

# 鳥取県黒毛和種種雄牛におけるマイクロサテライト マーカを用いた優良遺伝子座領域の探索（第1報）

小江敏明・高取 等\*・岡垣敏生・野義卓哉・米田和晃

\* 現 鳥取県農林水産部畜産課

## 要 約

鳥取県における黒毛和種種雄牛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によりDNA解析を行った。そのDNA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解析を行い、各形質における優良遺伝子領域を推定した。

1. 枝肉重量とロース芯面積において有意な領域を推定した。
2. 枝肉重量領域のアリル効果は42kgであった。
3. ロース芯面積領域1のアリル効果は4.9cm<sup>2</sup>であった。
4. ロース芯面積領域2のアリル効果は5.0cm<sup>2</sup>であった。
5. ロース芯面積領域1と2の両方の優良アリルをもつ個体と両方とも持たない個体の比較によるアリル効果は9.8cm<sup>2</sup>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、この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うはずである。そこで我々は、これまでの統計育種学と併用して、さらにその選抜精度を高めるために、マイクロサテライトマーカを用いたマーカアシスト選抜の可能性について検討しているところである。

本報では、鳥取県における黒毛和種種雄

牛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

鳥取県県有種雄牛Aの精液によるDNAと、同種雄牛の産子123頭（去勢110雌13）のDNAを用いた。産子123頭のDNAは鳥取県内で生産、肥育され、県内あるいは大阪のと場でサンプリングされたものを用いた。サンプリング部位は腹腔内脂肪とした。また、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活用した。今回はサンプルのデータに去勢と雌が含まれていたもので性の効果について補正した。性の効果については枝肉成績9225頭のデータを用い平成15年度12月時における鳥取県育種価算出の際に求められたものを用いた。

## 2) DNA の調整

DNA は精液、脂肪ともにフェノール・クロロホルム抽出より精製し、TE 溶液に溶かした。濃度は全て 20ng/μl に調整した。

## 3) ヘテロマーカの選定

種雄牛 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、マイクロサテライトマーカを選定する必要がある。まず、501 個のマイクロサテライトマーカにおいて種雄牛 A の対立遺伝子型を決定し、157 個の対立遺伝子型がヘテロであるマーカを選定した。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 (ABI373、ABI377、ABI3700) により電気泳動し、得られた結果は、GENESCAN と Genotyper の解析ソフトを用いた。

## 4) 産子の型判定

県有種雄牛 A の DNA と同種雄牛産子 123 頭の DNA と 157 個のマイクロサテライトマーカを用い、PCR 反応を行い、DNA シーケンサー、解析ソフトにより、遺伝子型の判定を行った。

## 5) 1 次解析

産子 123 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 157 個のマイクロサテライトマーカにより得られた遺伝子型との連鎖解析を QTL 解析ソフト「glissardo build38」により実施した。条件は 5cM 間隔の 1000 回のシミュレーションとした。

## 6) 2 次解析

1 次解析により得られた情報の内、5% genome-wise 水準以下の有意な領域については、種雄牛 A においてヘテロであるマイクロサテライトマーカをさらに密に配置し、解析を行った。2 次解析に用いたソフトは「glissardo build44」とした。条件は 1cM 間隔の 10000 回のシミュレーションとした。

## 結果

157 個のマイクロサテライトマーカにより得られた産子 123 頭の遺伝子型と性の効果を補正した形質データによる 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	chromosome-wise		experiment-wise	
	5%以下	1%以下	5%以下	1%以下
枝肉重量	2	2	1	1
ロース芯面積	5	3	2	
BMS				
皮下脂肪	1	1		
バラ厚	3			

数字は有意差のみられた染色体数

1 次解析により、chromosome-wise 5% 水準で有意な領域を 11 カ所推定した。この内、chromosome-wise 1% 水準で有意な領域は 6 カ所、experiment-wise 5% 水準で有意な領域は 3 カ所、experiment-wise 1% 水準で有意な領域は 3 カ所であった。

次に experiment-wise 5% 水準以下で有意な領域 3 カ所 (枝肉重量 1 カ所、ロース芯面積 2 カ所) にヘテロであるマイクロサテライトマーカを 12 個、追加し、2 次解析を行った。その結果を図-1、図-2、図-3 に示した。

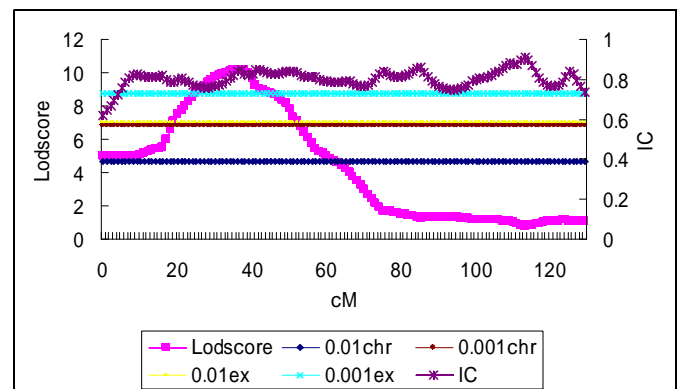


図-1 枝肉重量領域の Lodscore 及び IC

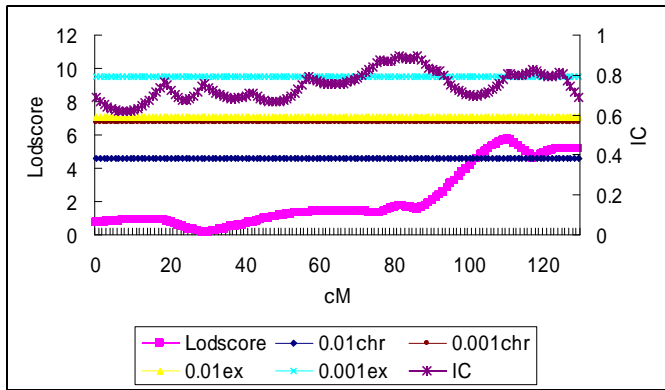


図-2 ロース芯面積領域 1 の Lodscore 及び IC

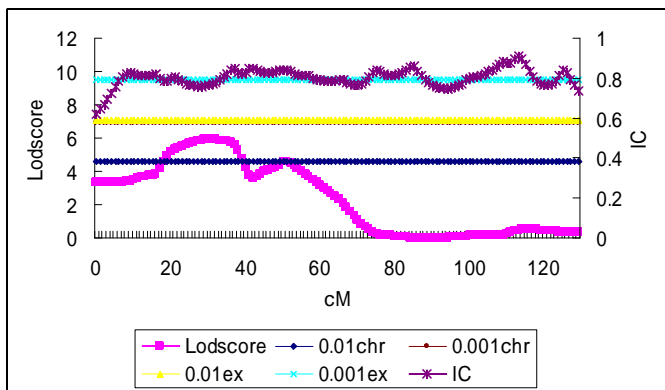


図-3 ロース芯面積領域 2 の Lodscore 及び IC

枝肉重量領域において 30 ~ 40cM の領域で最大 Lodscore10.17 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。またこの時のマーカー情報量 (IC: information contents) は平均 0.80 であった。

ロース芯面積において 100 ~ 120cM の領域で最大 Lodscore5.66 (図-2)、ロース芯面積領域 2 (図-3) では 30 ~ 40cM の領域で最大 Lodscore5.9 を示した。よって、これらの間にロース芯面積の QTL が存在する可能性が高いことが示唆された。また、ロース芯面積領域 1 の IC は平均 0.75、ロース芯面積領域 2 の IC は平均 0.80 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レル効果を検証し

た。その結果を図-4、図-5、図-6 に示した。

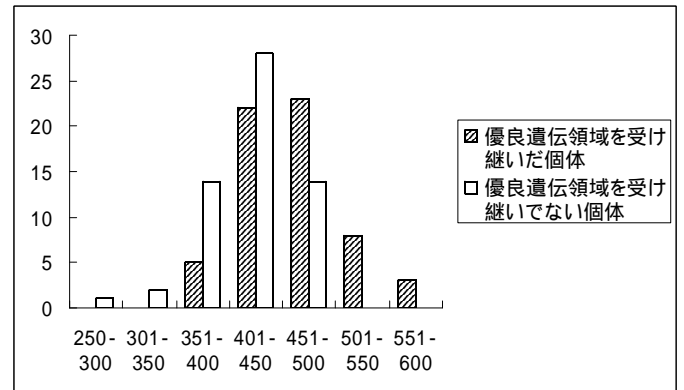


図-4 枝肉重量領域の遺伝子型の違いによるヒストグラム

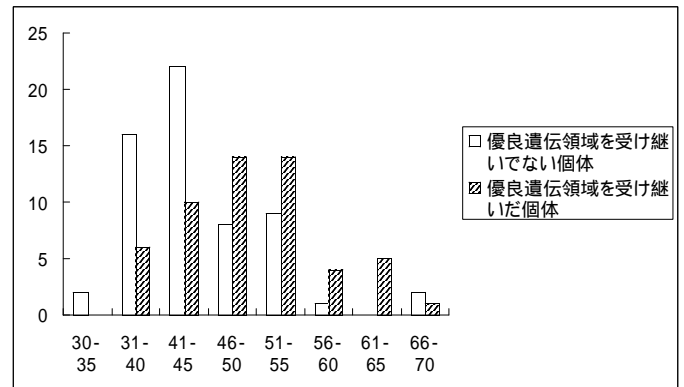


図-5 ロース芯面積領域 1 の遺伝子型の違いによるヒストグラム

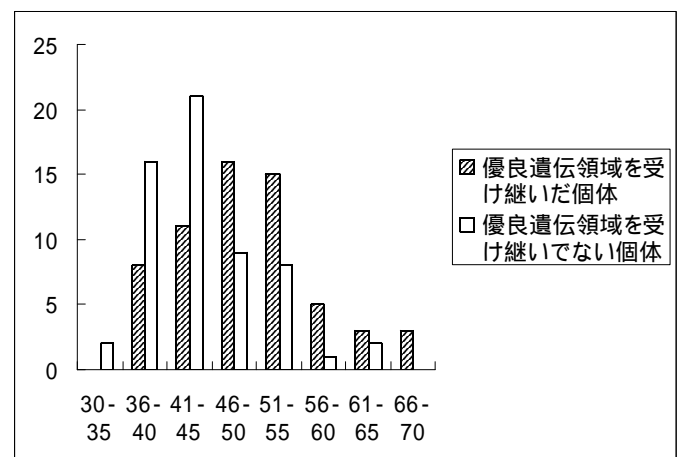


図-6 ロース芯面積領域 2 の遺伝子型の違いによるヒストグラム

枝肉重量領域において優良遺伝領域を受け継いだ息牛は 61 頭、受け継いでない息牛は 59 頭であった。それぞれの平均値は  $460 \pm 43.58\text{kg}$ 、 $418 \pm 40.65\text{kg}$  であり、T 検定の結果、P 値 =  $3.98\text{E-}07$  で有意差が認められた。アリル効果（定義：平均値の差）は 42kg と推測された。（図-4）

コース芯面積 1 において優良遺伝領域を受け継いだ息牛は 54 頭、受け継いでない息牛は 60 頭であった。それぞれの平均値は  $49.2 \pm 7.48\text{cm}^2$ 、 $44.2 \pm 6.85\text{cm}^2$  であり、T 検定の結果、P 値 =  $0.000316$  で有意差が認められた。アリル効果は  $5.0\text{cm}^2$  と推測された。（図-5）

コース芯面積 2 において優良遺伝領域を受け継いだ息牛は 61 頭、受け継いでない息牛は 59 頭であった。それぞれの平均値は  $48.9 \pm 7.43\text{cm}^2$ 、 $44.0 \pm 6.71\text{cm}^2$  であり、T 検定の結果、P 値 =  $0.00023$  で有意差が認められた。アリル効果は  $4.9\text{cm}^2$  と推測された。（図-6）

次にコース芯面積の 2 領域について優良遺伝領域を両方受け継いでいる息牛と両方受け継いでない息牛で比較した。その結果を図-7 に示した。

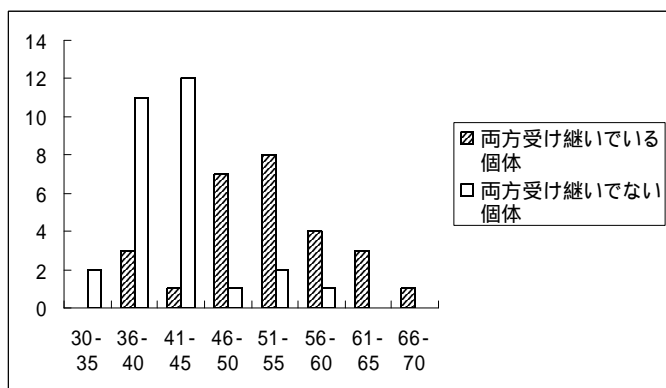


図-7 コース芯面積 1 と 2 の両方の遺伝子型を考慮したヒストグラム

コース芯面積 1 と 2 両方を受け継いだ個体は 27 頭、両方を受け継いでない個体は 29 頭であった。それぞれの平均値は  $51.6 \pm 7.36\text{cm}^2$ 、 $41.8 \pm 5.92\text{cm}^2$  であり、T 検定の結果、

P 値 =  $5\text{E-}07$  で有意差が認められた。アリル効果は  $9.8\text{cm}^2$  と推測された。

## 考 察

和牛の枝肉重量に関する遺伝子は今まで成長遺伝子ホルモンが千国らにより同定されており<sup>2)</sup>、また有力な QTL 領域において CW-1 領域が特定されている<sup>3)</sup>。また、外国種の生時体重や各ステージにおける体重、枝肉重量でも、現在、数多くの QTL 領域が報告されている。<sup>4) 5)</sup> また、枝肉重量と関連する形質として乳量があり、成長ホルモンを投与することにより乳量の増加が見られるという報告もあり<sup>2)</sup>、乳量に関する QTL 領域も成長ホルモン、さらには枝肉重量と関連する領域である可能性がある。

今回推定した領域は和牛の集団では今まで特定された領域とは異なっており、新領域である可能性が示唆された。しかし、外国種においては同領域にマップしているものもあり、これらとの関連について今後、検討していく必要があると考えられる。

コース芯面積における QTL 領域は今までに数カ所報告されている<sup>3)</sup>が、今回推定した 2 領域は、和牛における集団では新領域である可能性が示唆された。また、同形質におけるアリル効果は相加的な相互作用を示すという報告もあり<sup>6)</sup>、今回の結果も同様の結果が得られた。

今回、皮下脂肪、バラ厚、BMS についての有意な領域は今回の解析では推定されなかった。推定されなかった原因として考えられるのは、皮下脂肪、バラ厚の形質データはバラツキの少ないデータ分布であることが考えられた。また、BMS は格付け員による数値なので若干のずれが生じるため<sup>7)</sup>と思われた。また、今回、形質データの補正が性の効果のみであったこともその要因

と考えられるため、今後、と場の効果、年次の効果等の補正も必要であると考えられた。

## 謝 辞

本研究を実施するにあたり、ご指導ご助言頂きました動物遺伝研究所の方々、またサンプル収集においてご協力して頂きました全国農業協同組合連合会鳥取県本部畜産センターの方々、全国農業協同組合連合会近畿畜産センターの方々、鳥取県大阪事務所の方々に深謝いたします。

## 引 用 文 献

- 1) 委員長 佐々木義之 動物遺伝育種学事典編集委員会 動物遺伝育種学辞典
- 2) 千国幸一 ウシ成長ホルモン遺伝子型と経済形質 J.Anim.Genet.,26(2):61-67,1998
- 3) 畜産技術協会 肉用牛遺伝資源活用体制整備事業報告書
- 4) Schnabel RD,Taylor JF,Derr JN. Development of a linkage map and QTL scan for growth traits in North American bison. Cytogenet Genome Res. 2003;(1-4):59-64
- 5) Kim JJ,Famir F,Savell J,Taylor JF. Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between Bos taurus (Angus) and Bos indicus (Brahman) cattle. J Anim Sci.2003 Aug;81(8):1933-42
- 6) 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(平成15年7月)
- 7) 藤中邦則ら 肉牛の育種価予測値に及ぼす主効果としての枝肉市場の影響 日本畜産学会報 74(2):177-185,2003