

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 QTL（量的形質遺伝子座）の探索 ～藤良系種雄牛 A における QTL 領域の探索～

田淵 一郎・小江 敏明*・高野 淳**

*鳥取県農林水産部畜産課 **畜産技術協会附属動物遺伝研究所

要 約

藤良系種雄牛 A（以下、藤良系 A とする）における QTL 領域を、マイクロサテライトマーカー（以下、MS とする）を用いたゲノムワイド連鎖解析（一次解析）、及び染色体ワイド連鎖解析（二次解析）により探索し、3つの枝肉形質（枝肉重量・脂肪交雑・ロース芯面積）に関わる QTL 領域を検出した。

枝肉重量に関わる QTL 領域は 8 番染色体の 90cM 付近に位置し、そのアリル置換効果 31.2kg、有意水準 0.1% で有意を示した。脂肪交雑は 17 番染色体の 20cM 付近に位置し、アリル置換効果 0.92、0.1% 水準で有意。ロース芯面積は 17 番染色体の 16cM 付近、アリル置換効果 2.74cm²、1% 水準で有意を示した。

藤良系 A は県有藤良系種雄牛 B（以下、藤良系 B とする）を父に持つことから、検出された 3つの QTL 領域についてその優良ハプロタイプの由来を調査した。その結果、3つすべての QTL 領域における優良ハプロタイプは父方（藤良系 B）由来であることが判明した。

今後は藤良系 B を三代祖までに持つ肥育牛を用いてその効果を検証するとともに、種雄候補牛の選抜に活用していきたい。

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）の視点からとえられてきた¹⁾。その統計育種学の理論では、全兄弟牛の期待育種価は同じ値になる。しかし、実際は全兄弟においても親からの遺伝子の伝わり方は違うはずである。さらに正確な選抜を行うには、統計育種学だけではなく、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、黒毛和種においていくつかの QTL 領域が推定されており²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁹⁾¹⁰⁾、実際に選抜の指標として活用しているとの報告もある²⁷⁾。

そこで我々は、これまでの統計育種学と QTL 領域の情報を併用した新たな育種改良手法の確立に向けて、

黒毛和種種雄牛における新たな QTL 領域の探索を進めている。

本報では、過去に報告¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾した気高系種雄牛 A、B、C に続き、藤良系 A における QTL 領域を探索し、優良ハプロタイプの由来を調査したので、その概要を報告する。

材料及び方法

1 一次解析

性染色体を除く 29 常染色体上における QTL 領域を探索するため、MS を用いたゲノムワイドな連鎖解析を実施した。

(1) 材料

藤良系 A の精液および同種雄牛の肥育産子 186 頭（去勢 158、雌 28）の腹腔内脂肪からフェノール・クロロホルム抽出法により DNA を抽出し、濃度は全て 20ng/ μ l

に調整したものを一次解析に使用した。

(2) MS 遺伝子型の解析

藤良系 A 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持つ MS を選定する必要がある。一次解析では、性染色体を除く 29 常染色体上にある MS500 マーカーについて、藤良系 A の遺伝子型を解析し、そのうちヘテロと判定した MS の中から、概ね 20cM 等間隔で配置される 200 マーカーを選定した。

MS 遺伝子型の解析は既報により、PCR 反応による遺伝子増幅後、DNA シーケンサー (ABI3700) を用いて電気泳動した。遺伝子型の判定は、GENESCAN と Genotyper の解析ソフトを用いた。

(3) QTL 解析

判定した MS 遺伝子型と解析サンプルの枝肉格付データの QTL 解析は、解析ソフト glissado を用いてインターバルマッピング法を実施した。無作為抽出の条件は 1cM 間隔の 10000 回とした。

2 二次解析

一次解析で検出された QTL 領域について、さらに領域を狭め、信頼度を高めるため、解析サンプルと MS 数を増やして染色体ワイドな連鎖解析を実施した。

(1) 材料

一次解析に供した藤良系 A の精液および同種雄牛の肥育産子 186 頭 (去勢 158、雌 28) の DNA サンプルに、新たに肥育産子 82 頭 (去勢) の DNA サンプルを加えて、合計 268 頭 (去 240、雌 28) で二次解析を実施した。

(2) MS 遺伝子型の解析

解析 MS を高密度に配置するため、一次解析で検出された QTL 領域を持つ 8 番と 17 番染色体上にある MS92 マーカーについて藤良系 A の遺伝子型を解析し、そのうちヘテロと判定した MS の中から、概ね 5cM 等間隔で配置される 40MS マーカーを選定した。

MS 遺伝子型の解析は既報により、PCR 反応による遺伝子増幅後、DNA シーケンサー (ABI3730) を用いて

電気泳動した。遺伝子型の判定は、アレル解析ソフト HyperGT2.exe を用いた。

(3) QTL 解析

QTL 解析は、解析ソフト glissado1.11.5,build220 を用いてインターバルマッピング法を実施した。無作為抽出の条件は 1cM 間隔の 10000 回とし、性・と場補正を加えた。

3 優良ハプロタイプの由来調査

藤良系 A は県有種雄牛「藤良系 B」を父に持つ。このことから、藤良系 A で検出された QTL 領域にある MS マーカーについて、藤良系 B 及びその肥育産子 9 頭の遺伝子型を解析し、藤良系 B のハプロタイプを特定。藤良系 A の優良ハプロタイプが父母のどちら由来かを調査した。

結 果

一次解析の結果、8 番染色体上に枝肉重量に関わる QTL 領域が検出され、17 番染色体上に脂肪交雑に関わる QTL 領域が検出された。

これら 8 番、17 番染色体について、解析サンプルと MS 数を増やして二次解析を実施したところ、8 番染色体については一次解析と同様、枝肉重量に関わる QTL 領域が、17 番染色体については脂肪交雑と新たにロース芯面積に関わる QTL 領域が検出された。(表 1)

表-1 QTL 領域の位置とその効果

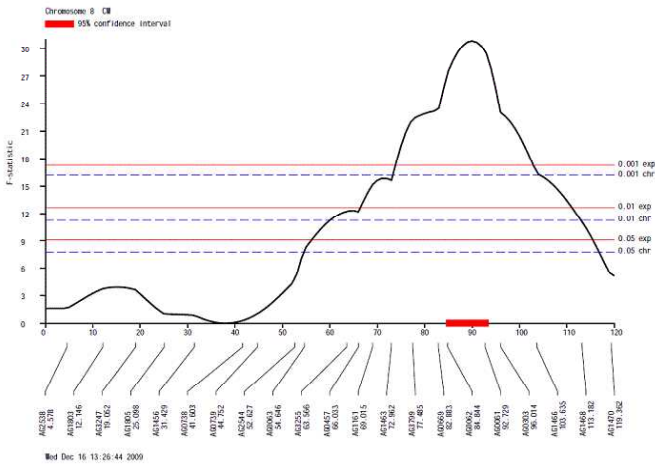
枝肉形質	染色体番号	QTL の位置	アレル置換効果	F 値	有意水準 (Chr-wise)
枝肉重量	8 番	90cM (88)	31.2kg (34.2)	30.8 (20.5)	P<0.001 (P<0.001)
脂肪交雑	17 番	20cM (25)	0.92 (1.07)	16.4 (14.7)	P<0.001 (P<0.01)
ロース芯面積	17 番	16cM	2.74cm ²	10.8	P<0.01

※()内は一次解析結果を示す。

枝肉重量に関わる QTL 領域は 8 番染色体 90cM 付近において最大 F 値 30.8 と高い値を示し、アレル置換効

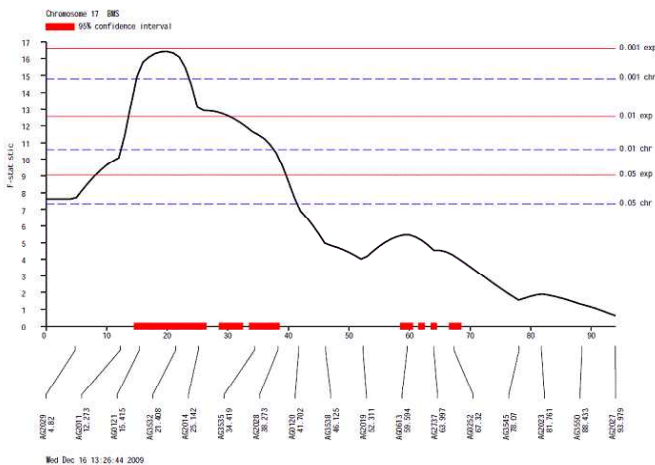
果は 31.2kg、0.1%水準で有意を示した。(表-1、図-1)

図-1 8番染色体—枝肉重量領域のF値



脂肪交雑に関わる QTL 領域は 17 番染色体 20cM 付近において最大 F 値 16.4 を示し、アリル置換効果は 0.92 と高く、0.1%水準で有意を示した。(表-1、図-2)

図-2 17番染色体—脂肪交雑領域のF値



ロース芯面積に関わる QTL 領域は 17 番染色体 16cM 付近において最大 F 値 10.8 を示し、アリル置換効果は 2.74cm²、1%水準で有意を示した。(表-1、図-3)

また、藤良系 A で検出された 3 つの枝肉形質に関わる QTL 領域について、その優良ハプロタイプの由来を調査したところ、3 つの領域すべて父方の藤良系 B 由来であることが判った。(図-4)

図-3 17番染色体—ロース芯面積領域のF値

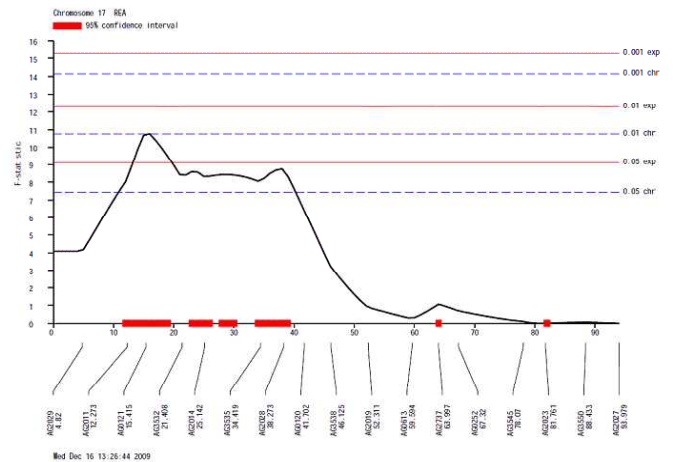


図-4 優良(Q)ハプロタイプの由来調査

藤良系Aで検出された3つのQTL領域すべて、優良(Q)ハプロタイプは父(藤良系B)由来

①8番染色体—枝肉重量領域

8番染色体	マイクロサテライトマーカー cM	MS-A 82.883	MS-B 84.844	MS-C 92.729	MS-D 96.014	MS-E 103.64
藤良系A	Qハプロタイプ*	A1	B1	C1	D1	E1
	qハプロタイプ*	A2	B2	C2	D2	E2
藤良系B	ハプロタイプ①	A1	B1	C1	D1	E1
	ハプロタイプ②	A3	B1	C1	D2	E3

②17番染色体—脂肪交雑領域

17番染色体	マイクロサテライトマーカー cM	MS-G 12.27	MS-H 15.42	MS-I 21.41	MS-J 25.14	MS-K 34.42
藤良系A	Qハプロタイプ*	G1	H1	I1	J1	K1
	qハプロタイプ*	G2	H2	I2	J2	K2
藤良系B	ハプロタイプ①	G1	H1	I1	J1	K1
	ハプロタイプ②	G1	H3	I3	J3	K1

③17番染色体—ロース芯面積領域

17番染色体	マイクロサテライトマーカー cM	MS-F 4.82	MS-G 12.27	MS-H 15.42	MS-I 21.41	MS-J 25.14
藤良系A	Qハプロタイプ*	F1	G1	H1	I1	J1
	qハプロタイプ*	F2	G2	H2	I2	J2
藤良系B	ハプロタイプ①	F1	G1	H1	I1	J1
	ハプロタイプ②	F3	G1	H3	I3	J3

考 察

今回、藤良系 A において、3 つの枝肉形質に関わる QTL 領域を検出した。特に 8 番染色体で検出された枝肉重量に関わる QTL 領域は、その効果量31.2kg、信頼度30.8と高く、非常に優良な領域であることが示唆された。この QTL 領域は他県の藤良系種雄牛からも検出されており、今後責任遺伝子が特定されることが期待される。また、17 番染色体で検出された脂肪交雑とロース芯面積に関わる QTL 領域は、ほぼ同じ位置にあり、

優良ハプロタイプも同じであることから、両形質を同時に改良可能な優良領域である。

枝肉重量や脂肪交雑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、一つ一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大きな違いが生じると考えられている⁸⁾。また、小林ら⁹⁾、阿部ら¹⁰⁾も、脂肪交雑において複数の 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こと述べている。

これまで我々は黒毛和種種雄牛において、枝肉形質に関わる 15 の QTL 領域を検出し、その成果を種雄候補牛の選抜に活用している。今回藤良系 A で検出した 3 つの QTL 領域の優良ハプロタイプは、いずれも藤良系 B 由来であることが判明した。この藤良系 B は、現在においても県内繁殖雌牛の母方祖父、曾祖父において高い割合で供用されている県を代表する種雄牛であり、この 3 つの QTL 領域は種雄候補牛の選抜に非常に有効な指標となり得る。今後は藤良系 B を三代祖までに持つ肥育牛サンプルを用いてその効果を検証するとともに、新たな種雄候補牛の選抜の指標として活用し、効率的な黒毛和種の育種改良に貢献したいと考えている。

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畜産技術協会附属動物遺伝研究所の方々に深謝します。

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

11) 小江敏明ら, 鳥取県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 (第 1 報), 鳥取県畜産試験場研究報告,第 32 号,18-22

12) 小江敏明ら, 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～, 鳥取県畜産試験場研究報告,第 33 号,8-10

13) 小江敏明ら, 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)～, 鳥取県畜産試験場研究報告,第 34 号,15-18