

# 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（第2報）～

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

気高系種雄牛BにおけるBMS領域の推定（第1報）により、BMSのアリル効果1.1の優良遺伝領域を推定した。その時、我々は第1報の研究の結果から、上記の領域ほど有意ではないが若干有意と考えられるBMS領域を3カ所、推定していた。これらから合計すると気高系種雄牛Bにおいて4カ所のBMSに関するQTLの存在が示唆された。そこで、我々はこの4カ所の領域について解析頭数を増やし（372頭から366頭増やし738頭）、アリル効果を推定した。その結果、4カ所全ての優良遺伝領域を持っている個体と全て持っていない個体の平均値はそれぞれ、 $8.00 \pm 1.54$ 、 $6.24 \pm 1.84$ となり、その効果（平均値の差）は1.76であった。今後は、これらの結果を活用し、種雄候補牛及び繁殖雌牛の選定に応用していきたい。

### 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。実際は全兄弟牛においても親からの遺伝子の伝わり方というのは違うはずである。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)9)10)</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の新たなQTL領域の推定を急いでいる。

本報では、第1報の研究をさらに深め、種雄牛BのBMS領域4カ所について、解析頭数を増やしアリル効果の推定を行った。

### 材 料 及 び 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738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/ $\mu$ lに調整した。産子738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、ヘテロの遺伝子型をもつマイクロサテライトマーカーを選定する必要がある。その結果、BMS領域1,2（第1報で報告した領域）、3,4にそれぞれ25,10,26,12の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 QTL解析

産子738頭のBMSの格付けデータと合計73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。

## 結 果

以下に BMS 領域 4 力所における QTL 解析結果を図-1、  
図-2、図-3、図-4に示した。

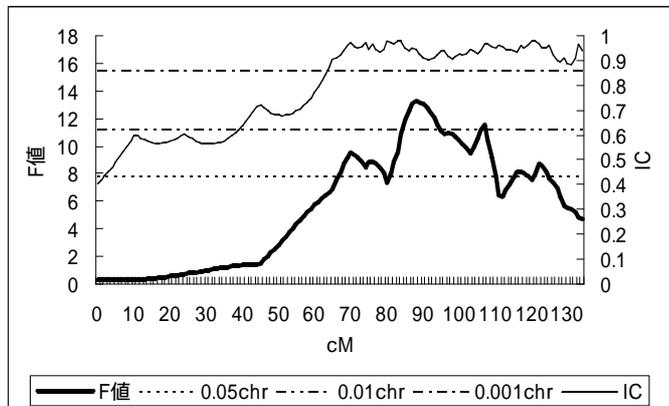


図-1 BMS 領域1の F 値及び IC

BMS 領域 1 は 80 ~ 100cM の領域で最大 F 値 13.26  
を示した。また染色体のマーカ-情報量 (IC : infomation  
contents) は平均 0.79 であった。( 図-1)

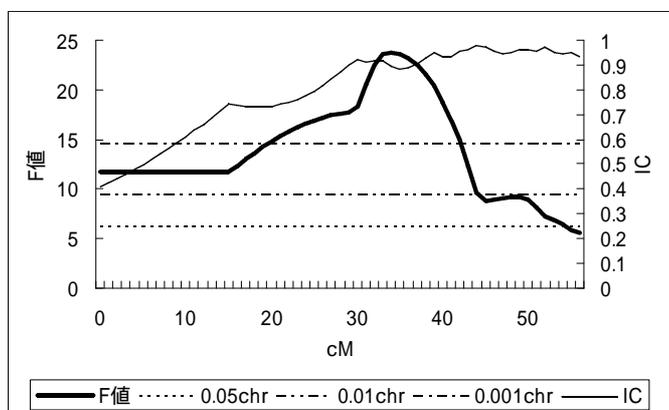


図-2 BMS 領域 2 の F 値及び IC

BMS 領域 2 は 30 ~ 40cM の領域で最大 F 値 23.79 を  
示した。また染色体のマーカ-情報量 (IC : infomation  
contents) は平均 0.79 であった。( 図-2)

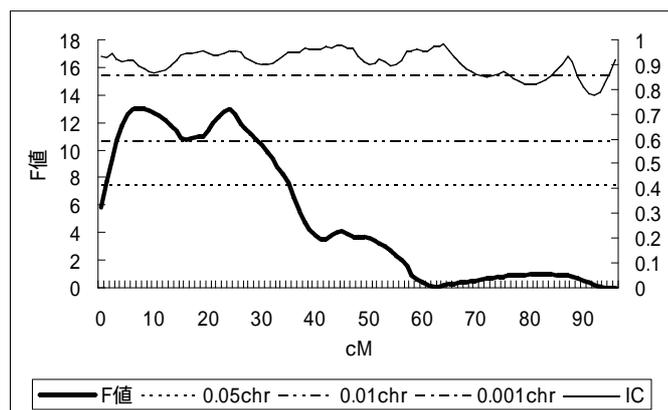


図-3 BMS 領域 3 の F 値及び IC

BMS 領域 3 は 0 ~ 30cM の領域で最大 F 値 12.99 を  
示した。また染色体のマーカ-情報量 (IC : infomation  
contents) は平均 0.91 であった。( 図-3)

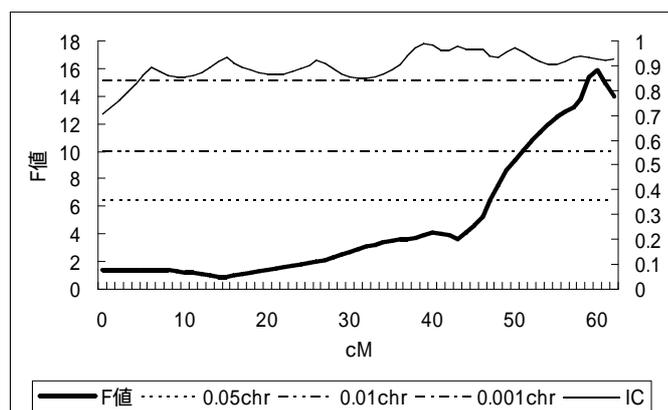


図-4 BMS 領域 4 の F 値及び IC

BMS 領域 4 は 50 ~ 60cM の領域で最大 F 値 15.84 を  
示した。また染色体のマーカ-情報量 (IC : infomation  
contents) は平均 0.90 であった。( 図-4)

次にこれらの最大 F 値を示した領域におけるマイク  
ロサテライトマーカ-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-5、図-6、図-7、  
図-8 に示した。

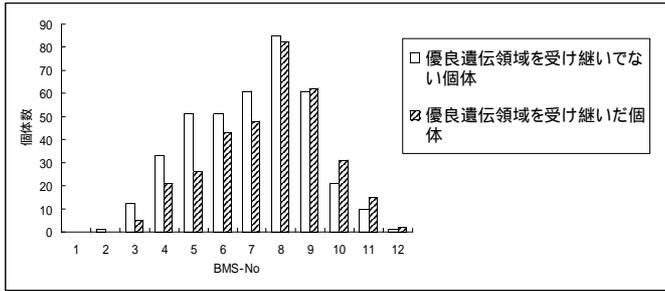


図5 BMS 領域 1 の遺伝子型の違いによるヒストグラム

BMS 領域 1 において優良遺伝領域を受け継いだ息牛は 335 頭、受け継いでない息牛は 387 頭であった。それぞれの平均値は  $7.57 \pm 1.90$ 、 $7.03 \pm 1.95$  であり、T 検定の結果、P 値=0.000168 で有意差が認められた。アレル効果（定義：平均値の差）は 0.54 と推測された。（図-5）

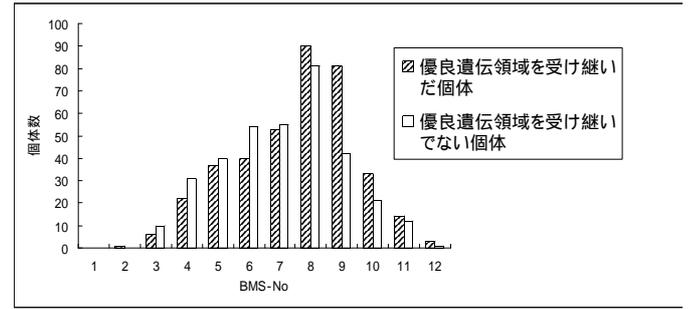


図7 BMS 領域 3 の遺伝子型の違いによるヒストグラム

BMS 領域 3 において優良遺伝領域を受け継いだ息牛は 380 頭、受け継いでない息牛は 347 頭であった。それぞれの平均値は  $7.56 \pm 1.92$ 、 $7.04 \pm 1.94$  であり、T 検定の結果、P 値=0.000307 で有意差が認められた。アレル効果は 0.52 と推測された。（図-7）

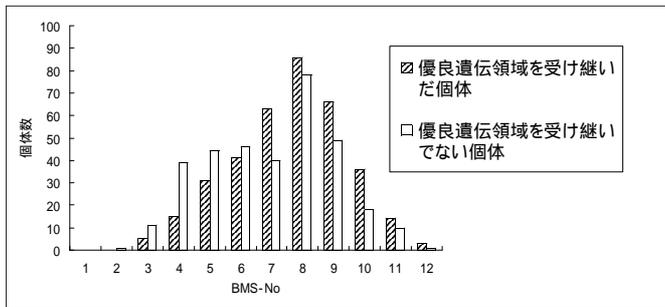


図6 BMS 領域 2 の遺伝子型の違いによるヒストグラム

BMS 領域 2 において優良遺伝領域を受け継いだ息牛は 360 頭、受け継いでない息牛は 337 頭であった。それぞれの平均値は  $7.64 \pm 1.83$ 、 $6.93 \pm 2.04$  であり、T 検定の結果、P 値=1.57E-06 で有意差が認められた。アレル効果は 0.71 と推測された。（図-6）

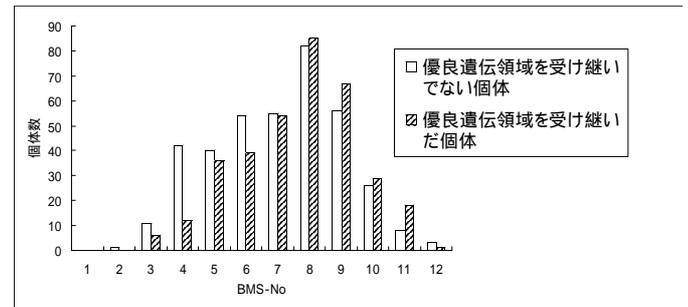


図8 BMS 領域 4 の遺伝子型の違いによるヒストグラム

BMS 領域 4 において優良遺伝領域を受け継いだ息牛は 347 頭、受け継いでない息牛は 378 頭であった。それぞれの平均値は  $7.61 \pm 1.85$ 、 $7.03 \pm 2.02$  であり、T 検定の結果、P 値=5.6E-05 で有意差が認められた。アレル効果は 0.58 と推測された。（図-8）

次に BMS の 4 領域について 4 つとも優良遺伝領域を受け継いだ息牛と 4 つとも受け継いでない息牛に分け、BMS-No を比較した。その結果を図-9 に示した。

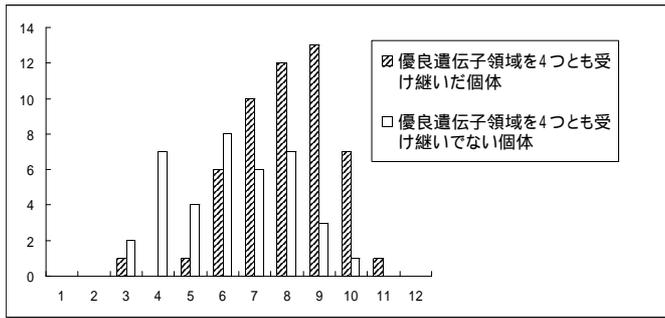


図9 4つのBMS領域の遺伝子型を考慮したヒストグラム

BMSを4つとも受け継いだ息牛は51頭、4つとも受け継いでない息牛は38頭であった。それぞれの平均値は $8.00 \pm 1.54$ 、 $6.24 \pm 1.84$ であり、T検定の結果、 $P$ 値=3.99E-06で有意差が認められた。アリル効果は1.76と推測された。

## 考 察

前回の第1報では、1つのQTLのアリル効果を推定したにすぎなかったが、今回の研究では4つのアリル効果について、それぞれ推定することができた。QTLにも効果の大きいものや、効果の小さいものなど、様々である。枝肉重量やBMSなどの量的形質は多数の遺伝子によって支配されており、1つ1つの効果は小さいが、それらを組み合わせることによって表現型値に違いが生じると考えられている<sup>8)</sup>。よって、効果が小さいと思われるQTLであっても、その情報を活用していくべきであると考えている。小林ら<sup>9)</sup>、阿部ら<sup>10)</sup>も、BMSにおいて複数のQTL領域を検出しており、それらを組み合わせることにより、より有効なマーカーアシスト選抜ができると述べている。

我々が最終的な目標とするのは遺伝子情報を用いた効率の良い黒毛和種の育種改良である。よって、これらQTL解析が単なる学術的な知見だけに終わることなく、育種の現場で、その威力を発揮できるように努める必要がある。今後は、単に効果の大きいQTLを検出するだけでなく、小さな効果のQTLも大切な育種改良への情報ととらえる、貪欲さが必要であると考えている。そして同時に、それを現場で活用していく際の裏

付け資料として様々なサンプルを用いたQTL効果の検証等が重要になってくるのである。

## 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。

## 参 考 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
- 3) 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
- 8) 佐々木義之ら, 家畜ゲノム解析と新たな家畜育種戦略.動物遺伝育種シンポジウム組織委員会編
- 9) 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2報), 岐阜県畜産研究所研究報告, 第4号, 19-24
- 10) 安部亜津子ら, 黒毛和種基幹種雄牛における脂肪交雑に関するQTL領域の探索, 島根県立畜産試験場研究報告, 第38号, 9-13