

# 黒毛和種種雄牛におけるマイクロサテライトマーカーを用いた優良遺伝子座領域の探索 ～ 気高系種雄牛BにおけるBMS領域の推定 ～

小江 敏明・溝口 康<sup>1)</sup>・杉本 喜憲<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 畜産技術協会附属動物遺伝研究所

## 要約

黒毛和種種雄牛「気高系種雄牛 B」とその息牛の父方半兄弟家系を構築し、マイクロサテライトマーカーによる遺伝子型と経済形質データ( 枝肉重量・ロース芯面積・脂肪交雑( BMS ) 皮下脂肪、バラ厚)を用い、QTL( quantitative trait loci : 量的形質遺伝子座)解析を行い、各形質における優良遺伝子領域を推定した。その結果、BMS において優良遺伝子領域を推定し、そのアレル効果( 遺伝子型による効果)は 1.1 であった。

## 緒言

牛の増体や肉質等の経済形質は量的形質と呼ばれ、無数の小さな効果を持つ遺伝子の発現により成り立っている。今まで、量的形質を支配する遺伝子は個々の遺伝子の効果についてとらえるのではなく、ポリジーンの働きをひとまとめにした統計育種学( 選抜指数やBLUP法)として考えられてきた<sup>1)</sup>。しかし、その統計育種学理論では、全兄弟牛の期待育種価は同じ値になる。実際は全兄弟においても親からの遺伝子の伝わり方というのは違わずである。よって、さらに正確な選抜を行う場合は、統計育種だけではなく、遺伝領域そのものに着目する必要がある。

また、近年の研究では、既に黒毛和種においていくつかの QTL 領域が推定されており<sup>2)3)4)5)6)</sup>、実際に選抜の指標として活用しているとの報告もある。<sup>2)7)</sup>

そこで我々も、これまでの統計育種学と QTL 領域の情報とを併用して、さらにその選抜精度を高めるため、新たな QTL 領域の推定が急務である。

よって、本報では、気高系種雄牛 B の父方半兄弟家系を構築し、経済形質に関与すると思われる優良遺伝子座領域の推定を行ったので報告する。

## 材料と方法

### 1 材料

気高系種雄牛 B の精液および同種雄牛の去勢産子 372 頭の腹腔内脂肪からフェノール・クロロホルム抽出より DNA を抽出した。濃度は全て 20ng/μl に調整した。産子 372 頭のサンプルは東京都芝浦に出荷された共励会サンプル( 動物遺伝研究所所有)とし、産子の形質データは社団法人日本食肉格付協会提供のものを使用した。

### 2 解析に用いるヘテロマーカーの選定

気高系種雄牛Bがどちらの遺伝子型を産子に伝えたのかを判定するため、マイクロサテライトマーカーを選定する必要がある。まず、964個のマイクロサテライトマーカーにおいて種雄牛Bの対立遺伝子型を決定し、231個の対立遺伝子型がヘテロであるマーカーを選定した。遺伝子型の解析は既報により、PCR反応を行い、DNAシーケンサー(ABI3700)により電気泳動した。型判定は、GENESCANとGenotyperの解析ソフトを用いた。

### 3 1次解析

産子372頭の枝肉重量、ロース芯面積、BMS、皮下脂肪、

バラ厚の補正した格付けデータと231個のマイクロサテライトマーカーにより得られた遺伝子型とのQTL解析をインターバルマッピング法により実施した。無作為抽出の条件は1cM間隔の10000回とした。

#### 4 2次解析

1次解析により得られた情報の内、genome-wise水準以下の有意な領域については、種雄牛Bにおいてヘテロであるマイクロサテライトマーカーをさらに密に配置し、1次解析と同様の解析を行った。

### 結果

231個のマイクロサテライトマーカーにより得られた産子372頭の遺伝子型と形質データによる1次解析結果を表-1に示した。

表-1 1次解析における連鎖解析結果

形質	検出された総数	chromosome-wise			experiment-wise		
		5%レベル	1%レベル	0.1%レベル	5%レベル	1%レベル	0.1%レベル
枝肉重量	1		1				
ロース芯面積	4	4					
BMS	3	2				1	
皮下脂肪	4		2	2			
バラ厚	4	1	2	1			
歩留まり	4	3		1			

\* 数字は有意差のみられた染色体数

1次解析により、chromosome-wise5%水準以下で有意な領域を20カ所推定した。この内、chromosome-wise1%水準で有意な領域は5カ所、chromosome-wise0.1%水準で有意な領域は4カ所、experiment-wise1%水準で有意な領域は1カ所であった。

次に experiment-wise1%水準以下で有意なBMS領域1カ所にヘテロであるマイクロサテライトマーカーを29個、追加し、2次解析を行った。その結果を図-1に示した。

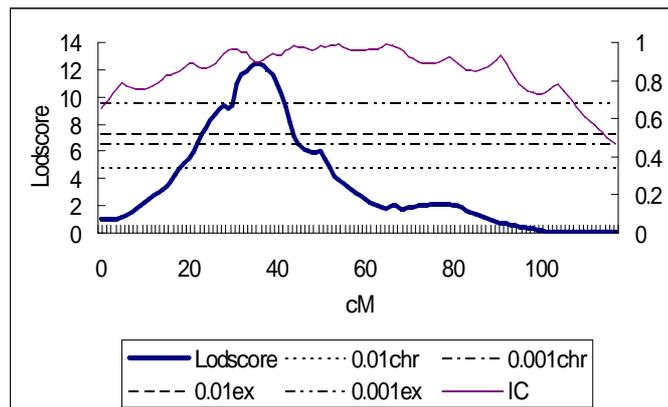


図-1 BMS領域のLodscore及びIC

BMS領域において30～40cMの領域で最大Lodscore12.4349を示した。よって、この間に枝肉重量の量的形質に関係する遺伝子座(QTL: Quantitative Trait Loci)が存在する可能性が高いことが示唆された。また染色体のマーカー情報量(IC: information contents)は平均0.85であった。

次にこれらの最大Lodscoreを示した領域におけるマイクロサテライトマーカーを用いて、遺伝子型の違いによるアリル効果を検証した。その結果を図-2に示した。

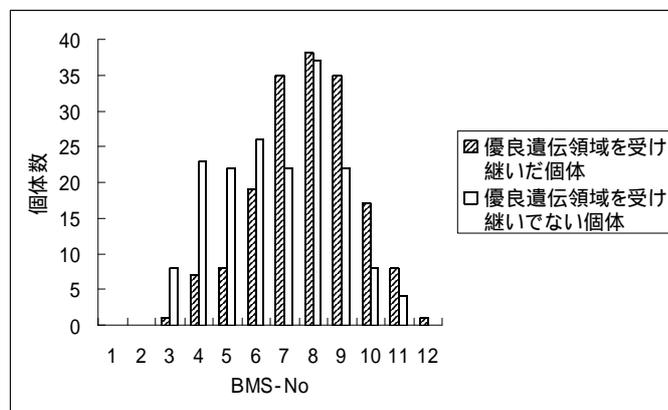


図-2 BMS領域の遺伝子型の違いによるヒストグラム

BMS領域において優良遺伝領域を受け継いだ息牛は169頭、受け継いでない息牛は172頭であった。それぞれの平均値は $7.8 \pm 1.7$ 、 $6.7 \pm 2.0$ であり、T検定の結果、 $P$ 値=1.42E-07で有意差が認められた。アリル効果(定義: 平均値の差)は1.1と推測された。(図-2)

## 考察

黒毛和種における BMS の QTL 領域はいくつか報告されているが<sup>2)3)4)6)</sup>、今回推定された領域は新しい領域であることが分かった。

また今回、その他の領域については experiment-wise レベルでの有意な領域は見られなかった。その理由としては、この種雄牛の BMS 以外の優良遺伝領域がホモ化されている可能性があるためと考えられる。実際に以前、報告した鳥取県有種雄牛 A で推定された枝肉重量、ロース芯面積の優良遺伝領域をこの気高系種雄牛 B はホモで保有していたことが分かった (data not shown)。この父方半兄弟家系を用いた QTL 解析方法ではホモ領域の検出は不可能である。よって今後、それら優良ホモ領域を特定するためには、様々な系統の牛について解析し、それぞれ IBD (Identical By Deseny) 解析を行い、由来を把握すること、また、優良遺伝領域での種雄牛間の遺伝子型の比較等が必要だと考えられる。

今後は、今回得られた結果を育種改良に活用していくと共に、さらなる未知の領域を探索していきたいと考えている。また、推定された領域が責任遺伝子まで到達し、SNP レベルでの判定が可能になれば、今まで、和牛の血統による範疇のみで利用されている情報が、血統の垣根なしに、一般的に広く活用できる情報になり得ると考える。

## 謝辞

本研究を実施するにあたり、サンプル収集や提供、ご指導ご助言頂きました動物遺伝研究所の方々に深謝いたします。

## 文献

- 1) 佐々木義之ら, 動物遺伝育種学事典編集委員会, 動物遺伝育種学辞典
- 2) 千葉和義, DNA 多型マーカーと家畜の生産形質及

び遺伝的疾患等との関連に関する研究 (牛), 平成 16 年度宮城県畜産試験場研究報告・業務年報, 47-51

1) 小林直彦ら, 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 1 報), 岐阜県畜産研究所研究報告, 第 3 号, 22-26

4) 古川恵ら, 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 34-37

5) 瀬戸口浩二ら, 牛の発育及び肉質に関する遺伝子の探索 (第 6 報), 鹿児島県肉用牛改良研究所研究報告, 第 9 号, 3-5

6) K.Mizoshita, et.al. Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle, J.Anim.Sci.2004.82

7) 平本圭二, 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