

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2報）—

中藤由紀・馬場 誠*・高野 淳**・杉本喜憲**

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

Yuki NAKATOU, Makoto BABA, Atsushi TAKANO 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、前報⁷⁾の1次解析において染色体レベル0.1%有意水準でQTLが推定された5、15番染色体（枝肉重量）及び6番染色体（ロース芯面積）、並びに18番染色体（BMS No.）を対象としてさらに詳細に配置したDNAマーカーを用いて既報と同様にマーカー型の判定及び連鎖解析を実施した。

その結果、枝肉重量について5、6、15番染色体に、ロース芯面積について6番染色体にBMS No.について18番染色体にQTLが推定された。これら5カ所について、ハプロタイプ効果を検証したところ、枝肉重量において相加的なハプロタイプ効果が認められた。また、6番染色体に推定された枝肉重量及びロース芯面積に関連するQTLは、ほぼ同じ領域に推定されており、同一のQTLである可能性が推測された。

今回推定されたQTLは、表現型との相関が高く、ハプロタイプ効果も確認されたため、有効な選抜指標となることが期待される。

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法等の統計遺伝学的手法で算出した育種価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、その遺伝子情報を選抜に活用すれば、育種改良の正確度が向上し、効率化が期待できる。しかし、黒毛和種の育種改良で重視されている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る。

一方、近年、DNAマーカーを用いて産肉形質と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組まれている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DNAマーカーと産肉形質との連鎖解析を実施し、QTLの推定を行うが、推定されるQTLは家系や系統ごとに異なる。

前回、既報⁵⁾⁶⁾で解析を実施した「利花」とは血統の異なる「花茂勝2」の家系を用いて1次解析を実施した結果、5、15番染色体（枝肉重量）

及び6番染色体（ロース芯面積）に染色体レベル0.1%有意水準でQTLが推定された⁷⁾。また、産肉形質の中で重視されるBMS No.に関するQTLは、18番染色体に染色体レベル5%有意水準で推定された。今回は、この4本の染色体を対象として2次解析を実施し、より詳細なQTL領域を推定した。

材料及び方法

1 DNAサンプル

「花茂勝2」産子379頭（去勢）の腎周囲脂肪組織又は血液を用い、DNAサンプルを調整した。調整方法は既報⁵⁾により、抽出したDNAは20ng/ μ lに希釈して判定用DNAサンプルとして用いた。

2 DNA型の判定及び連鎖解析

5、15、6、18番染色体に、（社）畜産技術協会附属動物遺伝研究所供与のDNAマーカー各21、20、22、26個を配置し、既報と同様にDNA型を決定した。平均マーカー間隔は1次

解析より狭め、5、15、6、18 番染色体でそれぞれ、6.76cM、5.78cM、6.19cM、3.32cM であった。

連鎖解析は解析プログラム (glissardo build 179、(社)畜産技術協会附属動物遺伝研究所) を用いて実施した。

また、環境効果を補正する目的で、平成 21 年 4 月に公表された第 29 回育種価⁸⁾も併せて用いた。

結 果

1 連鎖解析の結果

枝肉重量について 5、6、15 番染色体に、ロース芯面積について 6 番染色体に、BMS No. について 18 番染色体に計 5 カ所の QTL が推定された (表 1)。

これら 5 カ所の QTL について、ハプロタイプ効果を検証した結果は次のとおりであった。

表 1 「花茂勝 2」の QTL 解析結果

形質	染色体	位置	F	IC	置換効果	寄与率	染色体ワイス	FDR ^{*1}
枝肉重量	5	74	22.2	0.89	21.00	0.054	***	0.000
枝肉重量	6	44	15.2	0.97	16.82	0.036	**	0.003
枝肉重量	15	42	26.9	0.88	23.15	0.065	***	0.000
ロース芯面積	6	44	18.1	0.97	3.02	0.044	***	0.002
BMS	18	74	18.5	0.92	0.90	0.045	***	0.006
枝肉重量(育種価)	5	74	20.8	0.89	9.764	0.051	***	0.000
枝肉重量(育種価)	6	44	12.1	0.97	7.221	0.029	**	0.006
枝肉重量(育種価)	15	44	18.6	0.86	9.429	0.045	***	0.000
ロース芯面積(育種価)	6	44	14.2	0.97	1.302	0.034	**	0.001
29育脂肪交雑	18	74	10.4	0.92	0.121	0.025	*	0.022

*1 False discovery rate (偽陽性混入率)

(1) 枝肉重量に関連する QTL

5 番染色体 QTL における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 478.7kg 及び 456.5kg で、Q5 に枝肉重量を 22.2kg 重くする効果がみられた (表 2)。

表 2 5 番染色体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	149	478.7 ± 40.9 ^a
q5	150	456.5 ± 41.4 ^b

ab : 異符号間に有意差 (p<0.001)

6 番染色体 QTL における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 475.3kg 及び 460.2kg で、Q6 に枝肉重量を 15.1kg 重くする効果がみられた (表 3)。

表 3 6 番染色体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
Q6	167	475.3 ± 41.7 ^a
q6	167	460.2 ± 40.4 ^b

ab : 異符号間に有意差 (p<0.001)

15 番染色体 QTL における効果のあるハプロタイプを Q15、もう一方のハプロタイプを q15 とし、産子をハプロタイプ別に分けたところ、Q15 及び q15 集団の平均値は 478.9kg 及び 457.3kg で、Q15 に枝肉重量を 21.6kg 重くする効果がみられた (表 4)。

表 4 15 番染色体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
Q15	137	478.9 ± 40.3 ^a
q15	160	457.3 ± 39.4 ^b

ab : 異符号間に有意差 (p<0.001)

また、保有するハプロタイプの組み合わせで産子を分け、各集団の枝肉重量平均値を比較した。各集団における枝肉重量平均値は表 5 のとおりであり、t 検定の結果、a-e、a-f、

a-h、b-e、b-f、b-h、c-f、c-h、d-f、d-h、f-g、g-h 間において有意差が認められた（表6）。

表5 各ハプロタイプの保有状況及び枝肉重量平均値

ハプロタイプ	頭数	平均値(kg)	± 標準偏差
a: Q5/Q6/Q15	28	485.7	± 44.3
b: Q5/Q6/q15	21	491.1	± 40.6
c: Q5/q6/Q15	25	471.5	± 31.8
d: q5/Q6/Q15	25	477.1	± 34.5
e: Q5/q6/q15	28	458.8	± 37.7
f: q5/Q6/q15	33	450.8	± 37.7
g: q5/q6/Q15	20	475.5	± 44.1
h: q5/q6/q15	25	441.9	± 35.0

表6 平均値に有意差が見られたタイプ及び危険率

危険率	平均値に有意差が見られたタイプ間
p < 0.001	a-h, b-f, b-h, d-h
p < 0.01	a-f, b-e, c-h, d-f, g-h
p < 0.05	a-e, c-f, f-g

(2) ロース芯面積に関連するQTL

6番染色体QTLにおける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53.2cm²及び50.2cm²で、Q6にロース芯面積を3.0cm²大きくする効果がみられた（表7）。

表7 6番染色体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	174	53.2	± 7.2 ^a
q6	174	50.2	± 6.2 ^b

ab: 異符号間に有意差 (p < 0.001)

(3) BMS No. に関連するQTL

18番染色体QTLにおける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6.1及び5.2で、Q18にBMS No. を0.9高くする効果がみられた（表8）。

表8 18番染色体ハプロタイプ別のBMS No.

ハプロタイプ	頭数	平均値	± 標準偏差
Q18	140	6.08	± 2.07 ^a
q18	177	5.20	± 1.84 ^b

ab: 異符号間に有意差 (p < 0.001)

2 直接検定牛におけるハプロタイプ保有調査

「花茂勝2」産子である直接検定牛3頭についてハプロタイプの保有調査を行い、結果を表9に示した。領域全体を挟むマーカー間の距離は、5番染色体で23.52cM、6番染色体で16.03cM、15番染色体で17.76cM、18番染色体で18.5cMであった。なお、組み換えのため判定不可能なものについては組み換えと示した。調査の結果、ハプロタイプの保有にばらつきが見られたことから、選抜におけるDNAマーカーの有効性が示唆された。

表9 直接検定牛におけるハプロタイプ保有調査結果

形質		枝肉重量	枝肉重量	枝肉重量及びロース芯面積	BMS No.
染色体		5	15	6	18
直検牛	A	Q5	組み換え	Q6	組み換え
	B	q5	q15	Q6	組み換え
	C	q5	Q15	q6	q18

考 察

今回6番染色体に推定された枝肉重量及びロース芯面積に関連するQTLは、ほぼ同じ領域に推定されている。枝肉重量とロース芯面積にはゆるやかな相関があることが報告されていることから⁹⁾、これらは同一のQTLである可能性が推測された。

また、他の家系解析¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾においてもほぼ同じ領域に枝肉重量に関するQTLが推定されていたことから、本QTLは、家系間を超えて共通するQTLである可能性が推測された。

これまで、複数のQTLが相加的な効果をもつことが報告されている²⁾³⁾。今回の結果においても、枝肉重量に関連するQTLにおいて、相加的なハプロタイプ効果が認められた。このことから、複数のQTLの組み合わせを指標にすることにより、より効果的に優良な後継牛を選抜することが可能であると考えられた。

実測値及び育種価の連鎖解析の結果を比べると、枝肉重量についてはQTL領域及び有意水準がほぼ同様であったが、ロース芯面積及びBMS No. についてはQTL領域はほぼ同様であったものの、有意水準は育種価で実測値よりやや減少した。このことから、ロース芯面積及びBMS No. の補正方法について再度検討する必要性が示唆された。

また、ハプロタイプ保有調査においては、QTL領域が20cM前後であればQTLの有無が判定

可能であることが示された。一方、あるマーカーにおいて、産子が示すマーカー型が父牛のそれと全く同じである場合、どちらの型を受け継いだのかが判定不可能である。このことが、本結果の組み換えとした領域にも見られた。このため、解析に用いるマーカーは、マーカー型数になるべく多いものを選定すべきであると考えられた。

今回推定された QTL は、表現型との相関が高く、ハプロタイプ効果も確認されたため、有効な選抜指標となることが期待される。

今後は、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) 中藤ら (2009): 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)-. 岡山県総合畜産センター研究報告第 18 号, 1-4.
- 8) 岡山県総合畜産センター (2009): 第 29 回育種価評価概要.
- 9) A. Takasuga, et. al. (2007): Identification of bovine QTL for growth and carcass traits in Japanese Black cattle by replication and identical-by-descent mapping. Mamm Genome. 18(2), 125-136.
- 10) 瀬戸口ら (2005): 牛の発育及び肉質に関する遺伝子の探索 (第 7 報). 鹿児島県肉用牛改良研究所報告第 10 号, 17-19.
- 11) 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.
- 12) 古田ら (2008): DNA マーカーを指標とした褐毛和種肉用牛の形質選抜技術の開発. 熊本県農業研究センター畜産研究所平成 19 年度試験成績書, 73-75.