

現場後代検定牛における枝肉重量QTL “*CW-3*” が 発育および枝肉形質に及ぼす効果

中村亮一 坂本洋一 長谷川清寿 岡崎尚之

要約 ウシ8番染色体上の枝肉重量QTL “*CW-3*” の責任変異候補であるSNP-Aに着目して、本県黒毛和種の育種改良における選抜指標としての有用性を検討するため、当該遺伝子の多型が発育および枝肉形質に及ぼす効果について、現場後代検定牛を用いて調査した。現場後代検定用の去勢産子264頭におけるSNP-Aの遺伝子型頻度は、Q/Q型0.4%、Q/q型37.1%、q/q型62.5%であり、アリル頻度としては、Qアリルが18.9%に対して、qアリルが81.1%であった。*CW-3*が枝肉形質に及ぼす効果について、調査対象集団のSNP-Aの遺伝子型と枝肉形質との関連性をt検定により分析したところ、枝肉重量においてQ/q型(469.9±45.8kg)がq/q型(458.6±44.2kg)に比べて有意($P < 0.05$)に大きかった。また、*CW-3*が発育形質に及ぼす効果については、肥育期間中の発育(体重および体高)を解析対象形質とした。肥育開始後8週ごとの体重および体高について、Q/q型とq/q型との平均値の差をt検定で分析したところ、いずれの時点でも1%水準で有意差が認められた。さらに、体重の期間増加量に対するSNP-Aのアリル置換効果は、すべての期間において有意($P < 0.05$)であり、「32-40週」の増加量において最大であった。また、体高については、「0-8週」および「48-56週」の増加量において有意($P < 0.05$)な効果が認められ、「0-8週」の増加量において最大であった。以上のことから、SNP-AのQアリルは、肥育牛の発育および枝肉重量にプラスの効果を与えていることが確認され、黒毛和種の育種改良における発育能および枝肉重量を対象形質とした選抜マーカーとして活用できる可能性が示唆された。

キーワード：黒毛和種 枝肉重量 発育 QTL 遺伝子多型

最近のゲノム解析研究の成果を応用して、ウシの経済的形質と連鎖したDNAマーカーを選抜指標とする、新たな能力評価法の開発が国内外で進められている。肉専用種である黒毛和種においても、枝肉重量や脂肪交雑などに関与する量的形質遺伝子座(Quantitative Trait loci; QTL)を特定する研究¹⁻⁶⁾が数多く行われ、黒毛和種の産肉能力に影響を及ぼす、いくつかの遺伝子あるいは染色体領域が特定されている。そして、それらの特定されたDNA情報は、優良種畜を選抜する際の指標として、生産現場での育種改良への応用も始まっている。

これまでの黒毛和種のQTL解析研究により見出されたウシ8番染色体上の枝肉重量QTL “*CW-3*” は、アリル置換効果が21.0から37.8kgと推定されている効果の大きいQTLである⁷⁾。そして最近、*CW-3*の責任遺伝子の探索が行われ、遺伝子Aにアミノ酸置換を起こす1塩基多型(Single Nucleotide Polymorphism; SNP)が、有力な責任変異の候補であることが見出された^{8, 9)}。*CW-3*に先行して、黒毛和種の枝肉重量に影響を及ぼしているQTLとして検出された、*CW-1*³⁾ および *CW-2*³⁾ については、それぞれ *PLAG1-CHCHD7* 遺伝子間にあるDNA多

型^{10, 11)} および *NCAPG* 遺伝子多型^{12, 13)} が有力な責任変異候補とされており、体高^{11, 14)}、体長¹⁴⁾などの発育形質と関連していることがすでに示されている。しかし、*CW-3*の責任変異候補である遺伝子Aの1塩基多型(SNP-A)については、枝肉重量以外の枝肉形質や発育との関連性はほとんど調べられてない。

そこで今回、SNP-Aに着目して、本県黒毛和種の育種改良における選抜指標としての有用性を検討するため、当該遺伝子の多型が発育および枝肉形質に及ぼす効果について、現場後代検定牛を用いて調査した。

材料および方法

調査対象個体は、2002年度から2011年度にかけて、当センターで産肉能力現場後代検定を行った種雄牛35頭に由来する検定用産子(去勢264頭)とした。肥育期間は、約8か月齢(230.5±14.6日齢)から約27か月齢(796±20.4日齢)とした。各個体のSNP-Aの多型はダイレクトシーケンス法で判定した後、枝肉重量にプラス効果を持つ対立遺伝子をQアリル、持たない対立遺伝子をqアリルとして、各個体を3つの遺伝子型(Q/Q型、Q/q型および

q/q型)に分類した。そして、以下の2つの調査を行った。

調査1 CW-3が枝肉形質に及ぼす効果

枝肉成績は、社団法人日本食肉格付協会の格付結果を用いた。解析対象形質は、枝肉重量、ロース芯面積、ばら厚、皮下脂肪厚、歩留基準値およびBMS No.を対象として、Q/q型とq/q型との平均値の差をt検定で分析した。

調査2 CW-3が発育形質に及ぼす効果

肥育期間中の発育測定値(体重および体高)を解析対象形質とした。調査対象個体の体重または体高について、4週間隔(28.2±8.6日)で計測した値から、3次スプライン関数を用いて個体ごとにデータ補間を行って、それぞれの生後日齢でのデータを得た後、270日齢を起点とした8週ごとの体重および体高について、Q/q型とq/q型との平均値の差をt検定で分析した。さらに、8週間隔(0-8、8-16、16-24、24-32、32-40、40-48、48-56および56-64週)の体重および体高の増加量を算出した後、各形質の増加量と遺伝子型との関連について、解析プログラムQxpak¹⁵⁾を用いて分析した。このとき、解析する形質におけるi番目の個体の表現型値 Y_i について、次の統計モデルを用いた。

$$Y_i = ig + ui + ei$$

ここで、 i はSNP-Aの遺伝子型、 g はSNP-Aのアリル置換効果、 u_i は育種価の変量効果、 e_i は残差である。なお、育種価の変量効果の推定には、調査対象個体の3代祖まで遡り、祖先牛947頭からなる血統情報を用いた。

結 果

すべての調査対象個体(264頭)に占めるSNP-Aの遺伝子型頻度は、Q/Q型が0.4%、Q/q型が37.1%、q/q型62.5%であり、アリル頻度としては、Qアリルが18.9%に対して、qアリルが81.1%であった(表1)。

また、今回のSNP-Aの遺伝子型頻度によって、Q/Q型の個体は、調査1および2の解析対象から除外した。

調査1 CW-3が枝肉形質に及ぼす効果

解析対象集団の枝肉成績の基本統計量は表2に、SNP-A遺伝子型別の枝肉成績の比較は表3に示した。調査対象個体のSNP-Aについて、遺伝子型と枝肉形質との関連性をt検定により分析したところ、枝肉重量においてQ/q型(469.9±45.8kg)がq/q型(458.6±44.2kg)と比べて有意($P < 0.05$)に高値であった。

表1 解析対象におけるSNP-Aの遺伝子型頻度

遺伝子型頻度			アリル頻度	
Q/Q型	Q/q型	q/q型	Qアリル	qアリル
0.4%	37.1%	62.5%	18.9%	81.1%
(n=1)	(n=98)	(n=165)		

表2 解析対象集団の枝肉成績の基本的統計量

形質	n	平均値	標準偏差	最小値	最大値	尖度	歪度
枝肉重量, kg	264	462.65	45.24	362.4	602.5	-0.12	0.16
ロース芯面積, cm ²	264	55.70	7.04	38	77	0.49	0.46
ばら厚, cm	264	7.69	0.87	5.1	11.5	0.75	0.29
皮下脂肪厚, cm	264	2.34	0.73	1.0	5.2	0.62	0.77
歩留基準値, %	264	73.91	1.46	70.3	79.4	0.09	0.26
BMS No.	264	5.52	2.07	2	12	-0.29	0.57

表3 SNP-A遺伝子型別の枝肉成績の比較

区分	枝肉重量 (kg)	ロース芯面積 (cm ²)	ばら厚 (cm)	皮下脂肪厚 (cm)	歩留基準値 (%)	BMS No.
Q/q型 (n=98)	469.9±45.8 a	55.6±6.8	7.8±1.0	2.2±0.7	74.0±1.6	5.6±2.2
q/q型 (n=165)	458.6±44.2 b	55.8±7.2	7.6±0.8	2.4±0.8	73.9±1.4	5.4±2.0

平均値±標準偏差

a, b: 異符号間に有意差 ($P < 0.05$) あり。

調査2 CW-3が発育形質に及ぼす効果

8週ごとの体重および体高について、Q/q型とq/q型との平均値の差をt検定で分析したところ、いずれの時点でも1%水準で有意差が認められた(図1)。8週間隔の体重および体高の増加量について、その平均値の推移を図2に示した。体重の増加量は「16-24週」で最大となり、以降の期間では漸減した。体高の増加量については、「0-8週」が最

大であり、以降の期間では漸減した。体重の期間増加量に対するSNP-Aのアリル置換効果は、すべての期間において有意($P < 0.05$)であり、「32-40週」の増加量において最大であった。また、体高については、「0-8週」および「48-56週」の増加量において有意($P < 0.05$)な効果が認められ、「0-8週」の増加量において最大であった(図3)。

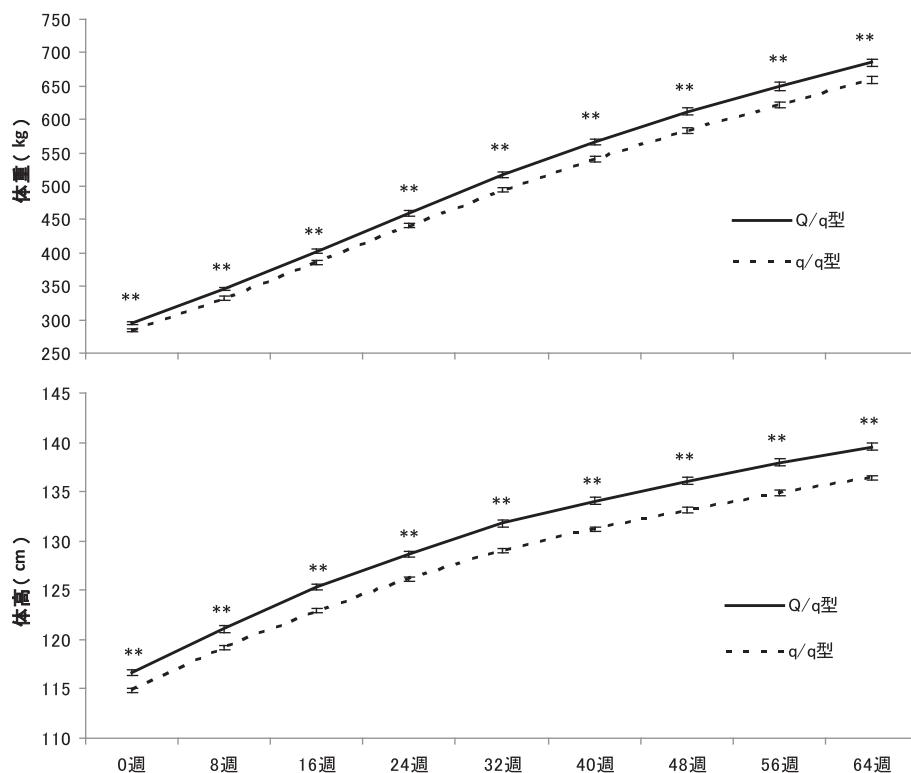


図1 遺伝子型別の体重および体高の推移

上段は体重の推移を、下段は体高の推移を示す。
 図中のエラーバーは標準誤差を示す。
 図中の**はQ/q型とq/q型との間に1%水準で有意差があることを示す。

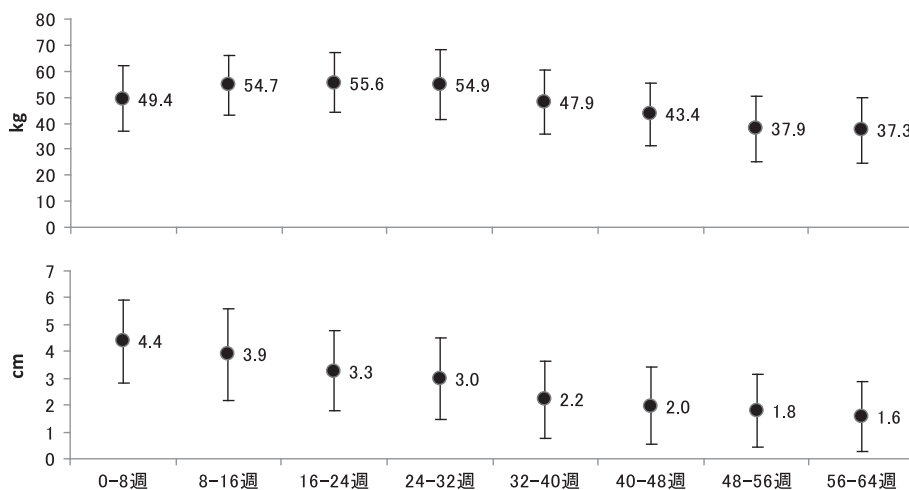


図2 体重および体高の期間増加量の推移

上段は体重増加量の推移を、下段は体高増加量の推移を示す。
 図中の数値は平均値 ± 標準偏差を示す。

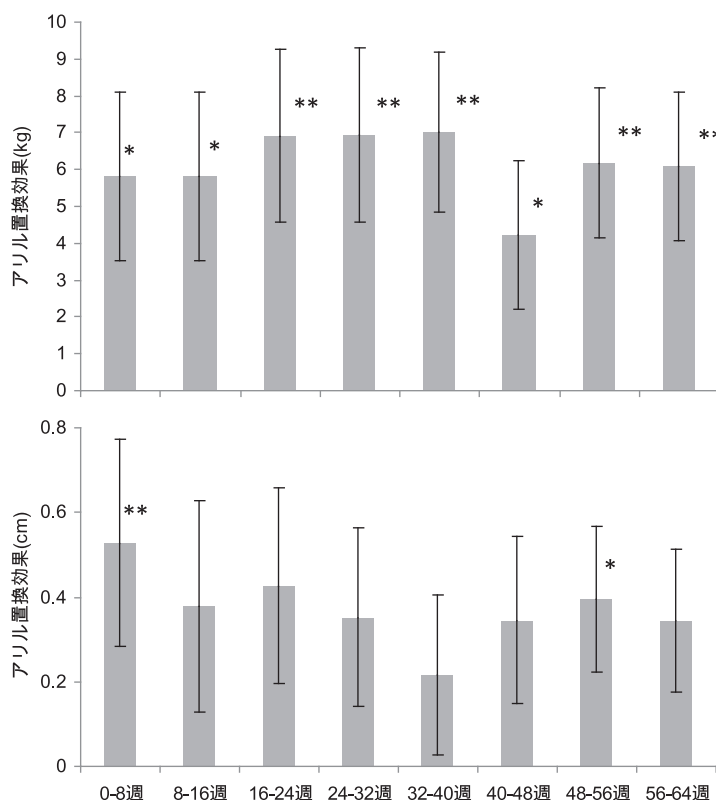


図3 体重および体高増加量に対するアリル置換効果

上段は体重に対するアリル置換効果，下段は体高に対するアリル置換効果を示す。図中のエラーバーは標準偏差を示す。

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

考 察

肉専用種である黒毛和種の育種改良において、経済的能力の高い種雄牛を選抜するために、直接検定および後代検定の2段階からなる産肉能力検定法が採用されている。直接検定では種雄牛候補の増体重や飼料効率の調査によって、当該個体自身の発育性や飼料利用性の評価が行われ、後代検定では直接検定で選ばれた新規種雄牛の後代産子の肥育調査によって、枝肉形質に関する遺伝的能力が評価される。この枝肉形質のうち枝肉重量に関する能力評価に関しては、発育の良否が産肉量に直結しているため、種畜あるいは肥育素牛の選定において体重や体型測定値が重要な指標として用いられている。この観点から、個体の表現型から産肉能力を推定しようとする研究が数多く行われ、体重や体高などの発育形質と枝肉重量との間に正の表型相関あるいは遺伝相関があることが示されている¹⁶⁻¹⁸⁾。

その一方で、黒毛和種の経済的形質、特に枝肉形質に関与する遺伝子が存在する領域、すなわち、QTLを同定する試みがなされている¹⁻⁶⁾。それは、枝肉形質に関与する遺伝子が特定されれば、種畜候補の個体が優良な遺伝子を持っているかどうかを直

接的に判断することができるからである。さらに、それらのDNA情報と、従来の表現型や育種価による選抜指標とを併用することにより、種畜選抜の正確度向上も期待できる。

これまでの黒毛和種の枝肉形質に関するDNA解析研究において、父方半きょうだい家系を用いた枝肉形質に関するQTL解析⁷⁾ および一般肥育集団を対象としたゲノムワイド相関解析¹⁰⁾ によって、黒毛和種には比較的效果の大きい3つの枝肉重量QTL (CW-1、CW-2およびCW-3) が存在することが明らかとなっている。これらのうち、CW-1の責任変異候補として見出されたPLAG1-CHCHD7遺伝子間にあるDNA多型^{10, 11)} については、枝肉重量のほか体高¹¹⁾ との相関が報告されている。また、CW-2の責任変異候補とされているNCAPG遺伝子多型^{12, 13)} についても、生時体重¹³⁾ や出生後の体重増加¹⁹⁾、体高、体長¹⁴⁾ などの発育形質との相関について報告があり、ウシの成長と関連していることが示されている。

そこで本研究では、CW-3責任遺伝子の候補であるSNP-Aについて、当該遺伝子多型が枝肉形質および発育形質に及ぼす効果について調査した。そして、枝肉形質については、枝肉重量においてSNP-A

のQ/q型とq/q型との間に有意差が認められ、SNP-Aの枝肉重量に対する効果が認められた。この結果は、一般肥育集団あるいは特定種雄牛の産子集団においてSNP-Aの多型と枝肉重量との間に強い関連性を認めたTakasugaら^{8,9)}の報告と一致している。したがって、SNP-AのQアリルによって、個体の枝肉重量が大きくなることが示唆された。

また、発育と遺伝子型との関連についても分析したところ、体重、体高ともに、肥育開始時から肥育終了時までのいずれの時点でも、有意差が認められた。さらに、体重および体高の増加量に対するアリル置換効果は、それぞれ「32-40週」、「0-8週」において最大であった。Weikardら¹⁹⁾とSetoguchiら¹⁴⁾は、NCAPG遺伝子多型の体重もしくは体高に対する遺伝子型効果のピークが、それぞれ日齢体重もしくは期間増加量が最大となる期間と一致すると報告している。今回のSNP-Aの調査においても、NCAPG遺伝子多型の場合と同様な傾向が認められた。そしてさらに、SNP-Aが存在する遺伝子Aについて、Lango Allenら²⁰⁾がヒトの身長に関連する遺伝子として報告している。黒毛和種牛を用いた今回の解析においてもSNP-Aと体高との関連性が認められ、遺伝子Aはフレームサイズの形成と密接に関連していることが考えられた。

以上のことから、SNP-AのQアリルは、肥育牛の発育および枝肉重量にプラスの効果を与えていることが確認された。したがって、SNP-AのQアリルを保有しているかどうかを判定することで、選抜対象個体の発育能および枝肉重量に関する能力予測が可能であり、黒毛和種の育種改良における選抜マーカーとしての有用性が示された。

ただし、今回の調査ではQ/Q型の個体が1頭のみであったため、Qアリルをホモで持つ場合の表現型の解析ができていない。Qアリルは相加的に働くのか、qアリルに対して優性的に働くのか、それとも雑種強勢(ヘテロシス)のような効果があるのか、今後、Q/Q型の例数を集めて分析する必要がある。また、今回用いた解析対象の集団サイズは、Setoguchiら¹⁴⁾が用いた後代検定牛約800頭に比べると、その3分の1程度と少ないため、遺伝子多型の効果を十分に検討できていないことが考えられる。特に、体重増加については、飼料摂取や飼養管理等の影響を大きく受けることが推察されるため、今後、集団サイズを大きくして、飼養条件を考慮したモデルで解析を試みることも検討していきたい。

参 考 文 献

- 1) Mizoshita K., *et al. Journal of Animal Science*, 82(12): 3415-3420, 2004.
- 2) Mizoguchi Y., *et al. Animal Genetics*, 37(1): 51-54, 2006.
- 3) Takasuga A., *et al. Mammalian Genome*, 18(2): 125-136, 2007.
- 4) Imai K., *et al. Animal Biotechnology*, 18: 75-80, 2007.
- 5) Hirano T., *et al. Animal Genetics*, 39(1): 79-83, 2008.
- 6) Yokouchi K., *et al. Animal Genetics*, 40(6): 945-951, 2009.
- 7) 高野 淳ら. 日本動物遺伝育種学会第10回大会講演要旨, I-05, 2009.
- 8) 高須賀晶子ら. 第34回日本分子生物学会年会講演要旨, 4P-0456, 2011.
- 9) 高須賀晶子ら. 日本畜産学会第115回大会講演要旨, 29-19, 2012.
- 10) Nishimura S., *et al. BMC Genetics*, 13: 40, 2012.
- 11) Karim L., *et al. Nature Genetics*, 43: 405-413, 2011.
- 12) Setoguchi K., *et al. BMC Genetics*, 10: 43, 2009.
- 13) Eberlein A., *et al. Genetics*, 183(3): 951-964, 2009.
- 14) Setoguchi K., *et al. Animal Genetics*, 42(6): 650-655, 2011.
- 15) Perez-Enciso M. and Misztal I. *Bioinformatics*, 20(16): 2792-2798, 2004.
- 16) Uchida H., *et al. Animal Science Journal*, 72(2): 89-96, 2001.
- 17) Aziz A.M., *et al. Animal Science Journal*, 76(3): 187-193, 2005.
- 18) 大澤剛史ら. 日本畜産学会報, 79(2): 193-201, 2008.
- 19) Weikard R., *et al. Physiological Genomics*, 42A: 79-88, 2010.
- 20) Lango Allen H., *et al. Nature*, 467: 832-838, 2010.