

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月9日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2009～2011

課題番号：21248031

研究課題名（和文）ゲノムクス情報を活用したブタの飛躍的改良を目指した育種システムに関する研究

研究課題名（英文）Research on breeding system that aims at rapid improvement of pigs using genomics information

研究代表者

鈴木 啓一（SUZUKI KEIICHI）

東北大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：10344706

研究成果の概要（和文）：ブタの量的形質（産肉、肉質形質など）を支配する遺伝子座(QTL)を特定して改良効率を飛躍的に高める方法を開発することを目的とした。デュロック種集団を対象とした QTL 解析とファインマッピングの結果、レプチンレセプター遺伝子を脂肪蓄積に関する遺伝子として第6染色体に、SCD 遺伝子を脂肪酸（C18:0 と C18:1）に関する遺伝子として第14番染色体に特定した。SCD 遺伝子の SNP を用いて脂肪酸のオレイン酸の改良量を比較検討した結果、時間当りの改良量は、SNP 情報を活用した選抜システムの効率が高いことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to specify genetic locus (QTL) that controlled quantitative traits such as meat production and meat quality traits, and to develop the method of rapidly increasing the improvement efficiency in pigs. The leptin receptor gene (LEPR) was specified on the sixth chromosome for a gene concerning the fat accumulation, and SCE gene was specified on the 14th chromosome for a gene concerning the fatty acid (C18:0 and C18:1), as a result of QTL analysis and a fine-mapping for Duroc purebred population. Simulation analysis on the efficiency of improvement for the oleic acid (C18:1) resulted that the selection system that used SNP information was highest in the efficiency of improvement.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	9,100,000	2,730,000	11,830,000
2010年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
総計	15,900,000	4,770,000	20,670,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・畜産学・草地学

キーワード：ブタ、肉質、育種システム、ゲノム情報

1. 研究開始当初の背景

(1) ブタの育種改良は、これまで統計遺伝学的手法により進められ、ゲノム情報はブラックボックスであった。しかし、近年、ゲノ

ム情報を考慮することで、肉質形質などを非破壊的に改良する可能性が高まってきた。

(2) 従来、産肉、肉質形質などの QTL (量的形質遺伝子座) を特定するため、ブタでは形

質の表現型値が極端に異なる2品種の交雑による雑種第一代 (F_1)、雑種第二代 (F_2) を対象とした QTL 解析が行われてきた。しかし、 F_2 集団で検出された QTL 情報を純粋種の改良に直接利用することは困難である。純粋種の改良にゲノム情報を活用するためには、純粋種で QTL 解析を行う必要があるが、国内外とも純粋種の QTL 解析の実績は少ない。

2. 研究の目的

(1) 本研究は、国内で行われている系統造成のブタを対象とした純粋種での QTL 解析を行い、産肉、肉質に関与する遺伝子の特定を行う。

(2) QTL 解析の結果得られるゲノム情報を純粋種の改良に利用するマーカーアシスト選抜法により、従来以上に飛躍的に改良効率を高められるブタの系統造成システムの開発を目的とする。

3. 研究の方法

(1) QTL 解析の対象とした品種は、デュロック種系統造成集団である。選抜形質である一日平均増体量、ロース断面積、背脂肪厚および筋肉内脂肪、体尺測定形質、枝肉形質、肉質形質、生理的形質を解析対象形質とした。このうち、肉質形質は調査豚のみで、また、生理的形質は選抜後期世代 (5~7 世代) の個体のみで測定している。この造成集団のうち基礎豚から第 7 世代の計 8 世代の家系構造からなる 1004 頭の集団を QTL 解析に用いた。この集団は、すべての個体間で血縁関係がある多世代家系集団である。

(2) マイクロサテライトマーカーは、USDA Meat-Animal Research Center 連鎖地図より常染色体上の多型性のある 120 マーカーおよび新規に作成した 9 マーカーの計 129 マーカーを用いて全個体で遺伝子型判定を行った。連鎖地図を作製した結果、全体で 2091.4 cM となり、平均マーカー間隔は 16.2 cM となった。

(3) 分散成分分析法により QTL 解析を行った。形質に与える効果のうち、遺伝的な部分を QTL 効果とポリジーン効果に分け、QTL 効果は IBD (同祖性) 係数を用い、ポリジーン効果は分子血縁行列を用いることで、ポリジーン効果を考慮に入れて QTL 領域を推定した。IBD 係数は予め、MCMC 法を用いる LOKI プログラムで、選抜世代と性の母数効果を VCE プログラムで推定し、SOLAR プログラムにより 1cM ごとに LOD スコアを計算した。

(4) 遺伝子型情報を利用した育種システムの改良効率について明らかにすることを目的に、異なる血縁個体が表現型値と遺伝子型をもつ選抜システムを複数設定し、数値シミュレーションによる改良効率の比較を行った。

ユレーションによる改良効率の比較を行った。

① 分析対象形質は、皮下脂肪外層の C18:1 (オレイン酸) 含有割合に対する SCD 遺伝子の効果とした。SCD 遺伝子座のパラメータとして、オレイン酸割合の低い方のホモ遺伝子型の値を +a、もう一方のホモ遺伝子型の値を -a、ヘテロ接合体の値を +d としたとき、この形質の a は 0.90、d は 0.15、また、改良対象となる (オレイン酸割合の低下効果をもつ) 対立遺伝子の遺伝子頻度は 0.279 であった。

② 表現型の情報のみを利用した選抜モデル (P1~P4) と遺伝子型選抜または遺伝子型と表現型の組み合わせた選抜モデル (G1~G3) のうち、P1~P4 における選抜反応については、Hazel (1943) による選抜指数法を用いて、世代あたりの改良量の算出式を作成した。

G1~G3 による選抜反応は、世代あたりの改良量から、世代間隔を考慮した単位時間 (半年) あたりの改良量を求めた。モデルに含めた情報は表 1 に示した。

表 1. QTL 遺伝子型情報と表現型情報を利用した選抜モデル

モデル	遺伝子型		表現型	
	情報源1	情報源2	情報源1	情報源2
G1	IND	—	—	—
G2	IND	PHS	—	PHS
G3	IND	HS	—	HS
P1	—	—	IND	—
P2	—	—	HS	—
P3	—	—	HS	PHS
P4	—	—	HS	PRG (HS/FS)

IND: 個体, PHS: 両親半きょうだい, HS: 半きょうだい, FS: 全きょうだい, PRG: 後代

4. 研究成果

(1) 本研究では、12 個の Significant QTLs および 51 個の Suggestive QTLs を検出した。選抜形質に関しては、背脂肪厚およびロース断面積で Significant QTLs が検出され、一日平均増体量および筋肉内脂肪で Suggestive QTLs が検出された。他の相関形質については、胸椎数が最も高い値を示し、体長関連形質も同様に第 7 番染色体上で QTL が検出された。また、相関形質である成長形質、体尺形質、枝肉形質、生理的形質および肉質形質においても複数の Suggestive QTLs および Significant QTLs が検出された。

(2) 画像解析により推定した脂肪面積割合は、遺伝的な寄与が比較的高いことを示した。これらのことから、画像解析による脂肪面積割合についても同集団を用いて QTL 解析を行った結果、4 個の Significant QTLs および

12個の Suggestive QTLs が検出された。特に、各部位での皮下脂肪面積割合および全脂肪面積割合については、第 6 番染色体上の同様の領域で QTL が検出された(図 1)。

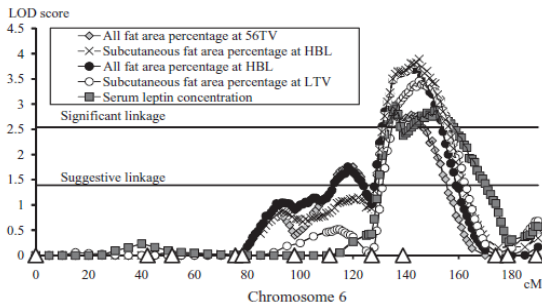


図 1 第 6 番染色体の QTL 解析結果

この領域にはレプチン受容体(LEPR)遺伝子が候補遺伝子として存在していた。LEPR 遺伝子内の SNP 探索を行い、各形質との関連性について調査した。本集団では、LEPR 遺伝子上の第 4 および 14 エキソン領域内にアミノ酸置換を伴う一塩基多型(SNP)が 4 つ検出された。これら 4 つの SNP と脂質関連形質との関係を調査したところ、第 14 エキソン上に存在する c.2002C>T SNP が強い有意性を示した。この SNP は、脂質関連形質の中でも、特に、背脂肪厚、皮下脂肪面積割合、全脂肪面積割合、および血中レプチン濃度について強い有意性を示し、品種内でも多型性があり効果があることが示唆された(表 2)。

表 2. 脂肪蓄積に関する LEPR 遺伝子 SNP の効果

	LRT	df	P-value	additive		dominance		V _{SNP} /V _a
				mean	SE	mean	SE	
Exon 14(c.2002C>T)								
第5-6胸椎 皮下脂肪割合	37.72	2	6.43E-09	0.61	0.36	-1.29	0.40	0.106
筋肉間脂肪割合	27.56	2	1.04E-06	0.79	0.29	-0.45	0.33	0.213
全脂肪割合	61.23	2	5.05E-14	1.40	0.47	-1.75	0.52	0.226
体長1/2部 皮下脂肪割合	58.67	2	1.82E-13	1.66	0.35	-0.54	0.39	0.276
筋肉間脂肪割合	15.19	2	5.03E-04	0.69	0.28	-0.15	0.32	0.118
腹部脂肪割合	16.01	2	3.33E-04	0.70	0.25	-0.03	0.28	0.154
全脂肪割合	78.12	2	1.09E-17	3.01	0.53	-0.75	0.58	0.393
最後胸椎部 皮下脂肪割合	51.27	2	7.37E-12	1.71	0.40	-0.66	0.45	0.234
筋肉間脂肪割合	17.07	2	1.96E-04	0.65	0.25	-0.07	0.28	0.208
腹部脂肪割合	20.52	2	3.49E-05	0.62	0.25	-0.30	0.28	0.110
全脂肪割合	71.62	2	3.33E-16	2.94	0.58	-1.09	0.64	0.390
その他								
BF	88.63	2	5.66E-20	0.15	0.03	-0.13	0.03	0.227
8wBF	97.30	2	7.43E-22	0.61	0.14	-0.62	0.15	0.236
leptin	34.22	2	3.71E-08	1.28	0.66	-1.02	0.70	0.387

V_{SNP}/V_a: 全遺伝分散に占める SNP 効果分散の割合

(3) 肉質の食味性に影響する脂肪酸組成および脂肪融点の QTL 解析を行った結果、10 個の Significant QTLs および 30 個の Suggestive QTLs が検出された。特に、皮下脂肪および筋肉内脂肪におけるステアリン酸(C18:0)、オレイン酸(C18:1)、および脂肪融点については、第 14 番染色体上の同様の領域で QTL が検出された(図 2)。この領域には

脂肪酸不飽和化酵素(SCD)遺伝子が候補遺伝子として存在していた。この SNP は、品種間交雑集団を用いたファインマッピングによりその有意性が報告されている。

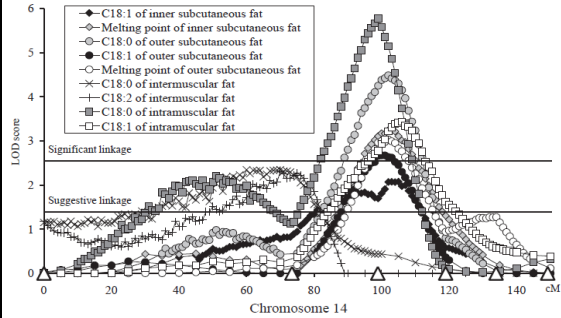


図 2 第 14 番染色体の QTL 解析結果

SCD 遺伝子上のエキソン領域には SNP は検出されなかったが、プロモータ領域には 2 つの SNP(g.-353C>T および g.-233T>C)が検出された。また、この 2 つの SNP は連鎖不平衡の関係にあった。この SNP と脂肪酸組成および脂肪融点との関係を調査したところ、特に背脂肪および筋肉内脂肪における C18:0、C18:1 および脂肪融点で強い有意性を示した。品種内でも多型性があり効果があることが示唆された。候補遺伝子解析の結果、全遺伝分散に占める SNP の効果 (V_{SNP}/V_a) は、各組織で異なるが C18:1 に対して 9%~30.5% の寄与率であり、特に筋肉内脂肪の C18:1 に関して効果の大きい遺伝子であることが示された(表 3)。

表 3. 脂肪酸に関する SCD 遺伝子 SNP 解析結果

形質	LRT	P-value	相加的效果		優性効果		寄与率
			Mean	SE	Mean	SE	
内層							
C14:0	4.3	1.19E-01	0.03	0.03	-0.03	0.03	0.034
C16:0	9.0	1.10E-02	0.37	0.13	0.08	0.16	0.055
C16:1	5.4	6.86E-02	-0.13	0.06	-0.04	0.07	0.028
C18:0	21.5	2.16E-05	0.54	0.14	-0.11	0.18	0.099
C18:1	24.1	5.92E-06	-0.77	0.18	0.01	0.22	0.170
C18:2	0.3	8.45E-01	0.02	0.13	0.10	0.16	0.000
融点	52.7	3.51E-12	1.34	0.20	-0.05	0.25	0.223
外層							
C14:0	0.4	8.18E-01	0.02	0.03	0.01	0.04	0.004
C16:0	1.9	3.86E-01	0.11	0.13	0.22	0.16	0.000
C16:1	5.9	5.17E-02	-0.15	0.07	0.00	0.09	0.032
C18:0	52.4	4.10E-12	0.80	0.12	0.11	0.14	0.221
C18:1	36.4	1.22E-08	-0.90	0.16	-0.15	0.20	0.241
C18:2	4.9	8.65E-02	0.14	0.13	-0.18	0.16	0.018
融点	48.0	3.80E-11	1.22	0.20	-0.10	0.25	0.271
筋肉間脂肪							
C14:0	1.4	5.00E-01	0.03	0.03	-0.02	0.04	0.014
C16:0	5.2	7.41E-02	0.27	0.14	-0.05	0.17	0.022
C16:1	5.1	7.86E-02	-0.15	0.07	-0.08	0.08	0.022
C18:0	12.6	1.81E-03	0.43	0.14	-0.07	0.18	0.061
C18:1	18.6	9.01E-05	-0.70	0.19	0.11	0.24	0.090
C18:2	1.2	5.62E-01	0.10	0.12	0.15	0.15	0.000
筋肉内脂肪							
C14:0	1.3	5.11E-01	0.02	0.02	0.02	0.03	0.006
C16:0	6.2	4.46E-02	0.12	0.11	-0.19	0.14	0.035
C16:1	14.5	7.13E-04	-0.18	0.07	0.02	0.08	0.051
C18:0	69.8	6.66E-16	0.69	0.10	-0.16	0.12	0.314
C18:1	38.7	3.87E-09	-0.78	0.16	0.21	0.19	0.305
C18:2	0.9	6.44E-01	0.13	0.10	0.11	0.12	0.006

V_{SNP}/V_a: 全遺伝分散に占める SNP 効果分散の割合

(4) 解析対象集団では選抜形質として改良された筋肉内脂肪(IMF)に関する QTL 解析の結果、第 13 番染色体に有意な領域が検出された。マイクロサテライトマーカーを増や

してファインマッピングを行った結果、LODスコアを5.71まで高めることができた(図3)。

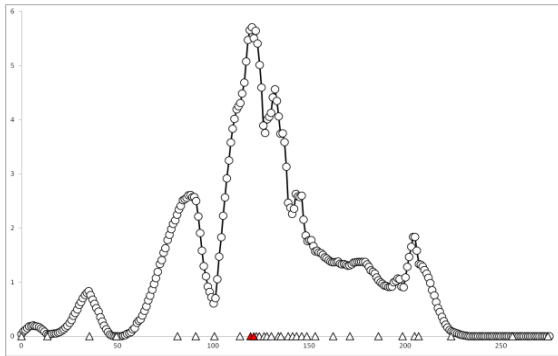


図3. 第13番染色体のQTL解析結果

QTL領域にはPPARG遺伝子およびghrelin遺伝子が存在した。そこで、PPARGのExon2、ghrelinのExon3にアミノ酸置換を伴うSNPが存在することから候補遺伝子解析を行った。その結果、2遺伝子のSNP間で有意差は検出できなかった(表4)。

表4. IMFに関する候補遺伝子解析結果

形質	遺伝子	LRT	P-value	相対的効果		優性効果		寄与率
				Mean	SE	Mean	SE	
IMF	PPARG_ex2	2.57	2.76E-01	0.34	0.21	0.29	0.23	0.015
	ghrelin_ex3	1.99	3.70E-01	0.15	0.12	0.18	0.15	0.005

V_{snp}/V_a : 全遺伝分散に占めるSNP効果分散の割合

QTL領域にさらに新規マーカーを32個まで増やしてタイピングとQTL解析を行った結果、1.53cM(500kbp)までQTL領域を絞り込んだ。NCBIデータベースによるとこの領域にはCLSTN2遺伝子が存在した。この遺伝子の脂肪蓄積や脂質代謝との直接的な生理的機能は解明されておらず今後の課題である。

(5) 本研究で用いたデユロック種系統造成集団では、第7番染色体に、胸椎数に関して高度に有意(LODスコア27)なQTLを検出している。このQTL領域には胸椎数の変異に関与するVRTN遺伝子が特定されている。そこで、VRTN遺伝子の原因SNPの効果について、検討した。その結果、胸椎数に関しては、全遺伝分散の95.3%を説明する極めて大きな効果の遺伝子であることを確認した(未発表、表5)。

表5. VRTN遺伝子内SNPの効果

形質	LRT	P-value	相対的効果		優性効果		寄与率
			Mean	SE	Mean	SE	
と体長	23	1.03E-05	0.78	0.17	0.21	0.21	0.112
ロース長	77.1	0.00E+0.0	1.17	0.14	0.44	0.17	0.353
胸椎数	233.8	0.00E+0.0	0.57	0.03	0.13	0.04	0.953

V_{snp}/V_a : 全遺伝分散に占めるSNP効果分散の割合

(6) (3)で検出したSCD遺伝子のSNPマーカーを利用したMAS(マーカーアシスト選抜)による単位時間当たりの改良量を算出し、改良速度を検討した。その結果、世代当たりの改良量は半きょうだいと後代の情報を組み合わせた選抜システムが最も高く、次いで遺伝子型と表現型の組み合わせ選抜が高かった。しかし、時間当たりの改良量では、遺伝子型を考慮した選抜が最も高かった。

(7) 各選抜システムの世代当たりの改良量を、表現型選抜(P1)の改良量からの偏差でみたものが図4である。表現型選抜の改良量を上回る改良量を示した選抜システムはP4とG2であったが、P4とG2の差は大きく、G2は若干P1を上回る程度の改良量を示しただけであった。

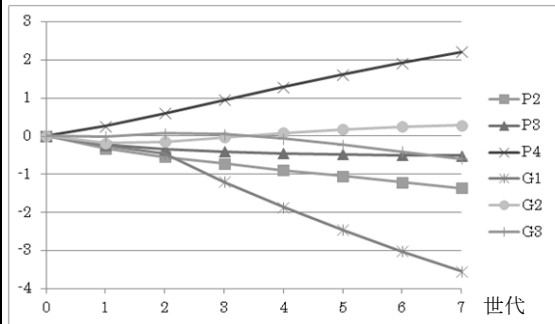


図4. 各選抜システムの世代ごとの改良量における偏差表現型選抜(P1)からの偏差

時間単位の改良量をP1からの偏差で見たものを図5に示した。P1の改良量と比較し、高い改良速度を示したのはG2とP4で、残りの4選抜システムはすべてP1よりも低い改良速度を示した。

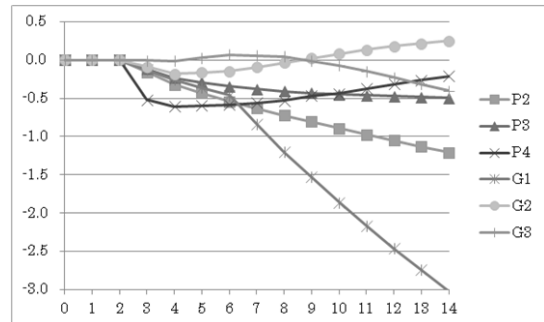


図5. 各選抜システムの時間単位ごとの改良量における偏差表現型選抜(P1)からの偏差

以上、本研究の結果、従来検討がなされてこなかったブタの純粋種について、多くの産肉、肉質及び生理的形質についてのQTL解析

は世界でも初めてであり、特に、脂肪蓄積と脂肪酸組成に関するQTLを検出し、ファインマッピングを行うことで遺伝子が特定された。この情報を純粋種の育種改良に利用できる可能性が出てきた意義は極めて大きい。

さらに、遺伝子情報を活用した遺伝子型選抜は、選抜個体自身の表現型値が得られない場合に有効な方法と考えられた。これは、遺伝子情報の利用は、表現型値の測定が制限される、遺伝率の低い、表現型値の測定にコストがかかる、測定のためには世代間隔の長期化するなどの場合に有効であるという先行研究の結果と一致した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

1. Uemoto, Y., Y. Soma, S. Sato, T. Shibata, H. Kadowaki, K. Katoh, E. Kobayashi and K. Suzuki, Mapping QTL for fat area ratios and serum leptin concentration in a Duroc purebred population. Anim. Sci. J., 83, 2012, 187-193. 査読有 .
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1740-0929.2011.00951.x/pdf>
2. Uemoto, Y., H. Nakano, T. Kikuchi, S. Sato, M. Ishida, T. Shibata, H. Kadowaki, E. Kobayashi and K. Suzuki, Fine mapping of porcine chromosome 14 QTL and SCD effects on fatty acid composition and melting point of fat in a Duroc purebred population. Anim. Genet, 43, 2012, 225-228. 査読有 .
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2052.2011.02236.x/pdf>
3. Uemoto, Y., Y. soma, S. Sato, M. Ishida, T. Shibata, H. Kadowaki, E. Kobayashi and K. Suzuki, Genome-wide mapping for fatty acid composition and melting point of fat in a Duroc purebred population. Anim. Genet.,42, 2012, 27-34. 査読有 .
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2052.2011.02218.x/pdf>
4. Soma, Y., Y. Uemoto, S. Sato, T. Sibata, H. Kadowaki, E. Kobayashi and K. Suzuki, Genome-wide mapping and identification of new quantitative trait loci affecting meat production, meat quality, and carcass traits within a Duroc purebred population. J. Anim. Sci., 89, 2011, 601-608. 査読有
<http://jas.fass.org/content/89/3/601.full.pdf+html?sid=9fb7c3ed-1ddc-498b-a65f-51867263635d>.

[学会発表] (計5件)

1. 及川卓郎、鈴木啓一、上本吉伸、小林栄治、デュロック集団における遺伝子情報を利用した改良システムの比較、第112回日本畜産学会講演要旨、p165、名古屋大学、2012.3.28-29
2. 中野光、上本吉伸、菊池隆、佐藤周史、柴田知也、門脇宏、小林栄治、鈴木啓一、脂肪に関与する第13番染色体上遺伝子の探索、第112回日本畜産学会講演要旨、p168、名古屋大学、2012.3.28-29.
3. Uemoto, Y. Nakano, H. Kikuchi, T. Soma, Y. Sato, S. Shibata, T. Kadowaki, H. Kobayashi, E. and Suzuki, K. Genome-wide mapping and SCD gene effects for fatty acid composition and melting point of fat in a Duroc purebred population. 62nd Annual Meeting of the European Federation of Animal Science. Book of abstract No.17 (2011) p398. 29 August -2 September 2011. Stavanger, Norway.
4. Nakano, H. Uemoto, Y. Kikuchi, T. Sato, S. Shibata, T. Kadowaki, H. Kobayashi, E. and Suzuki, K. Candidate gene alalysis and fine mapping of quantitative trait loci for intramuscular fat content on SSC 13 in a Duroc purebred population. 62nd Annual Meeting of the European Federation of Animal Science. Book of abstract No.17 (2011) p397. 29 August -2 September 2011. Stavanger, Norway.
5. Y. Uemoto, Y. Soma, S. Sato, T. Shibata, H. Kadowaki, E. Kobayashi, and K. Suzuki, Identification of new quantitative trait loci affecting meat production, meat quality, and carcass traits within a Duroc purebred population 32th ISAG, 7.26-30, 2010. Edinburg. UK.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 啓一 (SUZUKI KEIICHI)
東北大学・大学院農学研究所・教授
研究者番号：10344706

(2) 研究分担者

及川 卓郎 (OIKAWA TAKURO)
琉球大学・農学部・教授
研究者番号：90160407

(3) 連携研究者

小林 栄治 (KOBAYASHI EIJI)
独立行政法人家畜改良センター・技術部・課長
研究者番号：00186727