

豊後牛 DNA 育種技術の開発

2. 「豊後牛」経済形質のゲノム解析研究

Genomic research of QTL for carcass traits in Japanese Black cattle (Bungo-gyu) population

「糸福」半きょうだい家系を用いた産肉性に関する QTL 解析

藤田達男 渡邊直人 佐藤文明 伊藤雅之 伊東克久
社団法人 畜産技術協会附属動物遺伝研究所

要 旨

大分県産黒毛和種の育種改良に応用可能な効率的で精度の高い DNA 育種手法の実用化に向けて、肉用牛経済形質に関与する有用な遺伝子、遺伝子座 (QTL) の検出を目的とする。「糸福」の半きょうだい家系(去勢肥育牛 229 頭)について、250 マーカーの遺伝子型データと産肉 6 形質 (枝肉重量 (CW)、日増体量 (DG)、ロース芯面積、バラ厚、皮下脂肪厚、BMS ナンバー (BMS)) 各々の枝肉データまたは育種価の 2 通りの表現型値を用いて解析。CW と DG に陽性効果のあった第 8 番染色体の QTL は共通領域 (80-120cM) にあり、これらのアリル置換効果は枝肉データで CW:30.6Kg、DG:89g、育種価で CW:12.4Kg、DG:31g。BMS に陽性効果のあった第 18 番染色体 (70-86cM)、および第 21 番染色体 (40-60cM) の両 QTL のアリル置換効果は、それぞれ枝肉データで 1.07、1.00、育種価で 0.7、0.49。第 18 番染色体と第 21 番染色体の両 QTL を組み合わせたアリル置換効果は、枝肉データで 2.1、育種価で 1.14 と相加的であった。

(キーワード：肉用牛、QTL 解析、DNA 育種)

背景及び目的

家畜の育種改良は、従来から優良な遺伝子の蓄積と不良な遺伝子の排除という手法によって進められてきた。和牛においては、直接検定、間接検定による選抜によって、改良は著しく進展し、さらに近年では育種価による評価法が加わり、和牛の能力は飛躍的に向上したといわれている。しかし、これらの手法では、種雄牛の選抜毎に数年の期間と多額の経費を要するため、より効率的で精度の高い新たな育種手法の開発が求められている。近年、遺伝性疾患の原因遺伝子解明などで成果をあげている DNA 研究手法を、肉用牛の経済形質関連遺伝子座 (QTL) の解明に応用し、これらの情報を用いた新たな育種手法 (DNA 育種) の開発が、(社)畜産技術協会附属動物遺伝研究所を中心とする研究グループで進められている。本県もこの研究グループに参加し、「豊後牛」経済形質のゲノム解析研究をテーマとして、肉用牛の経済形質に関する遺伝子の解明に取り組んでいる。

試験方法

1. 供試牛

本県を代表する種雄牛であり、また本県の育種集団内に多くの後代を残している「糸福」を対象とした。「糸福」の半きょうだい家系は、大分県内の同一枝肉市場において、1998 年 6 月～2005 年 8 月の間に採取された黒毛和種去勢肥育牛の脂肪組織、約 6,500 サンプルの中から、血統情報、枝肉成績、育種価の判明した 229 頭とした。

2. 解析方法

「糸福」の半きょうだい家系 (去勢肥育牛 229 頭) の枝肉脂肪組織から抽出した DNA を用いて、常染色体上に配置した 250 個のヘテロマーカーで増幅した PCR 産物を ABI377 または ABI3700 シーケンサー (Applied Biosystems) で電気泳動し、遺伝子型を調べた。この遺伝子型を産肉 6 形質 (日本枝肉格付協会の規格による枝肉重量、ロース芯面積、バラの厚さ、皮下脂肪の厚さ、BMS ナンバーおよび日増体量) の生データ、および育種価の 2 通りの表現型

値を用いて、解析ソフト Glissado で解析した。育種価は MTDFREML¹⁾ により、母数効果として市場、出荷年度、性、肥育農家または地域の効果を、共変量として肥育期間、肥育終了時日齢への 2 次までの回帰の効果を考慮し、血統は二世代まで遡及した 68,062 頭の枝肉データをもとに評価した。

結果および考察

Glissadoによる解析結果の全体像

「糸福」後代家系から検出されたゲノムワイズ 5% 水準で有意な QTL を表 1 に示した。表中の「染色体」は QTL が検出されたウシ染色体番号、「位置 (cM)」は各染色体上の遺伝的距離、「F」は QTL の ロッドスコア F 値、「P (point-wise)」は染色体上のその位置での信頼度 P 値、「FDR」はその QTL が偽物でない確率を示す。ゲノムワイズ 5% 水準で有意な QTL は、枝肉生データを用いた解析で 23 個、育種価を用いた解析で 21 個検出された。この内、

ロッドスコア F 値が 10.5 以上の QTL は、8 個検出され (網掛けしたもの)、これらは枝肉生データと育種価の両方の解析結果に共通していた。これらの中で、第 8 番染色体上の枝肉重量に連鎖する QTL と DG に連鎖する QTL は、同一の位置にあり (後述)、これは枝肉重量と DG が関連性の強い形質であることに起因していると考えられる。第 27 番染色体に検出された枝肉重量と DG に連鎖する QTL も同様と考えられる。第 26 番染色体に検出されたロース芯面積に連鎖する QTL は負の効果であった。バラの厚さに連鎖した第 18 番染色体の QTL は、BMS ナンバーに関連する第 18 番染色体の QTL とほぼ同位置であった。前回報告した 1 次スクリーニングで第 14 番染色体上に検出された BMS ナンバーに関する QTL は、今回の解析で消滅したが、新たに皮下脂肪の厚さに連鎖していることが判明した。ただし、これは枝肉の評価としては負の効果となる。

第 18 番染色体および第 21 番染色体に検出された BMS ナンバーに関連する QTL は前回の検出結果と

表 1 「糸福」後代家系から検出された Genome-wide 5% 水準で有意な QTL

形質	生データ					育種価				
	染色体	位置 (cM)	F	P(point-wise)	FDR	染色体	位置 (cM)	F	P(point-wise)	FDR
枝肉重量	4	12.5	8.64	0.0037	0.22	4	12.5	9.18	0.0022	0.13
	7	135.6	9.68	0.0018	0.16	—	—	—	—	—
	8	82.9	15.86	0.0002	0.05	8	82.9	14.55	0.0002	0.03
	—	—	—	—	—	18	84.4	8.85	0.0037	0.18
	25	47.0	5.53	0.0178	0.31	25	47.0	5.43	0.0221	0.39
DG	27	9.4	6.82	0.0104	0.32	27	9.4	9.62	0.0023	0.13
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	7	135.6	8.26	0.0035	0.22	—	—	—	—	—
	8	82.9	18.29	0.0000	0.00	8	111.5	15.42	0.0001	0.02
ロース芯面積	18	33.4	7.38	0.0068	0.28	18	84.4	7.74	0.0063	0.23
	27	9.4	10.68	0.0011	0.15	27	9.4	11.03	0.0009	0.08
	—	—	—	—	—	2	103.9	7.54	0.0068	0.24
バラの厚さ	11	110.0	7.31	0.0055	0.25	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	17	40.5	7.03	0.0089	0.26
	21	45.2	9.72	0.0024	0.20	21	45.2	9.84	0.0019	0.13
	26	5.1	11.77	0.0004	0.08	26	5.1	12.00	0.0008	0.08
皮下脂肪の厚さ	—	—	—	—	—	1	139.3	8.76	0.0035	0.18
	2	45.3	8.46	0.0031	0.21	2	45.3	8.29	0.0036	0.18
	14	33.3	7.36	0.0066	0.28	14	33.3	9.28	0.0021	0.14
	—	—	—	—	—	17	40.5	7.33	0.0061	0.24
	18	84.4	11.48	0.0011	0.16	18	84.4	15.60	0.0001	0.02
BMS.No	20	50.9	8.17	0.0047	0.25	—	—	—	—	—
	25	47.0	5.91	0.0165	0.32	—	—	—	—	—
	14	63.9	11.55	0.0008	0.13	14	63.9	14.38	0.0000	0.00
	1	0.0	8.60	0.0044	0.24	—	—	—	—	—
	18	76.8	10.87	0.0012	0.14	18	84.4	22.58	0.0000	0.00
BMS.No	20	77.1	10.43	0.0030	0.21	—	—	—	—	—
	21	56.2	12.21	0.0006	0.11	21	56.2	11.00	0.0009	0.07
	23	65.1	6.56	0.0114	0.30	23	65.1	9.50	0.0022	0.14

一致していた。

今回検出された QTL の中で、特に、第 8 番染色体上に検出された枝肉重量と DG に関連する QTL、第 18 番染色体と第 21 番染色体に検出された BMS ナンバーに関連する QTL に注目し、枝肉生データと育種価による解析結果、それぞれの QTL の効果について調べた。

1) 第8番染色体上に検出された枝肉重量に連鎖するQTLおよびその効果

枝肉重量と連鎖する第 8 番染色体上の QTL の位置とロッドスコア (F 値) を図 1 に示した。図 2 は枝肉重量育種価に連鎖する第 8 番染色体上の QTL とロッドスコアである。それぞれの QTL の位置とロッドスコアは、よく類似しており同一の QTL と考えられた。そこで、第 8 番染色体上の 80-120cM (センチモルガン) の領域にある枝肉重量に陽性効果のある QTL を CW8 と命名した。

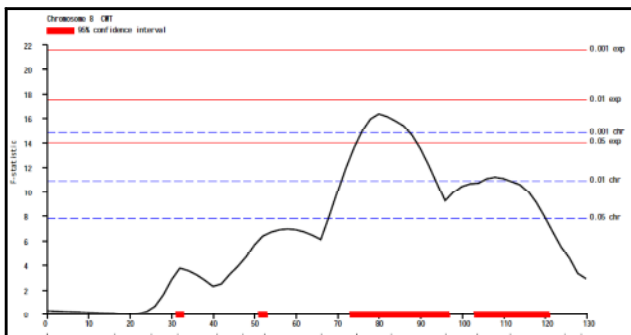


図 1 枝肉重量に連鎖する第 8 番染色体の QTL

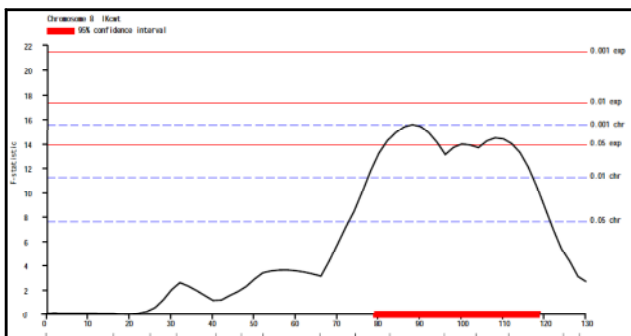


図 2 枝肉重量育種価に連鎖する第 8 番染色体の QTL

QTL の対立遺伝子型 (アリル) はメンデルの法則に従い、どちらか一方のアリルが後代に引き継がれる。枝肉重量へのプラスの効果の大きいアリルを Q、小さいアリルを q とし、それぞれのアリルを引き継いだ後代の枝肉重量の分布を図 3 に、枝肉重量育種価の分布を図 4 に示した。なお、CW8 の対立遺伝子内で組み換えがあった個体は、Q、q のいずれにも含めていない。

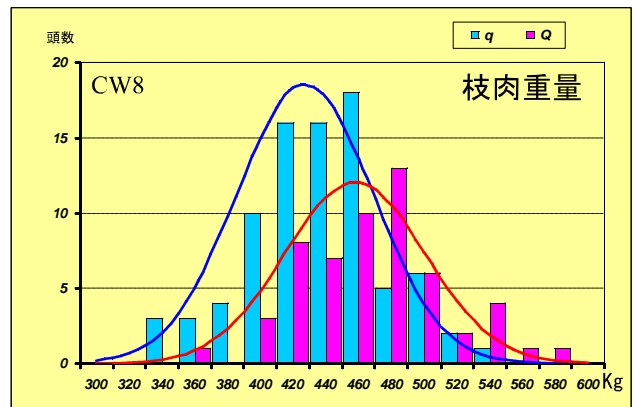


図 3 CW8 において Q または q を引き継いだ後代の枝肉重量 (Kg) の分布

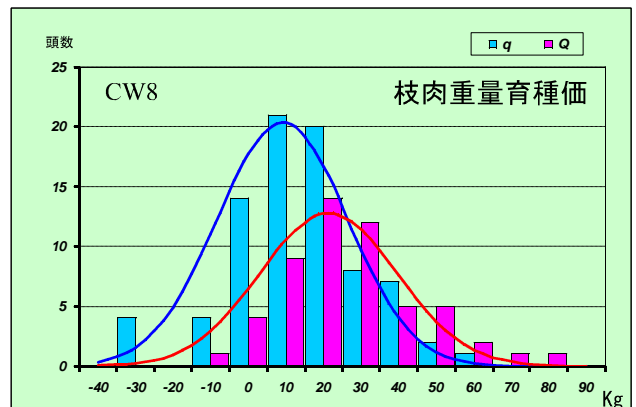


図 4 CW8 において Q または q を引き継いだ後代の枝肉重量育種価 (Kg) の分布

表 2 では、CW8 において Q または q を引き継いだ後代群の枝肉重量および枝肉重量育種価を比較した。CW8 において Q を引き継いだ後代群の枝肉重量 (生データ) の平均値は、q を引き継いだ後代群のそれより 30.6Kg 高く、この差は有意であった。Q 群と q 群の差は、アリル q をアリル Q に置き換えたときの効果であり、これをアリル置換効果と呼び、

QTL の効果の指標とされる。CW8 のアレル置換効果は、枝肉重量で 30.6Kg、同育種価で 12.35Kg であり、これらの効果は有意であった。

表 2 CW8 において Q または q を引き継いだ後代群の枝肉重量および枝肉重量育種価の比較

データ		Q	q	Q-q	全体
生データ	個体数	56	84	—	229
	平均値 *1)	457.7 A	427.1 B	30.6	440.3
育種価	個体数	54	81	—	221
	平均値 *2)	21.38 a	9.03 b	12.35	14.71

1) A,B間に有意差あり (P=0.000041)

2) a,b間に有意差あり (P=0.00011)

2) 第8番染色体上に検出されたDGに連鎖するQTLおよびその効果

DG および DG 育種価と連鎖する第 8 番染色体上の QTL の位置とロッドスコアを図 4、図 5 に示した。それぞれの QTL の位置とロッドスコアは、よく類似しており同一の QTL と考えられた。これは

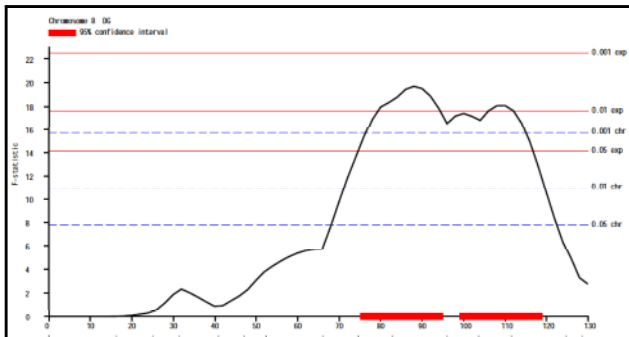


図 4 DG に連鎖する第 8 番染色体の QTL

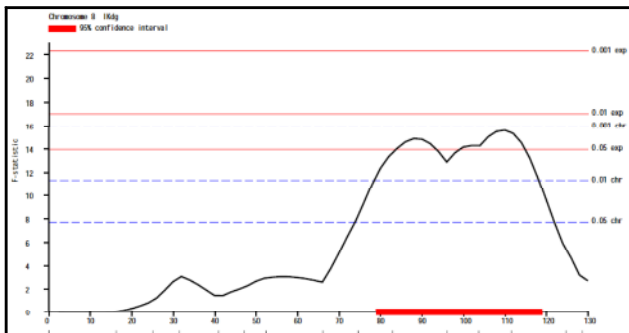


図 5 DG 育種価に連鎖する第 8 番染色体の QTL

先に述べたとおり、枝肉重量と連鎖する CW8 と同一領域であり、DG が枝肉重量と関連性の強い形質であるためと考えられる。ここで、第 8 番染色体の 80-120cM の領域を DG に陽性効果のある QTL として DG8 と命名した。

DG8 の対立遺伝子において、効果の大きいアレルを Q、小さいアレルを q として、それぞれのアレルを引き継いだ後代の DG の分布を図 6 に、DG 育種価の分布を図 7 に示した。

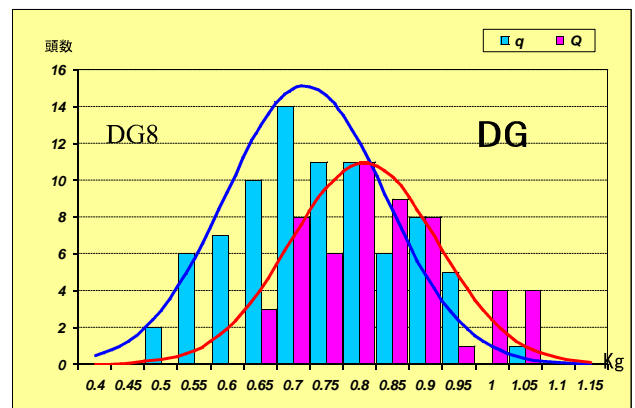


図 6 DG8 において Q または q を引き継いだ後代の DG (Kg) の分布

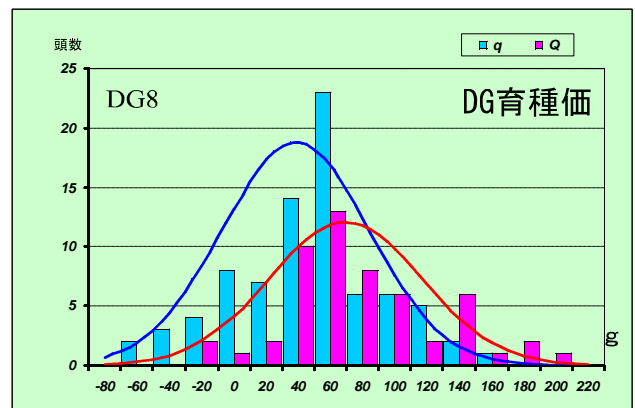


図 7 DG8 において Q または q を引き継いだ後代の DG 育種価 (g) の分布

表 3 に DG8 のアレル置換効果を示した。生データで 0.089Kg、育種価で 12.08g であり、これらの効果はいずれも有意であった。

表 3 DG8 において Q または q を引き継いだ後代群の DG および DG 育種価の比較

データ		Q	q	Q-q	全体
生データ (Kg)	個体数	54	81	—	229
	平均値 *1)	0.807 A	0.718 B	0.089	440.3
育種価 (g)	個体数	54	81	—	221
	平均値 *2)	21.17 a	9.11 b	12.08	14.71

1) A,B間に有意差あり (P=2.5691E-055)

2) a,b間に有意差あり (P=4.269E-055)

3) 第18番染色体上に検出されたBMSナンバーに連鎖するQTLおよびその効果

BMS ナンバーおよび BMS ナンバー育種価と連鎖する第 18 番染色体上の QTL の位置とロッドスコアを図 8、図 9 に示した。それぞれの QTL の位置はほぼ一致しているものの、ロッドスコアは育種価で著しく高かった。このことは、BMS ナンバーでは、生データをそのまま表現型値として解析に用いるよりも、環境要因を排除した育種価を表現型値として用いたほうが、効果が鮮明に現れることを示唆していると考えられた。

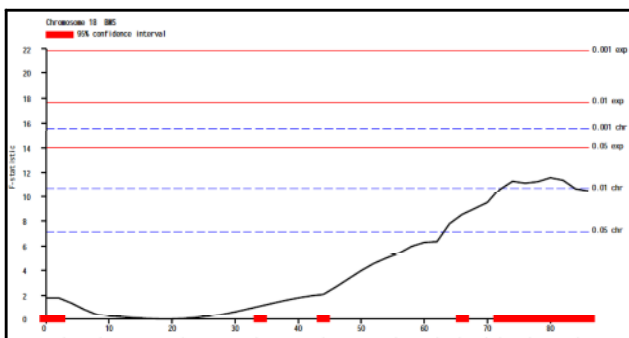


図 8 BMS ナンバーに連鎖する第 18 番染色体の QTL

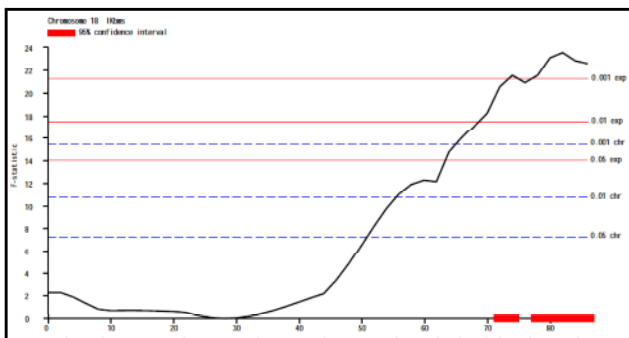


図 9 BMS ナンバー育種価に連鎖する第 18 番染色体の QTL

今回解析に供した 229 頭の「糸福」半きょうだい家系は、構築されるまでに約 6 年間に要した。坂下ら²⁾は、鹿児島県産黒毛和種肥育牛の BMS ナンバーと胸最長筋内粗脂肪含量の推移を平成 9 年度から 16 年度までの 8 年間にわたり調査し、「実際の脂肪交雑は高まったが、枝肉格付での BMS ナンバーは向上していない」ことを指摘している。この報告で示されているように、年度によって BMS ナンバーの評価が変動しているのであれば、BMS ナンバーをそのまま表現型値として用いることは、解析の精度を低下させることになる。

今回の解析で BMS ナンバー育種価を表現型値として用いたことにより、年度等の環境要因が排除され、より精度の高い解析ができたと推察された。

図 8、図 9 の QTL の位置から、第 18 番染色体上の 70-86cM の領域にある BMS ナンバーに陽性効果のある QTL を BMS18 と命名した。

BMS18 の対立遺伝子において、BMS ナンバーへの効果が大きいアリルを Q、小さいアリルを q とし、それぞれのアリルを引き継いだ後代の BMS ナンバーの分布を図 10 に、同じく BMS ナンバー育種価の分布を図 11 に示した。

BMS18 のアリル置換効果は、BMS ナンバー生データで 1.07、育種価で 0.7、これらの効果はいずれも有意であった (表 4)。

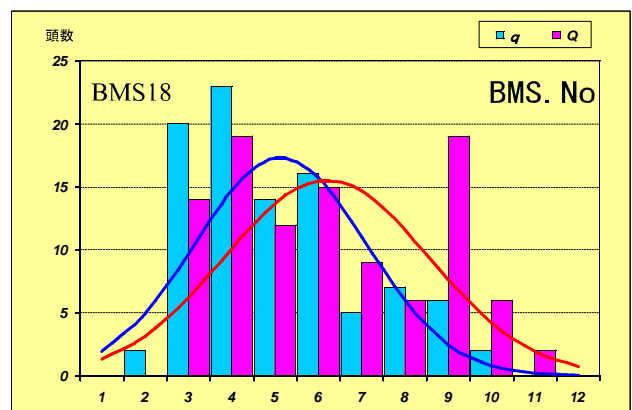


図 10 BMS18 において Q または q を引き継いだ後代の BMS ナンバーの分布

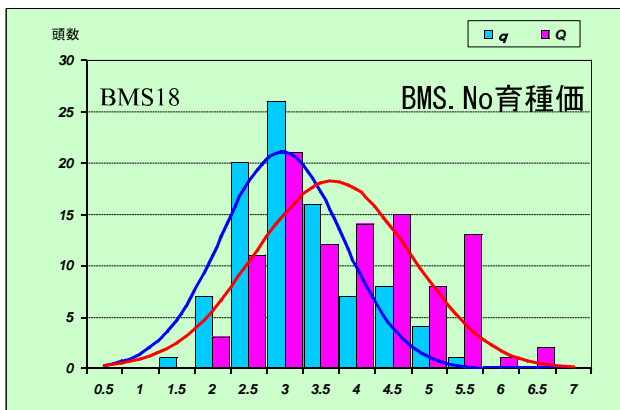


図11 BMS18においてQまたはqを引き継いだ後代のBMSナンバー育種価の分布

表4 BMS18においてQまたはqを引き継いだ後代群のBMSナンバーおよびBMSナンバー育種価の比較

データ		Q	q	Q-q	全体
生データ	個体数	102	95	—	229
(BMS.No)	平均値 *1)	6.20 A	5.13 B	1.07	5.62
育種価	個体数	100	90	—	221
(BMS.No)	平均値 *2)	3.66 a	2.96 b	0.70	3.32

1) A,B間に有意差あり (P=0.000697)

2) a,b間に有意差あり (P=1.463E-065)

4) 第21番染色体上に検出されたBMSナンバーに連鎖するQTLおよびその効果

BMSナンバーおよびBMSナンバー育種価と連鎖する第21番染色体上のQTLの位置とロッドスコアを図12、図13に示した。それぞれのQTLの位置とロッドスコアはよく類似していた。

第21番染色体上の40-60cMの領域にあるBMSナンバーに陽性効果のあるQTLをBMS21と命名した。

BMS21の対立遺伝子において、効果の大きいアリルをQ、小さい方をqとして、それぞれのアリルを引き継いだ後代のBMSナンバーの分布を図14に、BMSナンバー育種価の分布を図15示した。

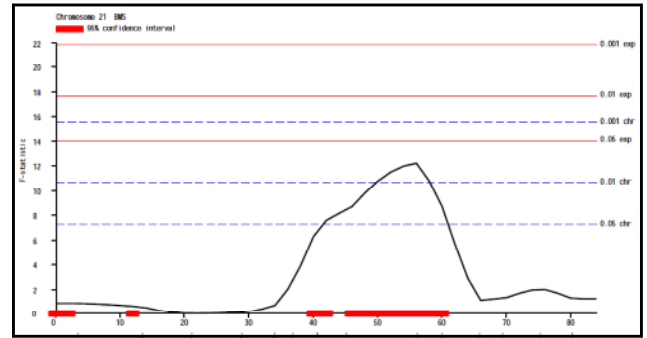


図12 BMSナンバーに連鎖する第21番染色体のQTL

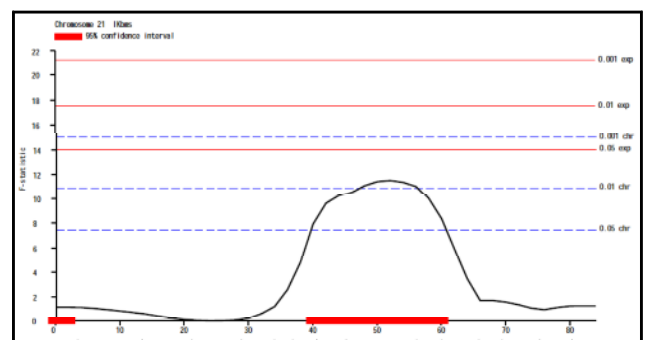


図13 BMSナンバー育種価に連鎖する第21番染色体のQTL

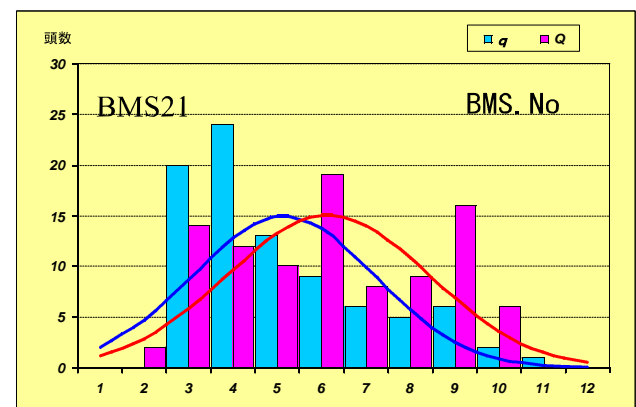


図14 BMS21においてQまたはqを引き継いだ後代のBMSナンバーの分布

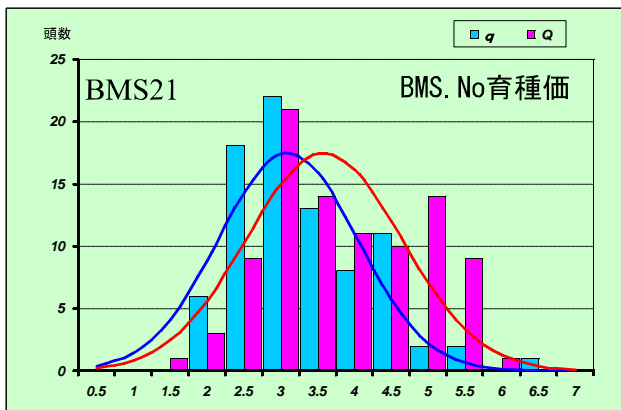


図15 BMS21においてQまたはqを引き継いだ後代のBMSナンバー育種価の分布

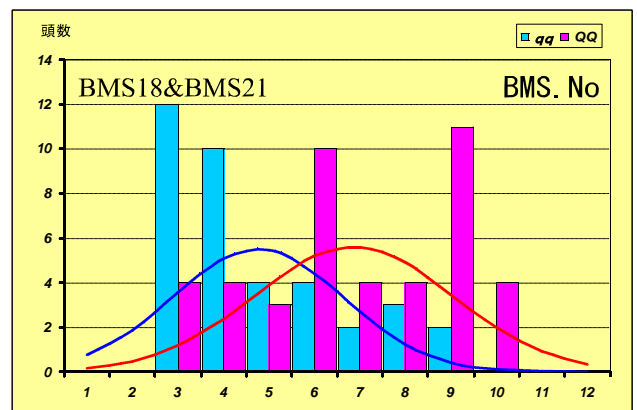


図16 BMS18、BMS21においてQQまたはqqを引き継いだ後代のBMSナンバーの分布

表5 BMS21においてQまたはqを引き継いだ後代群のBMSナンバーおよびBMSナンバー育種価の比較

データ		Q	q	Q-q	全体
生データ	個体数	96	86	—	229
(BMS.No)	平均値 *1)	6.14 A	5.14 B	1.00	5.62
育種価	個体数	93	83	—	221
(BMS.No)	平均値 *2)	3.58 a	3.09 b	0.49	3.33

1) A,B間に有意差あり (P=0.000697)

2) a,b間に有意差あり (P=0.00139)

BMS21のアリル置換効果を表5に示した。BMS21のアリル置換効果は、BMSナンバー生データで1.0、育種価で0.49、これらの効果はいずれも有意であった。

5) BMS18とBMA21の相加効果

これまで各QTLについて個別に効果をみてきたが、BMSナンバーに陽性効果のある2つのQTLについて、両者に相加効果があるかどうかを調べた。

BMS18、BMS21のいずれもQを引き継いだ後代(QQ)といずれもqを引き継いだ後代(qq)のBMSナンバーの分布を図16に、BMSナンバー育種価の分布を図17に示した。

BMS18、BMS21において、いずれもQを引き継いだ後代(QQ)は、いずれもqを引き継いだ後代(qq)に比べて、BMSナンバーで2.1、BMSナンバー育種価で1.14有意に高いことを表6は示して

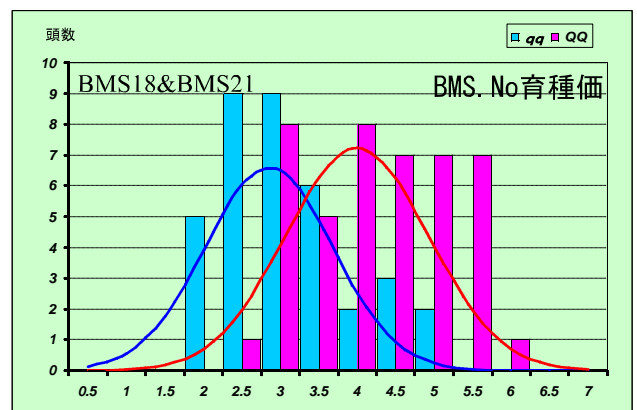


図17 BMS18、BMS21においてQQまたはqqを引き継いだ後代のBMSナンバー育種価の分布

表6 BMS18、BMS21においてQQまたはqqを引き継いだ後代群のBMSナンバーおよびBMSナンバー育種価の比較

データ		QQ	qq	QQ-qq	全体
生データ	個体数	44	37	—	229
(BMS.No)	平均値 *1)	6.86 A	4.76 B	2.10	5.62
育種価	個体数	44	36	—	221
(BMS.No)	平均値 *2)	3.99 a	2.85 b	1.14	3.32

1) A,B間に有意差あり (P=1.5401E-055)

2) a,b間に有意差あり (P=1.5635E-075)

いる。BMS18およびBMS21のアリル置換効果を示した表4、表5と比較して、これら両QTLには相加効果があると推察された。

ここで、今回検出されたBMS18、BMS21から成るQQが実際にはどのような効果があるかの検証を試

表 7 BMS18、BMS21 において QQ または qq を引き継いだ後代群の BMS ナンバーおよび BMS ナンバー育種価の比較

データ		QQ	qq	全体
生データ (BMS.No)	個体数(n)	44	37	229
	平均以上頭数(x)	33	11	104
	(x/n) X100 *1)	75.0 A	29.7	45.4 B
育種価 (BMS.No)	個体数(n)	44	36	221
	平均以上頭数(x)	30	9	95
	(x/n) X100 *2)	68.2 a	25.0	43.0 b

1) A,B間に有意差あり(P=0.000324)

2) a,b間に有意差あり(P=0.00223)

みた。BMS ナンバーの全体の平均値 5.62 (表 6) を超える頭数、即ち BMS ナンバー 6 以上の頭数は、表 7 に示したとおり 229 頭中 104 頭 (45.4 %) であった。一方、QQ を受け継いだ後代群 44 頭では、BMS ナンバー 6 以上の頭数は 33 頭 (75.0 %) であり、この出現率は全体の中での出現率と比べ有意に高かった。このことは、QQ の遺伝子型を保有しているかどうかを調べておくことにより、有意に高い確率で BMS ナンバーの高い牛の選抜が可能であることを意味する。これは、図16、図17の QQ の分布をみても明らかである。このように効果の大きい遺伝子情報を多く収集し、これらの情報を基に候補種雄牛等を選抜し、育種に応用することが、本研究が目指している DNA 育種である。

Takasuga ら³⁾ は、(社)畜産技術協会附属動物遺伝研究所を中心として進めている共同研究グループの成果として、脂肪交雑に関する QTL を 12 個、枝肉重量に関する QTL を 12 個、その他の形質に関する QTL を合わせて 40 個検出したことを報告しており、本県種雄牛「大船 7」「糸梅」の

後代家系から得られた QTL もこの報告に含まれている。Takasuga ら³⁾ の報告では、今回我々が「糸福」後代家系から検出した BMS21 とほぼ一致する位置に、本県種雄牛以外の家系から BMS ナンバーに連鎖する QTL を検出している。一方、Mizosita ら⁴⁾ は、黒毛和種半きょうだい家系を用いた QTL 解析から枝肉重量に関する QTL を第 14 番染色体に検出し、さらにその領域を 1.1-Mb まで狭め、効果を検証している。今回、第 8 番染色体に検出された枝肉重量および DG と連鎖する QTL、また第 18 番染色体に検出された BMS ナンバーと連鎖する QTL はこれまでに報告がない。

今回著者らが検出した QTL は「糸福」の後継種雄牛の選抜に応用可能で、大きな効果が期待できる。さらに QTL の精度を高めることにより「糸福」の後継種雄牛である「糸藤」「寿恵福」の後継種雄牛選抜にも応用可能と考える。今後、「糸藤」「寿恵福」の後代家系解析を進めることにより、本県の肉用牛の主要な系統である「糸」系を中心とした遺伝子情報が明らかになってくる。これらの遺伝子情報を活用した DNA 育種の実用化に向け、今回の報告はその礎を築いたといえる。

参考文献

- 1) Boldman K.G. et.al. USDA,ARS. 1995.
- 2) 坂下邦仁. 畜産技術, 2006 年 3 月号. 2-6.
- 3) Takasuga A, Fujita T, et.al. Mamm Genome. 2007. 18, 125-136.
- 4) Mizosita K. et.al. Mamm Genome. 2005.16,532-537.