

血統情報と SNP 情報を用いた但馬牛の系統分類の比較

秋山敬孝*・小浜菜美子*・坂瀬充洋*・岡 章生*・福島護之*

要 約

兵庫県産黒毛和種牛（以下但馬牛と呼ぶ）について、ゲノム全体に分布する一塩基変異（以下 SNP と呼ぶ）を用いた系統分類を実施し、但馬牛のジーンドロッピング法（以下 GD と呼ぶ）による分類と比較した。

- 1 SNP によって但馬牛を分類することが可能であった。
- 2 SNP 分類は種雄牛の遺伝子型の影響が強かった。
- 3 SNP 分類と GD の主成分の相関係数は約-0.7, 0.6（第 1, 第 2 主成分）であり SNP 分類は GD と相関が高かった。
- 4 SNP 分類の主成分の累積寄与率は 12.6%であった。
- 5 子牛の SNP 分類第 1, 第 2 主成分の父母平均期待値との相関係数は 0.99, 0.98 であり、後代の分類を正確に予測できた。
- 6 GD と SNP 分類は相関が高いことから、GD を用いた系統造成は遺伝子的にも系統の特徴を明確にすることが可能であると考えられた。

Comparison of the classification method of the Tajima Strain of Japanese Black breed using
SNP information and pedigree information

Takayuki AKIYAMA, Namiko KOHAMA, Mitsuhiro SAKASE, Akio OKA, and Moriyuki FUKUSHIMA

Summary

We compared systems of classification using the gene dropping method (GD) and genome-wide single-nucleotide polymorphism (SNP) in the Tajima Strain of Japanese Black.

- (1) The SNP principal component analysis could classify the Tajima Strain.
- (2) SNP classification is strongly affected by the genotype of the bulls.
- (3) The correlation coefficient of components of the GD classification and SNP classification was approximately -0.7.
- (4) The cumulative contribution ratio of the principal components of the SNP classification was 12.6%.
- (5) The analytical values of the first and second principal components of the SNP in calves were significantly correlated with the value expected from parents ($r=0.99, 0.98$).

キーワード：ウシ, 黒毛和種, 遺伝子, SNP, 系統分類

2014 年 8 月 31 日受理

¹ *兵庫県立農林水産技術総合センター 北部農業技術センター

緒 言

兵庫県産黒毛和種牛（以下但馬牛と呼ぶ）は、他県の種畜を利用しない閉鎖育種により改良を進めている。しかし、近年、飼養頭数の減少や、特定系統に偏った交配が行われた結果、近交係数の急激な上昇が起こり、遺伝性疾病の発生、改良限界の早期化などが懸念されることから、系統の再編、組織的な選抜交配体制により近交係数上昇を鈍化させる取り組みを実施している。

福島ら¹⁾は但馬牛における始祖個体遺伝子の消長をジーンドロッピング法(以下GDと呼ぶ)で調べ、遺伝子消失確率の小さい100頭の始祖牛の遺伝的寄与率をもとにした主成分分析によるグループ化が、但馬牛の普遍的な系統分類に有効であるとしている。

現在、兵庫県では但馬牛の改良において、GDを用いた系統分類をもとに、希少系統の保存や、母牛育種集団のグループ化に取り組んでいる。しかし、GDは血統情報を元にした、確率論的な手法であり、実際の分子生物学的な遺伝子での分類と一致しているか明らかでない。

近年、遺伝子解析技術の向上により、黒毛和種牛のゲノム全体に分布する一塩基変異（以下SNPと呼ぶ）を数千から数十万個、一度に解析する手法が普及し、但馬牛の遺伝子解析にも用いられている²⁾。西村ら³⁾はゲノム全体のSNPについて主成分分析により、牛の品種の推定が可能であると報告している。そこで、ゲノム全体に分布するSNPを用いた系統分類を実施し、但馬牛のGDによる分類との比較を実施した。

材料及び方法

1 材料

北部農業技術センター飼養の繁殖雌牛91頭、その産子92頭および交配種雄牛20頭を用いた。

2 遺伝子型判定と分類

血液から定法によりDNAを抽出し、Affymetrix社製AXIOM BOS1(SNP数:約64万個)を用いてSNPをタイピングし、コール率=1、マイナーアリアル頻度 ≥ 0.01 、ハーディー・ワインベルグ平衡検定 $p \geq 0.001$ のSNP104,358個について、解析ソフト「PLINK」を用いて多次元尺度構成法により分類した。同様に主成分分析を実施し、寄与率を計算した。

3 GD分類

神戸大学の開発したプログラムにより¹⁾、但馬牛

の始祖個体1,461頭(累積寄与率0.773)のうち、対立遺伝子の伝達確率のシミュレーション(50,000回反復)を実施し、現存牛への遺伝子の消失確率が小さい100頭(累積寄与率0.668)を選出して、それらの遺伝的寄与率から相関行列を算出し、主成分分析によりグループ化した。

結 果

1 SNPを用いた系統分類

SNP分類の第1主成分と第2主成分をプロットすると、いくつかのグループに分類された(図1)。

種雄牛のSNP分類の第1主成分と第2主成分について、種雄牛のGD毎にプロットすると、種雄牛のSNP分類はGDと同様の分類となった(図2)。

SNP分類の第1主成分から第4主成分の正負の符号によりS1からS6のグループに分類し、それぞれの種雄牛とGDを比較すると、SNP分類はGD分類と同様の分類であった(表1)。

SNP分類の各主成分の寄与率は、第1主成分3.7%、第2主成分3.4%、第3主成分2.8%及び第4主成分2.7%であった(表1)。第4主成分までの累積寄与率は12.6%と低かった。

子牛のSNP分類の第1主成分と第2主成分について、父母のSNP分類の主成分との相関をみると、第1主成分値の相関係数は父、母それぞれ0.87、0.59、第2主成分値は0.83、0.67であり交配種雄牛との相関が高かった(表2)。

父母の主成分値の平均値を子の期待値とした場合、実際の子牛の主成分値との相関係数は第1主成分0.99、第2主成分0.98とほぼ一致していた(表2、図3、4)。

2 SNP分類とGDとの比較

SNP分類の主成分値とGD分類の主成分値の相関係数は、SNP第2主成分と、GD第1及び第2主成分の相関係数はそれぞれ、-0.636、-0.738、第3主成分同士は0.627と高い相関があった(表3)。

母牛のSNP分類については、種雄牛と異なり母牛GDとSNP分類が一致しない個体が散見された(図5)。

考 察

主成分の寄与率は低いものの、SNPによって但馬牛の系統を遺伝的に分類することが可能であった。

子牛の主成分期待値と、主成分実測値はほぼ一致

しており、父母から後代の主成分値の予測が可能であった。

種雄牛のように系統内交配したものは、グループの特徴を強く表して、主成分が大きくなる傾向があり、GD と良く一致していたが、GD と SNP 分類のグループが異なる個体は、異なるグループ間で交配した牛が多く、SNP 分類は、父牛、母方祖父牛のいずれかに存在する種雄牛の系統分類と一致し、SNP 分類は種雄牛の影響が強いことが示唆された。

SNP 分類と GD 分類の主成分値の相関が高かったことから、GD 分類を用いた系統造成でも、グループ内交配すれば、遺伝子的な系統の特徴を明確にすることが可能であると考えられた。特に GD では明確な分類が困難であった熊波系 (G8) を明確に分類する事ができ、SNP 分類は有効な手法であると考えられた。

兵庫県では、GD に特徴のある育種基礎雌牛に同グループ種雄牛を指定して、後継母牛を造成する事業を実施しているが、今回の結果はこの事業により、グループ毎の遺伝的特徴を明確にすることが可能であることが推察された。黒毛和種集団の遺伝的多様性を遺伝子レベルで推測する研究は、マイクロサテライトマーカーやミトコンドリア DNA や他の遺伝子マーカーを利用した分類が報告されているが^{2, 4)}、それらと比較して、SNP 分類はゲノム全体に多数のマーカーが配置されており、正確に遺伝的特徴をとらえる事が可能であると考えられた。

ただし、今回のサンプルは当センター系統造成用の特殊な集団であり、兵庫県の育種基礎雌牛集団とは若干異なるため、今後、育種基礎雌牛集団の解析を実施し、兵庫県集団をグループ化する方向を決定しなければならない。また、本研究に用いた種雄牛が 20 頭と少なく、今後、過去の主要な種雄牛を含めた解析を再度実施する必要がある。

引用文献

- (1) 福島 護之・坂瀬 充洋・野田 昌伸・武田 和士・上野 悟・本田 健・大山憲二・向井 文雄 (2005) : 但馬牛集団のジーンドロッピング法による系統分類の試み. 兵庫農技研報(畜産)41:16-21
- (2) 社団法人畜産技術協会(2000) : 家畜ゲノム解析と新たな家畜育種戦略
- (3) Nishimura S., Watanabe T., Ogino A., Shimizu K., Morita M., Sugimoto Y., Takasuga A. (2013) : Application of highly differentiated SNPs between Japanese Black and Holstein to a breed assignment test between Japanese Black and F1(Japanese black x Holstein) and Holstein: Anim, Sci, J. 84(2), 1-7
- (4) 和牛知的財産権取得・活用推進協議会(2013) : 黒毛和種集団における経済形質, 疾病等に関わる遺伝子の遺伝子頻度の分布と遺伝的多様性・構造化の解明 : 平成 24 年度研究成果報告, 1-30

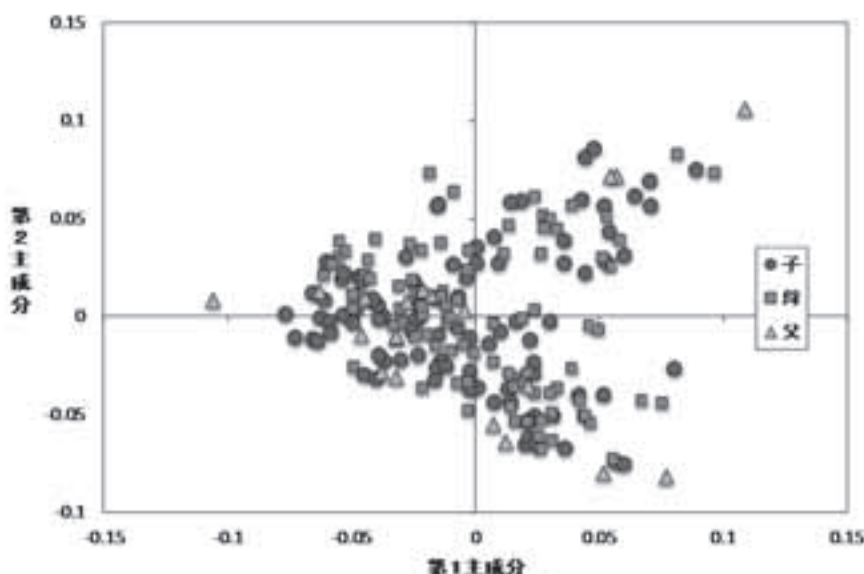


図1 SNPによる但馬牛の分類

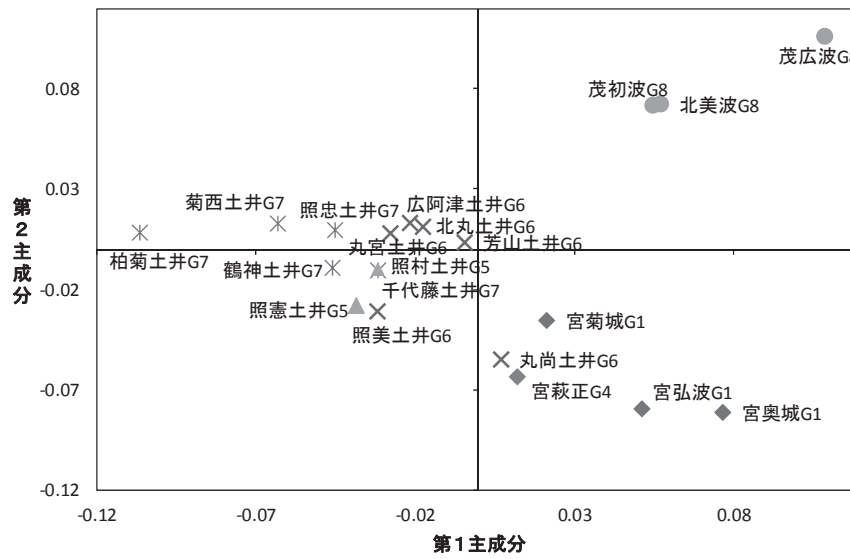


図2 種雄牛のSNP分類

表1 SNPsによる分類とGD分類、血統分類

グループ	主成分				種雄牛系	旧系統	GD
	第1	第2	第3	第4			
S1	+	+	+/-	+/-	北宮波系	城崎系	G1-4
S2	+	-	+/-	+/-	茂金波系	熊波系	G8
S3	-	+/-	+	+	菊安土井系	菊安系	G7
S4	-	+/-	+	-	菊照土井系	菊照系	G7
S5	-	+/-	-	+	谷福土井系、照長土井系	安美系、安谷系	G6
S6	-	+/-	-	-	鶴丸土井系	第2安鶴系	G6

表2 SNP主成分の親子での相関係数

主成分		父牛	母牛	期待
子牛	第1	0.87	0.59	0.99
	第2	0.83	0.67	0.98

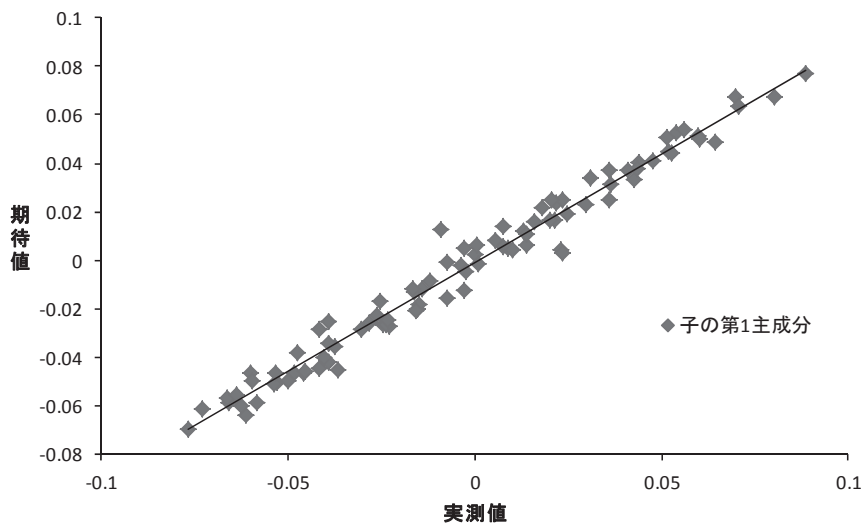


図3 子牛の第1主成分期待値と実測値

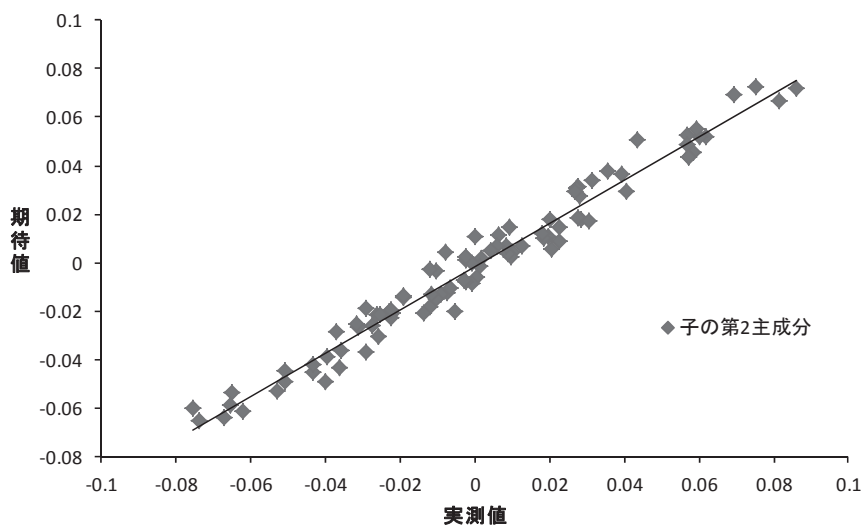


図4 子牛の第2主成分期待値と実測値

表3 SNP分類とGD分類の相関係数

		SNP分類主成分			
		第1	第2	第3	第4
GD 主成分	第1	0.283	<u>-0.636</u>	0.268	-0.441
	第2	-0.087	<u>-0.738</u>	-0.366	-0.327
	第3	-0.229	0.051	<u>0.627</u>	-0.120

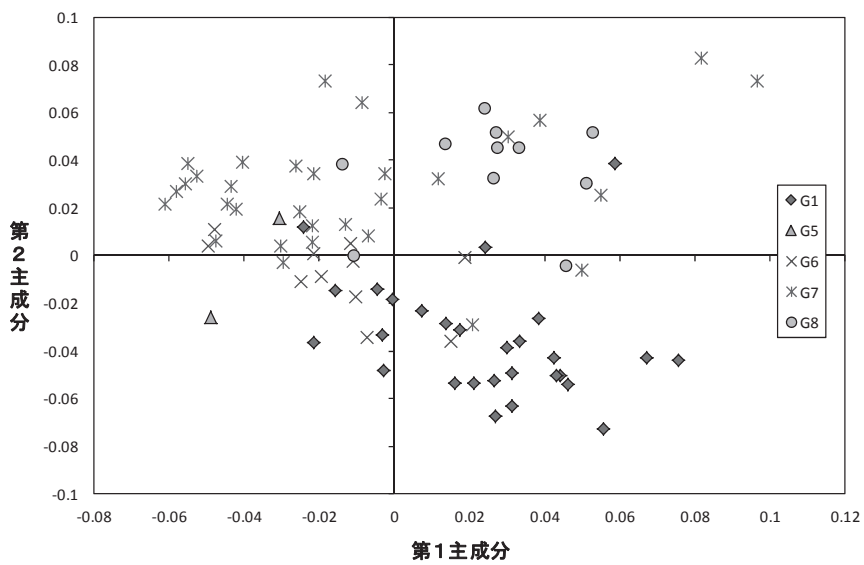


図5 母牛SNP分類(母牛GD毎)