

黒毛和種飼料効率に関するゲノム解析

Genomic analysis about the feed efficiency of Japanese black

衛藤央好、渡辺直人、渡邊敏夫¹⁾、大塚高司、藤田達男、井上一之

要 旨

効率の高い肥育牛生産のためには、飼料利用性を向上させることが重要である。飼料利用性の向上には、飼養管理の改善とともに、遺伝的能力の改善が必要である。本解析の目的は、ウシの全ゲノム上に配置された約 5 万個の一塩基多型（SNP）の型を検査することにより、黒毛和種における飼料利用性に係わる量的形質遺伝子座（QTL）を染色体上に特定し、より精度の高い飼料利用性の遺伝的能力評価に貢献することである。

1. 飼料効率に関する余剰飼料摂取量（RFI）の解析を行った結果、その上位下位に血統による偏りがあることがわかったが、QTL 関連解析を行った結果、効果のある QTL は発見できなかった。
2. 各 RFI についてそれぞれ上位下位 15 % ずつの抽出が行われたが、大分県の結果において、但馬系種雄牛が優れていることが示唆された。

（キーワード：飼料効率、SNP、ゲノム解析、RFI、QTL）

背景及び目的

近年、トウモロコシのバイオエタノールへの利用などにより輸入飼料価格が高騰している。また、先の見えない不況により子牛市場価格・枝肉価格が伸び悩み、繁殖農家・肥育農家の経営を圧迫している。

一方、ウシゲノム解析の手法は著しく進歩してきており、近年では遺伝子マーカーとしてマイクロサテライト（MS）に代わり SNP を利用する手法が主流となってきた。

以上のことから、SNP を用いた全ゲノム解析を行い、飼料の利用性に係る有効な SNP が検出されれば飼料効率の改善に資するところが大きいと考えられる。本試験では、種雄牛の直接検定で収集される余剰飼料摂取量（residual feed intake、RFI）を始めとした飼料効率データを用い、QTL 関連解析を行うことで、黒毛和種における飼料利用性に係わる QTL の特定が可能かどうか検討した。

材料及び方法

共同研究相手方は（社）畜産技術協会附属動物遺伝研究所（遺伝研）。

共同研究グループには大分県を始め、種雄牛を有する各県及び家畜改良事業団が参加した。

それぞれ 2002 年度以降に実施した黒毛和種の直接検定牛の血液を採取し、遺伝研に送付する。

遺伝研は全国和牛登録協会（全和）から、個体毎の飼料効率データ（生年月日、直接検定開始年月日、終了年月日、濃厚飼料 RFI、粗飼料 RFI、DCP RFI、TDN RFI）を統合し、全参加機関と連携を密にしつつ解析対象の表現値を決め、DNA マーカー解析対象個体の選定を行う（父方半きょうだい数の制限、季節要因の影響、正規分布の度合いなどを検定し、成績上位下位 200 個体、合計 400 頭を選抜）。解析対象とする形質は RFI とし、濃厚飼料 RFI、粗飼料 RFI、TDN RFI を独立に解析した。表現型は全和に

1) 社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所

より算出された 3 形質の育種価を用いた。

ウシの SNP 型判定は Illumina 社製 Bovine 50K SNP チップを用いた。サンプルは、各 RFI 分布の上位、下位に属する個体の中から選択した。具体的には 2,141 頭より、3 形質の上位 15%及び下位 15%から、半きょうだい数をカテゴリーあたり最大 3 頭までとして抽出した。血縁個体が対象の中に多く含まれると「集団の構造化」を生じ、偽陽性結果が多くなると考えられる。

抽出個体頭数は表 1 の通り。3 形質間で個体の重複があるため、合計は 438 頭となる。

SNP の QTL との関連解析には EMMAX プログラム (Efficient Mixed-Model Association eXpedite, Kang *et al. Nat. Genet.* 2010) を用いた。同ソフトウェアは SNP

	上位	下位
濃厚飼料RFI	144	144
粗飼料RFI	142	144
TDN RFI	119	144

表 1. 選択対象個体頭数

の効果を検定するのに混合モデルを用いるが、分子血縁係数行列の代わりとして SNP データからゲノム関係行列を作成して利用する機能がある。同ソフトウェアは最初に一度だけ遺伝分散を推定した後、逐次 SNP の効果を検定していく。

結果及び考察

QTL 関連解析には 54,001 個の SNP 型判定の結果のうち、多型性の低い（小数側が 5%を下回る）ものを除き、さらに Herdy-Weinberg 平衡から乖離しているものを除いた 39,416 個を用いた。

解析ソフトウェア EMMAX による解析の結果、P 値が 10^{-4} を下回った SNP が 40 ~ 50 個得られた。それらを形質毎に表 2 ~ 4 に示した。

染色体番号	染色体位置(Mb)	アレル置換効果(*過大評価)	P値
1	6.3	10.4	8.1E-05
1	7.7	-12.8	3.1E-04
2	45.5	-7.0	1.5E-04
3	42.3	7.0	1.5E-04
4	98.1	14.8	1.6E-04
5	99.6	10.7	1.7E-04
5	112.0	7.4	9.1E-05
5	112.9	6.8	2.3E-04
5	115.0	7.9	3.3E-05
5	115.0	8.1	5.3E-05
5	115.2	7.3	2.0E-04
5	115.3	7.4	1.3E-04
5	116.2	7.6	3.5E-05
5	116.2	6.8	3.2E-04
5	117.6	7.3	8.4E-05
5	120.5	8.4	6.7E-05
5	122.4	7.2	2.8E-04
7	0.8	7.6	9.2E-05
7	0.8	7.6	9.2E-05
8	35.1	-9.3	3.7E-04
9	83.8	-7.6	3.4E-04
10	57.0	-7.9	3.6E-04
10	57.0	-7.1	3.8E-04
11	83.9	8.8	2.0E-05
13	34.6	7.5	1.2E-04
13	34.7	7.6	1.1E-04
13	77.8	8.4	3.5E-05
14	16.0	7.9	6.0E-05
16	44.8	7.4	1.7E-04
16	60.3	9.2	5.2E-05
16	60.7	10.4	9.4E-05
17	66.6	7.9	1.4E-04
19	15.5	-25.6	3.8E-04
22	44.9	-11.2	9.6E-05
22	47.8	-6.6	3.6E-04
22	58.6	7.6	5.9E-05
26	0.7	10.8	3.8E-04
27	34.1	16.1	6.5E-05
0	0.0	6.9	2.6E-04
0	0.0	8.0	2.6E-04

表 2. 濃厚飼料 RFI

染色体番号	染色体位置(Mb)	アレル置換効果(*過大評価)	P値
1	5.8	20.1	3.8E-04
1	24.6	-14.8	4.5E-04
1	109.1	-9.6	7.6E-04
2	114.1	12.8	1.2E-04
3	15.7	10.8	3.2E-04
3	121.3	-24.0	4.4E-04
4	26.1	7.3	2.3E-04
4	29.8	-7.9	2.4E-04
4	37.1	8.6	1.1E-04
4	38.2	11.1	2.1E-06
4	62.4	7.3	7.8E-05
5	73.1	-8.0	7.1E-04
5	90.5	-20.7	1.3E-04
5	111.1	-7.6	1.1E-04
6	25.3	-10.3	1.8E-05
6	27.9	6.9	5.9E-04
6	56.5	-7.4	4.9E-04
6	122.2	-7.0	5.4E-04
8	86.6	-6.3	4.3E-04
9	4.6	-7.5	5.1E-04
10	7.1	7.1	7.4E-04
10	16.2	-6.9	6.9E-04
10	32.2	-7.1	1.9E-04
11	47.6	-8.2	5.1E-04
11	70.9	-13.1	6.7E-04
13	5.2	-13.3	6.1E-04
13	22.8	-7.7	3.8E-04
13	42.0	7.7	1.0E-04
13	82.8	-7.5	5.3E-04
15	61.2	11.3	7.1E-04
15	78.4	-8.5	4.4E-05
21	29.1	-9.8	4.3E-05
22	39.4	7.9	1.6E-04
23	47.7	-14.6	9.6E-06
27	38.7	-7.1	2.5E-04
28	6.7	14.5	1.5E-04
28	21.0	-19.8	1.4E-04
28	24.7	-8.9	5.7E-04
29	41.4	13.5	5.6E-04
0	0.0	18.7	4.4E-04

表 3. 粗飼料 RFI

染色体番号	染色体位置(Mb)	アレル置換効果(*過大評価)	P値
1	1.4	5.1	1.5E-04
2	116.7	-12.1	2.0E-05
3	7.1	4.6	8.5E-05
3	33.6	-4.6	3.5E-04
4	49.5	4.3	2.6E-04
4	83.0	-5.4	1.1E-04
4	106.3	4.4	2.8E-04
5	62.5	4.5	1.6E-04
5	112.6	4.7	4.9E-05
5	123.9	-8.1	2.0E-05
6	37.0	4.8	2.1E-04
6	82.2	20.0	4.7E-06
7	44.5	7.6	3.9E-04
8	44.3	4.9	1.9E-04
8	54.3	-4.8	3.1E-04
8	57.2	4.0	3.0E-04
9	74.9	5.2	1.1E-04
10	38.9	-4.6	1.3E-04
10	62.3	-5.9	3.4E-06
10	81.9	5.1	6.5E-06
11	20.4	4.0	2.6E-04
11	75.3	4.5	2.7E-04
11	96.1	-8.1	4.8E-05
12	10.4	-6.3	4.4E-04
12	42.3	-15.5	3.3E-04
13	42.1	-4.5	2.0E-04
13	72.8	4.6	3.4E-04
14	67.7	-7.6	3.7E-07
14	68.1	-7.7	1.8E-04
16	0.9	4.7	8.5E-05
16	73.0	-6.5	3.3E-04
20	20.4	5.5	1.1E-04
20	22.0	-16.1	2.6E-04
23	44.3	-9.2	2.5E-05
24	13.4	5.5	2.7E-05
25	13.4	-4.8	3.2E-04
25	39.2	-4.4	2.8E-04
27	19.6	5.0	1.6E-04
29	6.5	7.0	2.0E-04
29	13.7	20.0	6.1E-06

表 4. TDN RFI

濃厚飼料RFI上位	安平土井
濃厚飼料RFI下位	清竜、昇龍、鶴平、大之国、重福茂、初美平茂、福栄竜
粗飼料RFI上位	実穂安平、隆安鶴、安平土井、清竜、福之藤、湯布安平
粗飼料RFI下位	大之国、玉吹雪、寿恵高福、松藤、英長、寿孝福、糸茂定
TDNRFI上位	安平土井、実穂安平、隆安鶴、湯布安平
TDNRFI下位	糸茂定、大之国、重福茂、福栄竜、満清福、英春丸、佐華福、鶴平

表 5. 大分県種雄牛の RFI 各上位 15%

QTL 関連解析には 54,001 個の SNP 型判定の結果のうち、多型性の低い（小数側が 5%を下回る）ものを除き、さらに Herdy-Weinberg 平衡から乖離しているものを除いた 39,416 個を用いた。

解析ソフトウェア EMMAX による解析の結果、P 値が 10^{-4} を下回った SNP が 40 ~ 50 個得られた。それらを形質毎に表 2 ~ 4 に示した。

同 QTL 解析時には、集団の構造化が原因と考え

られる検定統計量のインフレーションが起きていたことが確認された。本試験では、構造化を反映する SNP データの主成分による補正ではなく、EMMAX が SNP 型から作成したゲノム関係行列による補正を行うことで、統計量のインフレーションを抑えることが出来た。尚、今回同ソフトウェアが推定した遺伝分散は表型値として育種価を用いていること、分布の上位下位からサンプリングしていることか

ら、正しい意味の遺伝分散ではなく、あくまで統計検定のための手順の一つである。

個々の SNP については、アリル置換効果が推定されているが、これらの値は分布の上位下位を選択しているため、強調されている。正確な置換効果の推定には分布の全体を検査する必要がある。

現時点で得られた P 値は期待値からの乖離の度合いが大きいとはいえ、QTL 遺伝子の有力な候補が得られたとはいえない。5 番、11 番、16 番染色体の SNP 近傍にはそれぞれアコニターゼ 2、コエンザイム Q4 ホモログ、*CACNA1E*（カルシウムチ

ャンネルサブユニット）など、糖代謝、脂質代謝に関与する遺伝子が存在するものの、未だこれらの遺伝子の変異を同定できてはいない。例えば枝肉重量に効果のある QTL は 3 つあることから、飼料効率についても複数の QTL による何らかの関係がある可能性がある。

また、濃厚飼料、粗飼料および TDN の RFI についてそれぞれ上位下位 15 % ずつの抽出が行われたが、その中の大分県の直検選抜牛を表 5 に示す。

この結果から、3 項目全ての RFI において但馬系種雄牛が優れていることが示唆された。