

SNP 情報を利用した牛ゲノム育種価の算出とその精度

熊谷 祐宏^{*1}・渡邊 敏夫^{*2}・細川 泰子^{*1}

緒 言

家畜の育種とは、選抜基準により望ましい個体と望ましくない個体とを判別し、望ましい個体を保留し、それらに後代を生産させる一方、望ましくない個体を淘汰し、集団の遺伝的改良を図ることである¹⁾。

1940年代に Hazel によって選抜指数の概念が家畜の育種に導入されてから、科学的な家畜の改良が始まった⁴⁾。選抜指数法における重要な考え方の一つが、家畜の遺伝的能力を育種価という尺度で表し、その尺度をもとに家畜を選抜するという点であった。

量的遺伝学では BLUP 法⁵⁾に代表されるような表現型値と血統情報を用いて正確な育種価を推定する理論と、コンピュータの発展により、育種価を用いた改良が乳牛を中心に広く利用されることとなった。

一方、分子遺伝学においてはその重要な領域であるゲノム研究の進展により、家畜の遺伝子地図の作成が急速に進み、国内では主に黒毛和種を対象にマイクロサテライトをマーカーとして経済形質に関連する量的形質遺伝子座 (QTL) を解析し利用するマーカーアシスト選抜が進められた^{1,3,7,9)}。しかし、検出されたほとんどの QTL は効果が小さく、DNA マーカーによる育種に用いるには不十分であった¹⁰⁾ことから、より多くの有用なマーカーの探索が課題となった。

2000年代に入り、ウシゲノム中の多数の一塩基多型 (SNP) を一度に数千～万の単位で解析することが可能となり、乳用牛で先行して、SNP 情報をマーカーとして活用し能力を予測するゲノム育種価研究が進められた。その結果は、期待育種価よりも高い精度とされ、世界各国で利用が進んでいる。

日本においても黒毛和種で SNP 情報から育種価を予測する研究が始まった。そこで、本県黒毛和種の改良促進に資するため、県内黒毛和種集団を対象に SNP 情報を収集し、利用した牛ゲノム選抜手法の確立に向けて、算出したゲノム育種価の精度確認を実施したので報告する。

材料および方法

1 黒毛和種肥育牛および種雄牛の SNP 型判定

県内で肥育された黒毛和種 586 頭の腎周囲脂肪および横隔膜周囲脂肪サンプル、県有黒毛和種種雄牛 42 頭および

後代検定中の若雄 29 頭の血液を利用した。

ゲノム DNA の抽出には、脂肪については公益社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所 (以下、動物遺伝研) 所有の核酸自動分離装置 (クラボウ社製) を用いた。血液は、常法によりヘパリン全血から白血球を分離した後、QIAGEN QIAamp DNA mini Kit を用いた。抽出した DNA のうち、濃度が 50ng/μl 未満であったものおよび電気泳動により断片化が確認されたものは解析対象から除外した。

SNP 型判定には、動物遺伝研所有の iSCAN (illumina 社製) を用いた。肥育牛は Bovine LD Beadchip (illumina 社製) にて約 8,000 個、種雄牛および後代検定中の若雄は Bovine 50K Beadchip にて約 50,000 個を判定した。

2 黒毛和種種雄牛および後代検定中若雄のゲノム育種価計算

ゲノム育種価の計算には本県で解析した肥育牛 586 頭のほか、共同研究関係にある動物遺伝研、全農 ET 研究所、(一社)家畜改良事業団、19 道県の肥育牛サンプルを含む肥育牛 19,108 頭の SNP データと枝肉データを利用した。

SNP データは各機関によって利用した解析キットが異なっていることから、「BEAGLE」を利用して共通していないマーカーのジェノタイプを補完し²⁾、SNP データコール率 0.95 以上、マイナーアレル頻度 0.01 以上、Hardy-Weinberg 平衡検定 P 値 0.0001 以上の 34,018 個を分析に供した。

ゲノム育種価推定は SNP 効果を変量効果として扱う G-BLUP 法を用い、市場、年次、性別を母数効果、月齢 (1 次および 2 次) を共変量とした。

分散成分推定は AI-REML 法⁶⁾により行った。

3 ゲノム育種価精度の検証

(公社)全国和牛登録協会が算出した平成 28 年 10 月期の岩手県黒毛和種推定育種価を有している岩手県有種雄牛 42 頭 (推定育種価正確度 0.86~0.99) において、枝肉 6 形質のゲノム育種価と推定育種価の相関を求めた。

*1 畜産研究所家畜育種研究室

*2 (公社)畜産技術協会附属動物遺伝研究所 (現 (一社)家畜改良事業団)

結果および考察

1 黒毛和種種雄牛および検定中若雄のゲノム育種価

算出したゲノム育種価の正確度を、形質ごとに、表 1 に示した。

検定中の若雄よりも正確度が低い利用中の種雄牛が確認された。これらの種雄牛は、全国の現在の主流血統とは血縁関係が遠く、肥育牛サンプルの中に血縁個体が少ないという傾向がみられた。一方、検定中の若雄の中で正確度が 0.9 を超えるものは、肥育牛サンプルに父が同種雄牛の半きょうだいサンプルが多い傾向がみられた。このことから、計算に利用する肥育牛サンプルの血統と頭数がゲノム育種価の正確度に影響することが示唆された。

2 算出したゲノム育種価の精度検証

(1) ゲノム育種価と推定育種価の相関関係

岩手県有種雄牛 42 頭(推定育種価正確度 0.86~0.99)におけるゲノム育種価と推定育種価の相関係数は 0.50~

0.67 であった(図1)。

このうち、6 形質すべてにおいて推定育種価正確度が 0.95 を超えている 22 頭のゲノム育種価と推定育種価の相関係数は 0.75~0.95 と高い正の相関を示した(図2)。

推定育種価正確度が 0.95 に達していない種雄牛を含めた比較ではその相関係数が大きく低下した。推定育種価の正確度が 0.95 に達しない場合、後代のデータが少なくその種雄牛本来の能力を表していない可能性が考えられた。よって、ゲノム育種価と推定育種価を比較する場合、推定育種価の正確度が 0.95 以上の種雄牛であることが望ましいと考えられた。

この結果から、今回算出したゲノム育種価は、本県黒毛和種集団において、正確度が高い推定育種価と近似した値を示すことがわかった。

(2) 本県特有の血統におけるゲノム育種価の精度検証

ゲノム育種価の計算には 20 道県を含む共同研究関係機関の多様な血統のサンプルを利用している。特有な血統においては、他県のサンプルと血縁関係がない、もしくは血縁

表1 算出したゲノム育種価の正確度範囲

	枝肉重量	ローズ芯	バラ厚	皮下脂肪	推定歩留	脂肪交雑
種雄牛42頭	0.854~0.974	0.857~0.975	0.819~0.964	0.839~0.970	0.855~0.974	0.846~0.972
検定中29頭	0.870~0.921	0.873~0.923	0.839~0.901	0.857~0.913	0.872~0.922	0.864~0.917

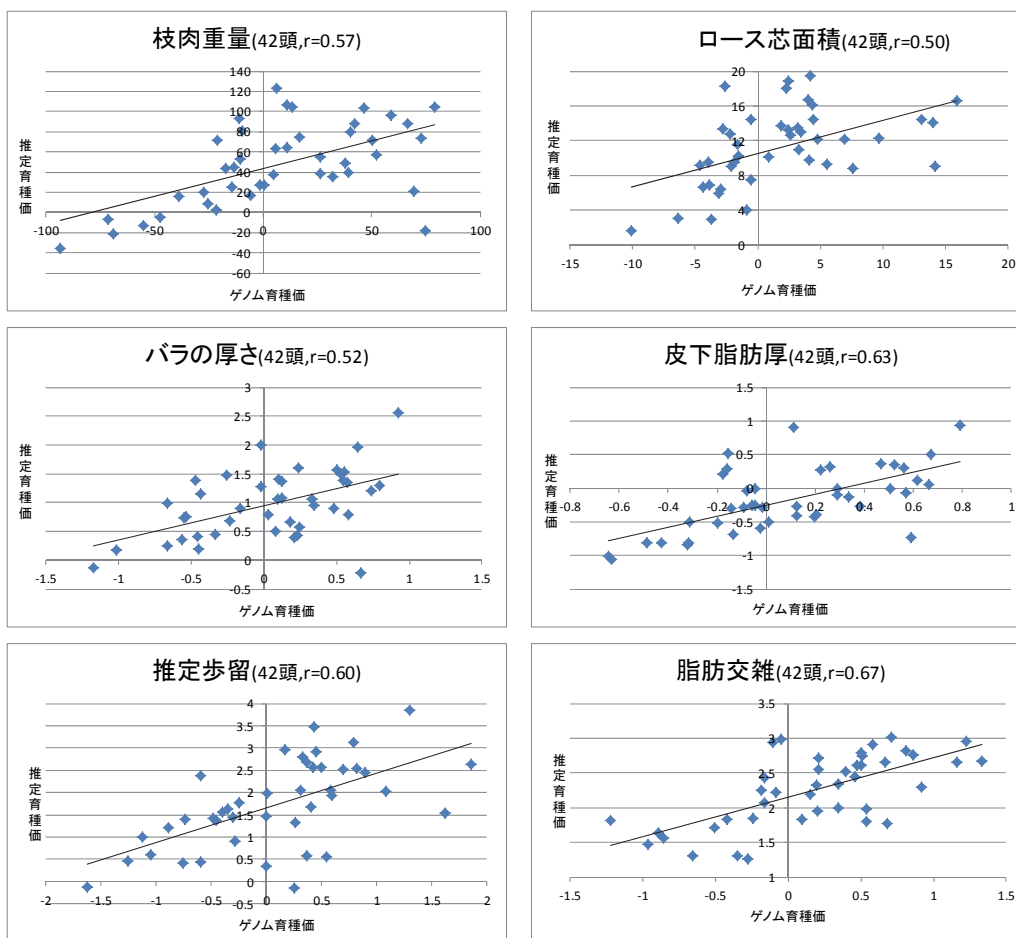


図1 岩手県有種雄牛42頭の枝肉6形質における推定育種価とゲノム育種価の相関図

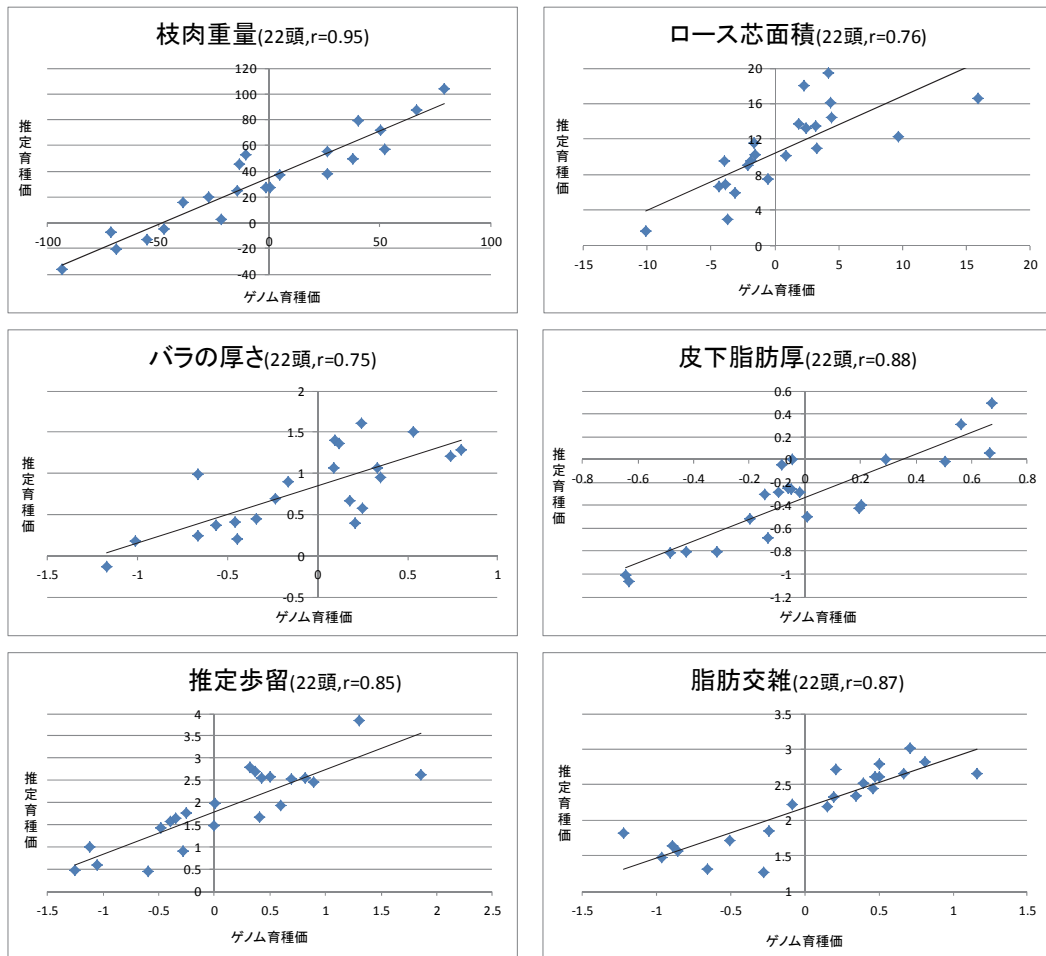


図2 岩手県種雄牛のうち、推定育種価正確度0.95以上の22頭の枝肉6形質における推定育種価とゲノム育種価の相関図

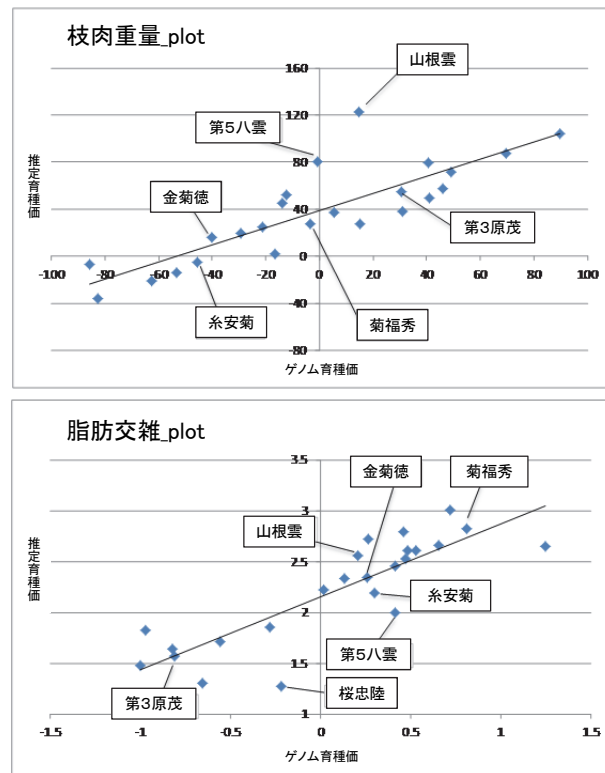


図3 岩手県特有の血統の種雄牛をプロットした相関図

表2 全きょうだいにおけるゲノム育種価と推定育種価

種雄牛		枝肉重量	脂肪交雑
雪乃花	ゲノム育種価	52.18	0.67
	推定育種価	57.03	2.66
桜銀次	ゲノム育種価	13.41	0.54
	推定育種価	104.73	1.98
選抜時期期待育種価		71.81	2.51

※推定育種価正確度は、雪乃花が0.99、桜銀次が0.89～0.93

※※ 期待育種価は両頭とも同じ値

が遠いため、他県のサンプル数を増やしても推定精度があらならない事例が報告されている⁸⁾ことから、計算により得られたゲノム育種価予測式の岩手県特有の血統への適合性を検討した。

岩手県特有の血統として菊谷の系統(菊福秀, 金菊徳, 秀福安)と, 寿高や第5夏藤の系統(第3原茂, 第5八雲, 山根雲)について, 枝肉重量及び脂肪交雑の2項目において, (1)で実施した推定育種価とゲノム育種価の相関図(図2)にプロットし, それぞれの種雄牛について, 回帰直線との残差, 標準化残差を計算し, 標準化残差の絶対値が2以上のデータを外れ値と判断した。

菊谷の系統(菊福秀, 金菊徳, 糸安菊)については概ね回帰直線に沿ったプロットとなったが, 第3原茂を除く第5夏藤の系統(第5八雲, 山根雲)の2頭において, 枝肉重量で大きく外れる結果となった。どちらも推定育種価に比べてゲノム育種価が過小評価となっていた(図3)。これらの標準化残差はそれぞれ4.72, 2.87と絶対値が2を大きく超えており, このデータが外れ値であると確認された。

山根雲, 第5八雲は, 血統的に増体系である気高系に属しており, 産子の発育も良好なものが多い。また, 枝肉重量のゲノム育種価の正確度は第5八雲で0.854, 山根雲で0.878と, 今回算出した種雄牛の中でも低い値を示していた。よって, この2頭の種雄牛の枝肉重量におけるゲノム育種価は過小評価である可能性が高いと考えられた。

今後, 血縁関係にあるサンプルを増やすことが必要と考えられる。

また, 脂肪交雑において, 桜忠陸の標準化残差が-2.88と絶対値が2を超え, 外れ値と確認された。桜忠陸は血縁関係にあるサンプルが多く存在し, 脂肪交雑の推定育種価正確度は0.976と0.95より高く, ゲノム育種価の正確度も0.903と高い。よって, 血縁関係にあるサンプル数では説明できない事例であった。

(3) 全きょうだいにおけるゲノム育種価と推定育種価

全きょうだいである雪乃花と桜銀次でゲノム育種価を比較した(表2)。

選抜時の期待育種価と推定育種価を比較すると, 脂肪交雑において, 雪乃花ではほぼ同値となったが, 桜銀次においては推定育種価が大幅に低い結果となった。ゲノム育種

価では, 雪乃花の方が桜銀次よりも高い値を示しており, 推定育種価と同様の傾向を示した。

一方, 枝肉重量においては, ゲノム育種価は雪乃花が高かったが, 推定育種価では桜銀次が高く, ゲノム育種価と推定育種価の傾向が逆転していた。特に桜銀次においてゲノム育種価と推定育種価に乖離が見られた。

雪乃花の推定育種価正確度は6形質すべてで0.99を超えているのに対し, 桜銀次の推定育種価正確度は0.89～0.93となっている。また, ゲノム育種価の正確度でも, 雪乃花が0.91～0.93であるのに対し, 桜銀次は0.84～0.87と低い値を示していた。推定育種価とゲノム育種価両方の正確度が低いことから, 桜銀次の能力推定精度が低かったものと考えられた。

このことから, これまで利用してきた期待育種価では差異を判断することができなかつた全きょうだいの産肉能力の差異を, ゲノム育種価判別できる可能性が示唆されたが, 今回の一例ではその精度の高さを証明したとは言えなかつた。

(4) 総合考察

今回算出したゲノム育種価は, 推定育種価と高い相関関係にあることが示された。また, 他道県においても同様の報告がされているが, 枝肉重量や脂肪交雑では, 一部の県を除き, 相関係数にして0.9前後の高い値を示していた⁹⁾。

このことから, 今回計算したゲノム育種価予測式による枝肉6形質の能力推定は岩手県の黒毛和種集団においても有効であることが示唆された。

一方で, 岩手県特有の一部血統においては, 近縁のサンプルが少ないためにゲノム育種価の信頼性が低いことが示唆されたことから, 現段階では当該血統についてはゲノム育種価を利用することが適切ではないと推察された。今後, 血縁関係にある肥育牛サンプルを収集しゲノム育種価計算に用いることで, 信頼性を高めることが必要と考えられた。

謝 辞

本研究の実施にあたりご指導ご協力をいただきました公益社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所の皆様から感謝いたします。

なお, 本研究はJRA日本中央競馬会特別振興資金事業「地域特性を生かした牛ゲノム選抜手法確立事業」の一環として, 公益社団法人畜産技術協会, 全農ET研究所, 一般社団法人家畜改良事業団および19道県との共同研究として実施した。

摘 要

肥育牛サンプル 19,108 頭の枝肉データと SNP 情報を利用し、岩手県有種雄牛を検証群としてゲノム育種価の計算を行った。推定育種価正確度 0.95 以上を有する県有種雄牛 22 頭の推定育種価と算出したゲノム育種価を比較したところ、その相関係数は枝肉 6 形質において 0.75~0.95 となり、高い正の相関を示した。

一方、岩手県特有の一部血統においては計算したゲノム育種価と推定育種価に大幅な乖離が見られたことから、今後は該当する血統の血縁関係にある肥育サンプルを多数集め解析することで、ゲノム育種価の精度を改善する必要がある。

11) 佐々木義之(2007). 和牛の選抜基準—外貌から遺伝子へ—. 動物遺伝育種研究 35:33-49.

引用文献

- 1) 秋山敬孝ら(2010). 但馬牛における経済形質に関わるゲノム解析～鶴山土井における QTL の効果検証～, 兵庫県農業技術総合研究センター研究報告. 46:1-4.
- 2) Browning BL, Browning SR(2008) . Haplotypic analysis of Wellcome Trust Case Control Consortium data. Human Genetics 123:273-280.
- 3) 古川恵ら(2004). 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 15:34-38.
- 4) Hazel LN(1943). The Genetic basis for constructing selection. Genetics 28:476-490.
- 5) Henderson CR(1963). Selection index and expected genetic advance. Statistics and Plant Breeding:141-163.
- 6) Johnson D.L., Thompson R (1995) . Restricted maximum likelihood estimation of variance components for univariate animal models using sparse matrix techniques and average information. J. Dairy Sci. 78 :449-456.
- 7) 小林直彦ら(2003). 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(1). 岐阜県畜産研究所研究報告 3:22-26.
- 8) 公益社団法人畜産技術協会(2017). 地域特性を生かした牛ゲノム選抜手法確立事業成果報告書.
- 9) Mizoshita K, Watanabe T, Hayashi H, Kubota C, Yamakuchi H, Todoroki J, Sugimoto Y (2004) . Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle. Journal of Animal Science 82: 3415-20.
- 10) 長峰慶隆(2012). SNP マーカーを用いたゲノム研究と今後の家畜育種. 日本畜産学会報 83:1-8.

