面積、BMS No.、皮下脂肪厚及びバラ厚) を用いた。

また、環境効果の補正に育種価を用いる報告があることから⁷⁾、平成 20 年 3 月に公表された第 27 回育種価⁸⁾で算出された育種価も併せて用いた。

結果

1 「花茂勝 2」産子の枝肉成績

「花茂勝 2」産子における各形質の成績は、表 1 のとおりであった。

表 1 「花茂勝 2」産子の枝肉成績

形質	枝肉成績
枝肉重量(kg)	464.1 ± 40.2
ロース芯面積(cm ²)	51.9 ± 6.9
バラ厚(cm)	7.9 ± 0.8
皮下脂肪厚(cm)	2.9 ± 0.7
BMS No.	5.6 ± 1.9

2 連鎖解析結果

実測値、育種価ともに推定された QTL は 10 カ所であった (表 2)。

実測値、育種価ともに実験ワイズにおいて 5 % 有意水準以下で推定された QTL 領域及び、産肉形質の中で重視される BMS No. の QTL 領域について、ハプロタイプ効果を検証した。

表 2 推定された「花茂勝 2」の QTL 一覧

形質	染色体	効果	染色体ワイズ	実験ワイズ	
枝肉重量	3	実測値	23.5972	**	@
		育種価	9.2293	*	
	5	実測値	26.5240	***	@@
		育種価	11.5918	***	@
	15	実測値	22.6672	***	@
		育種価	8.4046	*	
24	実測値	18.6957	*		
	育種価	8.8357	*		
ロース芯面積	2	実測値	3.24115	*	
		育種価	1.54056	*	
	6	実測値	4.38940	***	@@
		育種価	1.94361	***	@@
	12	実測値	4.18409	**	
		育種価	2.00768	**	
BMS No.	18	実測値	0.825317	*	
		育種価	0.142528	*	
皮下脂肪厚	23	実測値	0.377302	**	
		育種価	0.163010	*	
	26	実測値	0.252748	*	
		育種価	0.142853	*	
バラ厚	1	実測値	0.378013	*	
		育種価	0.119408	*	
	28	実測値	0.361142	*	
		育種価	0.122952	*	

(1) 枝肉重量 (5 番染色体)

実測値では 18 ~ 48、52、56 ~ 68、72 ~ 84cM の領域に、1 % 有意水準 (実験ワイズ) で推定され (図 1)、育種価では 20 ~ 40、62 ~ 66、72 ~ 90cM の領域に、5 % 有意水準 (実験ワイズ) で推定された (図 2)。

効果のあるハプロタイプを Q5、もう一方のハプロタイプを q5 とし、産子をハプロタイプ別に分けたところ、Q5 及び q5 集団の平均値は 485.0 ± 35.7kg 及び 449.9 ± 41.8kg で、t 検定の結果、p=5.905E-05 で有意差が認められた (表 3)。

また、枝肉重量別の分布は、Q5 集団の正規分布が、q5 集団の正規分布より右側に表れた (図 3)。



図 1 枝肉重量 (実測値) に関連する 5 番染色体の QTL

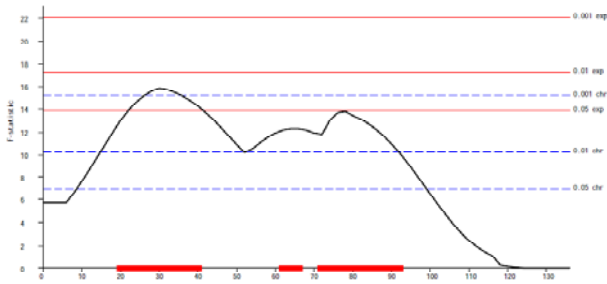


図2 枝肉重量(育種価)に関連する5番染色体のQTL

表3 ハプロタイプ別の枝肉重量

ハプロタイプ	頭数	平均値 ± 標準偏差
Q5	37	485.0 ± 35.7 ^a
q5	57	449.9 ± 41.8 ^b

ab: 異符号間で有意差あり(p=5.905E-05)

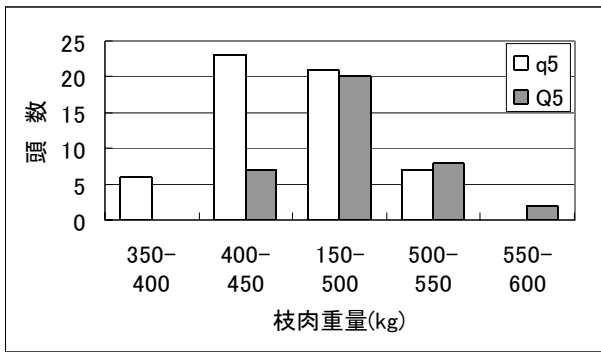


図3 ハプロタイプ別の枝肉重量分布図

(2) ロース芯面積 (6番染色体)

実測値では24～42cMの領域に、1%有意水準(実験ワイズ)で推定された(図4)。育種価では24～42cMの領域に、1%有意水準(実験ワイズ)で推定された(図5)。

効果のあるハプロタイプをQ6、もう一方のハプロタイプをq6とし、産子をハプロタイプ別に分けたところ、Q6及びq6集団の平均値は53.6 ± 7.2cm²及び49.7 ± 6.1cm²で、t検定の結果、p < 0.001で有意差が認められた(表4)。

また、枝肉重量別の分布は、Q6集団の正規分布が、q6集団の正規分布より右側に表れた(図6)。

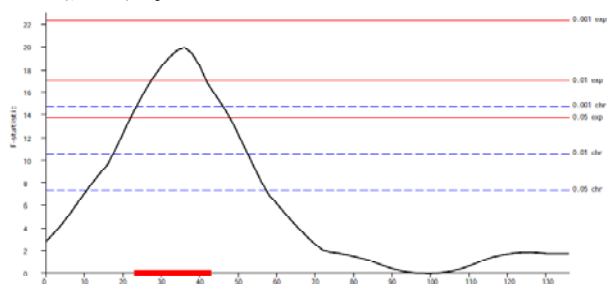


図4 ロース芯面積(実測値)に関連する6番染色体のQTL

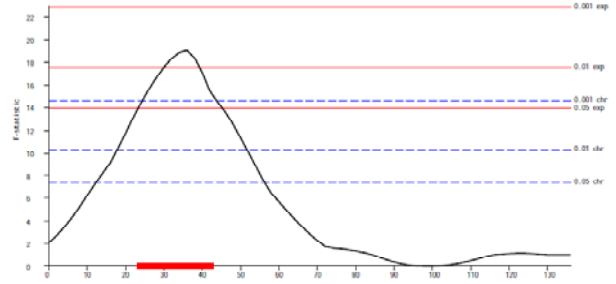


図5 ロース芯面積(育種価)に関連する6番染色体のQTL

表4 ハプロタイプ別のロース芯面積

ハプロタイプ	頭数	平均値 ± 標準偏差
Q6	69	53.6 ± 7.2 ^a
q6	83	49.7 ± 6.1 ^b

ab: 異符号間で有意差あり(p < 0.001)

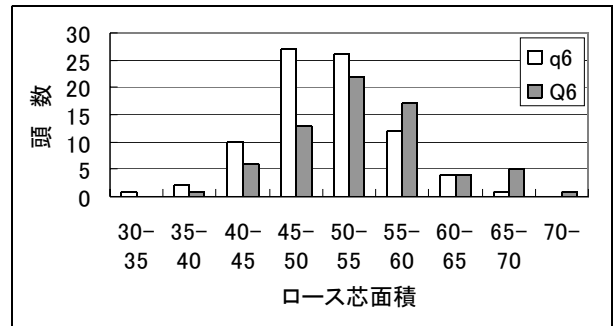


図6 ハプロタイプ別のロース芯面積分布図

(3) BMS No. (18番染色体)

実測値では0～14、20、46、56～76、82、86cMの領域に、5%有意水準(染色体ワイズ)で推定された(図7)。育種価では0～16、56～86cMの領域に、5%有意水準(染色体ワイズ)で推定された(図8)。

効果のあるハプロタイプをQ18、もう一方のハプロタイプをq18とし、産子をハプロタイプ別に分けたところ、Q18及びq18集団の平均値は6.14 ± 2.13及び5.34 ± 1.79cm²で、t検定の結果、p < 0.05で有意差が認められた(表5)。

また、枝肉重量別の分布は、Q18集団の正規分布が、q18集団の正規分布より右側に表れた(図9)。

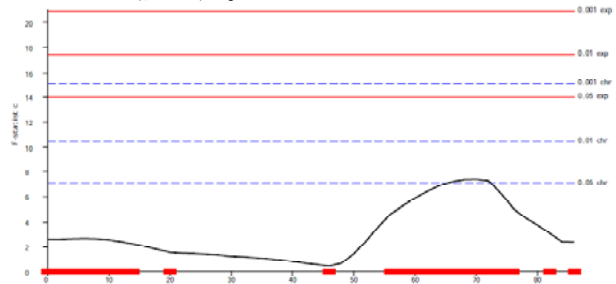


図7 BMS No.に関連する18番染色体のQTL

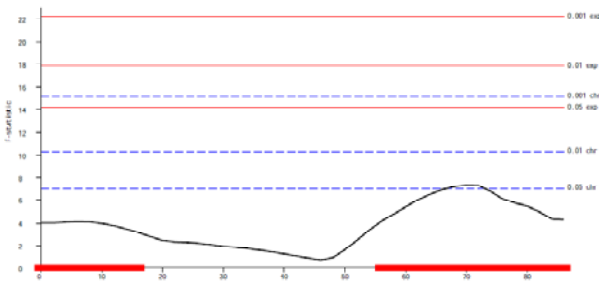


図8 BMS No.(育種価)に関連する 18 番染色体のQTL

表5 ハプロタイプ別の BMS No.

ハプロタイプ	頭数	平均値 ± 標準偏差
Q18	51	6.14 ± 2.13 ^a
q18	82	5.34 ± 1.79 ^b

ab: 異符号間で有意差あり(p<0.05)

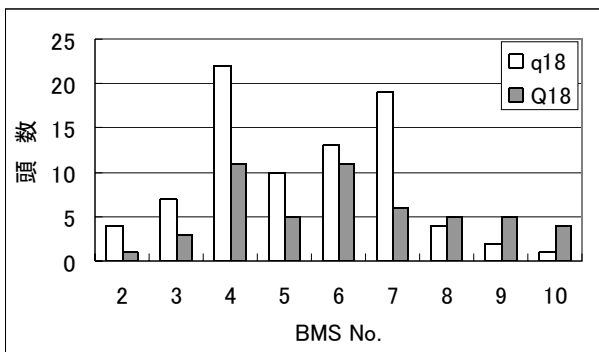


図9 ハプロタイプ別の BMS No.分布図

考察

ロース芯面積に関連する 6 番染色体の QTL は、他県での「気高系種雄牛」の家系解析⁹⁾でもほぼ同じ領域に QTL が推定されている。また、BMS No. に関連する 18 番染色体の QTL は、他県での「藤原系種雄牛」の家系解析¹⁰⁾でも、ほぼ同じ領域に QTL が推定されている。これらの QTL は、それぞれの共通祖先由来の QTL である可能性が考えられる。

これらの結果を選抜指標に取り入れ、優良遺伝子を持った牛を選抜することで、優良な種雄牛造成に貢献できると考えられる。しかし、QTL 領域が長い場合、染色体の組替えにより、保有の判定が不可能になる可能性が高く、確実に QTL の有無を判定するためには、染色体上に細かい間隔で DNA マーカーを配置して、QTL 領域をなるべく短く推定する必要がある。

今後は、有意水準の高い QTL から、サンプル数及び DNA マーカー数を追加して 2 次解析を実施し、本結果を「花茂勝 2」の後継牛選抜の指標として活用するとともに、他の岡山県種雄牛にお

ける QTL の調査に有効活用していきたいと考える。

引用文献

- 1) K. Mizoshita, et. al. (2004): Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle. J. Anim. Sci. 82, 3415-3420.
- 2) 小林ら (2007): DNA 情報を利用した飛騨牛の育種改良手法の確立に関する研究 (第 3 報). 岐阜県畜産研究所研究報告, 1-9
- 3) 阿部ら (2005): 黒毛和種基幹種雄牛における脂肪交雑に関する QTL 領域の検索. 島根県立畜産試験場研究報告第 38 号, 9-13
- 4) 平本圭二 (2005): DNA マーカーを用いた育種と岡山県の種畜改良のこれから. 養牛の友 2005 年 6 月号, 30-32.
- 5) 古川ら (2004): DNA マーカーを指標とした牛の育種手法の開発に関する研究 (第 1 報). 岡山県総合畜産センター研究報告第 15 号 34-38.
- 6) 黒岩ら (2008): DNA マーカーを指標とした牛の育種手法の開発に関する研究 (第 2 報). 岡山県総合畜産センター研究報告第 17 号 1-3.
- 7) 溝下ら (2001): 牛の発育及び肉質に関する遺伝子の探索 (第 3 報). 鹿児島県肉用改良研究所報告第 6 号, 23-25.
- 8) 岡山県総合畜産センター (2008): 第 27 回育種価評価概要.
- 9) 小江敏明 (2006): マイクロサテライトマーカーを用いた気高系種雄牛の QTL 解析. 養牛の友 2006 年 10 月号, 74-78.
- 10) 藤田ら (2007): 「豊後牛」経済形質のゲノム解析研究. 大分県農林水産研究センター畜産試験場試験成績報告書 35 号, 62-65.