

うえもと よしのぶ

氏名（本籍地） 上 本 吉 伸

学 位 の 種 類 博士（農学）

学 位 記 番 号 農第 750 号

学位授与年月日 平成 22 年 3 月 10 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項

論 文 題 目 ブタの QTL 情報の育種への応用に関する研究

博士論文審査委員 （主査）教 授 鈴 木 啓 一

准教授 麻 生 久

准教授 中 嶋 正 道

論文内容要旨

序論

現在、日本で行われているブタの育種改良は、主として純粋種集団内での選抜が行われている。このとき、主な改良形質は、増体量や背脂肪厚など、値が連続的な分布を示す形質(量的形質)である。量的形質は、効果の小さな多数の遺伝子(ポリジーン)により複雑な影響を受けている。そのため、従来の育種理論では、量的形質に関与している個々の遺伝子座(量的形質遺伝子座:QTL)をブラックボックスとして扱うことで遺伝的な能力値である育種価を推定し、これを用いて選抜してきた。このようなポリジーン説に基づく育種理論は、我が国におけるブタ、肉牛、および、乳牛の改良において多くの実績を残してきた。しかし、表型測定値を得るために時間やコストがかかるような屠畜形質や肉質、繁殖形質の場合、改良量の増加が困難であるなどの問題点もある。

近年、分子生物学の進展により、QTLの染色体上の位置、効果、遺伝様式、および、QTL間の相互作用などのQTL情報を直接検出できるようになってきた。そのため、QTLを検出し、その情報を家畜育種の手法に取り入れようとする試みが検討されてきている。QTL情報を育種に用いることで、改良が困難な形質についても、生まれた時点で将来的な能力の推定を容易に行うことが可能となるため、短期間かつ低コストで改良量を増加させることができるようになる。

QTLを探索する方法として、主に2つの方法がある。1つ目は、ファンクショナルクローニング法(候補遺伝子解析)と呼ばれ、すでに機能が明らかな遺伝子について、その遺伝子内のDNA変異と表型値との関連性を調査する方法である。2つ目は、ポジショナルクローニング法(QTL解析)と呼ばれ、DNAマーカーと表型値の情報から染色体上にQTLを位置付ける方法である。QTL解析は、主として遺伝的に異なる品種間で交雑した品種間交雑集団(F₂集団)を用いて行われている。これは品種間では効果の大きなQTLが分離しており、検出が容易であるためである。F₂集団を用いたQTL解析は、量的形質に関与する遺伝子の網羅的探索には効果的であり、近年では、QTLの相加的遺伝子効果だけでなく、インプリンティング効果やエピスタシス効果など、非相加的効果についても検出されてきている。

しかしながら、日本におけるブタの育種改良について考えた場合、改良の対象は純粋

種であるため、実際の育種改良に QTL 情報を利用するためには、純粋種内で分離した QTL を検出する必要がある。近年、純粋種集団を用いた QTL 解析がおこなわれ、純粋種内でも効果の大きな QTL が分離しているということが報告されてきた。また、QTL 情報を用いて選抜する方法であるマーカーアシスト選抜(MAS)についても、効果的に利用するためのシミュレーションによる検討が行われてきている。

そこで本研究では、QTL 情報を育種へ応用していくために、(i) 候補遺伝子解析および QTL 解析による QTL 効果検出の有効性、(ii) 得られた QTL 情報の育種への利用法、の 2 点について検討することを目的とした。候補遺伝子解析では、筋肉内脂肪(IMF)で選抜された純粋種集団を用いて、IMF とその候補遺伝子との関連性について調査した。QTL 解析では、F2 集団および純粋種集団(Half-sib 家系および多世代家系)を用いて、それぞれ経済形質に影響を与える QTL の検出を行った。このとき、F2 集団については、非相加的遺伝子効果であるエピスタシス効果についても考慮して解析を行った。最後に、QTL 解析により得られた QTL 情報を例に、育種に利用する場合の方法について検討した。

第一章 筋肉内脂肪に影響を与える候補遺伝子解析

本章では、IMF に影響を与える候補遺伝子として報告されている心臓型脂肪酸結合タンパク質(H-FABP)遺伝子について、IMF とこの遺伝子内の SNP 多型との関係を調査するために、候補遺伝子解析を行った。用いた集団は、一日平均増体量(DG)、ロース芯面積(LEA)、背脂肪厚(BF)、IMF の 4 形質を選抜形質として、総合育種価に基づき 7 世代選抜したデュロック純粋種である(Suzuki et al., 2005)。H-FABP 遺伝子内の SNP 多型は、Gerbens et al. (1999)により報告されている 3 領域の制限酵素断片長多型(RFLP)を用いた。本研究では、デュロック選抜集団の肉質を分析した調査豚 499 頭を用いて遺伝子型判定を行った。DNA は血液および耳刻片から抽出し、PCR-RFLP 法により Gerbens et al. (1999)と同様の遺伝子型判定を行った。

その結果、H-FABP 遺伝子内の RFLP と IMF 表型値および育種価との間で有意な関連性がみられた(Table 1)。Msp I RFLP では遺伝子型 AA が遺伝子型 Aa および aa と

比べて有意に高く、HaeIII RFLP では遺伝子型 DD が遺伝子型 Dd および dd と比べて有意に高かった。さらに、Hinf I RFLP では、遺伝子型 hh が遺伝子型 HH と比べて有意に高かった。そして、3つの RFLP からハプロタイプを構成したところ、4つのハプロタイプが構成され、その遺伝子型と IMF との関係を見ると、AA/DD/Hh および AA/DD/hh が最も高い値となった(Table 2)。また、RFLP 多型が IMF に影響を与える寄与率を計算したところ、IMF 育種価の約 40%の値であった。これらの結果から、H-FABP 遺伝子内の SNP 多型が本集団においても IMF に影響を与えていることが示された。また、本研究で用いたデュロック種集団での IMF の遺伝率は 0.42 であることから、表型分散の約 2 割をこの SNP 多型が説明することが示唆された。しかしながら、Gerbens et al. (1999)および他の報告では、本研究とは異なる遺伝子型が IMF と正の相関を持っていた。このことから、この 3つの SNP は、責任遺伝子と連鎖してはいるが、直接 IMF の原因となる遺伝子ではない可能性が示唆された。今後、このような候補遺伝子の多型を指標とした選抜を行う際には、対象集団での SNP 変異と表型値との関連性を予め調査した上で、MAS に利用することが重要である。

第二章 品種間交雑集団を用いたシングル QTL およびエピスタシス QTL 解析

品種間交雑集団を用いた QTL 解析は、その結果を育種計画に直接組み込むことはできないが、量的形質に関与する遺伝子の網羅的探索には有用である。そのため、本章では、ブタの品種間交雑集団を用いて背脂肪の脂肪酸組成に影響を与える QTL の探索を行った。本研究で対象とした脂肪酸組成は、ブタの経済形質において重要な量的形質の一つであり、個々の脂肪酸割合が肉の柔らかさや食味に影響を与えているといわれている。本研究では、相加的遺伝子効果だけでなく、インプリンティング効果や QTL 間のエピスタシス効果についても調査した。用いた F₂ 集団は 166 頭であり、デュロック種 1 頭と梅山豚種 1 頭との交雑により造成された集団である。背脂肪の脂肪酸組成を測定し、多型のある 180 個のマイクロサテライトマーカーを全染色体上に配置し、遺伝子型判定を行った。QTL 解析は、相加的効果およびインプリンティング効果を検出するためのシングル QTL 解析、および、エピスタシス効果を検出するためのエピスタシス

QTL 解析により行った。

シングル QTL 解析の結果、2 つの有意性を示唆する QTL と、1 つの有意な QTL が検出された(Table 3)。有意性を示唆する QTL は C14:0 および C16:1 で検出され、それぞれ第 12 番染色体、第 7 番染色体上で検出された(Figure 1)。また、C18:2 に影響を与える有意な QTL が第 5 番染色体上で検出された。しかしながら、背脂肪厚で補正した場合、C16:1 は有意にはならなかった。C14:0 に関しては、父方発現のインプリンティング QTL が第 12 番染色体上で検出され、この領域はインプリンティング効果を含めないモデルにおいて得られた領域と同じ領域であった(Figure 1)。また、インプリンティング効果を含めたモデルでは、LRT が 24.2 と最も高い値となった。エピスタシス QTL 解析の結果、5 つのエピスタシス効果のペアが第 4、5、9 および 16 番染色体上で検出された(Table 4)。シングル QTL 解析で得られた領域は、エピスタシス QTL 解析で得られた領域とは C18:2 以外は異なる領域であった。C14:0 に関しては、第 16 番染色体上で検出され、P 値が最も低い 4.9×10^{-12} であった。これらのことから、背脂肪の脂肪酸組成には、エピスタシス効果が強く影響を与えていることが明らかになり、複数の遺伝子が脂肪酸組成割合に関与していることが示唆された。脂肪酸組成のエピスタシス効果はこれまでに報告はなく、本研究が初めての報告である。QTL 間のエピスタシス効果を特定することは、形質に影響を与える遺伝子ネットワークを理解する上で重要である。本研究ではエピスタシス効果が強い影響を示すことが明らかとなったことから、全遺伝分散に占めるエピスタシス効果の分散についても考慮しながら、MAS を行うことの重要性が明らかとなった。

第三章 ランドレース種純粋種 Half-sib 家系を用いた QTL 解析

これまで QTL 解析は、主に品種間交雑集団を用いて行われていた。しかしながら、品種間交雑集団で特定された QTL 情報は、量的形質に影響を与える遺伝子の網羅的探索には有用であるが、実際の育種計画には、品種内で分離した QTL を利用する必要がある。そこで本章では、純粋種 Half-sib 家系を用いた QTL 解析を行った。用いた集団は、維持集団であるランドレース純粋種 Half-sib 家系集団であり、対象とする形質は、

ランドレース種の廃用理由として挙げられる脚弱形質である。脚弱形質は肢蹄得点により評価する。肢蹄得点は、肢、爪および繋ぎの形状を得点化し、5段階評価で5が最もよく、1が最も悪い状態を示す非線形得点法により評価した(Table 5)。本研究では、父親5頭からなる計522頭のHalf-sib個体について測定した。各Half-sib家系に属する個体数は、59頭から202頭の範囲である。QTL解析は、常染色体上の190個のマイクロサテライトマーカーを用いて、Knottの回帰による方法で解析を行った。

本研究では、肢蹄得点に影響を与えるQTLについて解析を行った結果、ゲノムレベルで有意なQTLは検出されなかった。しかしながら、染色体レベルで有意なQTLがいくつか検出された(Table 6)。肢蹄得点に影響を与えるQTLが第1、2、3、10および11番染色体上に染色体レベル5%有意水準で検出され、QTL効果は表型分散の7%から11%の範囲であった。さらに、後爪得点、全肢蹄得点に影響を与えるQTLが第2、3番染色体上にそれぞれ染色体レベル1%有意水準で検出され、QTL効果はそれぞれ表型分散の11%および13%であった。また、第3、10番染色体では、複数のQTLが同じ領域に検出され、特に第3番染色体では、品種間交雑集団を用いたGuo et al. (2009)の報告と同様の領域で検出されていた。このことから、品種間交雑集団だけでなく純粋種集団においても脚弱形質に影響を与えるQTLが分離していることが明らかとなった。品種内で脚弱形質に影響を与えるQTLは本研究が初めての報告である。しかしながら、本研究においては、ゲノムレベルでは有意性は得られなかった。これは、Half-sib家系を用いたQTL解析では、2世代のみの集団であり、血統情報が不十分なことから同祖性(IBD)行列の推定精度が低下したことで検出力が下がったためであると考えられる。また、Knottの回帰によるQTL解析では、父親のQTLがヘテロ型であることが前提条件となるため、QTLがホモ型で存在する場合には検出することができないことも理由として考えられる。そのため、今後は、ゲノムレベルで有意な検出が可能となるようなQTL解析について考える必要がある。

第四章 デュロック純粋種多世代家系を用いたQTL解析

これまでに純粋種内でも産肉および肉質形質でQTLが分離しているという報告がさ

れている。また、第三章では、維持集団の Half-sib 家系を用いて脚弱形質に影響を与える QTL を検出している。Half-sib 家系を用いた QTL 解析では、2 世代のみの集団であるため、血統情報が不十分であり、多世代の家系情報を持つ集団に比べ、検出力が低下する。また、Knott の回帰法では、QTL がヘテロ型で存在することが前提条件であるため、QTL がホモ型で存在する場合には、検出することができない。そこで、品種内で効果の大きな QTL を検出するために、8 世代からなる多世代家系情報をもつデュロック純粋種集団を用いて、QTL 解析を行った。豚の第 7 番染色体には、IMF や DG に影響を与える QTL が品種間交雑集団で報告されている。そのため、本研究では第 7 番染色体について QTL 解析を行った。マーカー間隔が平均で 20 cM となるように 10 個のマイクロサテライトマーカーを配置し、8 世代からなる 1,004 頭について遺伝子型判定を行った。QTL 解析は、多世代の複雑な血統を考慮することができる分散成分分析(VCA)法を用いて行った。VCA 法は 2 つのステップからなり、最初にマイクロサテライトマーカーをもとにマルコフ連鎖モンテカルロ(MCMC)法により IBD 行列を計算し、次に得られた IBD 行列を用いて LOD スコアを求めた。

その結果、IMF や DG については QTL が検出されなかったが、特に LEA(70 cM)、PCS1(第 5-6 胸椎間の肉色基準)(0 cM)、および、胸椎数(120 cM)で、それぞれ有意な QTL が検出された (Table 7, Figure 3)。これらの結果から、純粋種集団においても、効果の大きな QTL が分離しているということが明らかとなった。また、多世代集団を用いた VCA 法により、効果の大きな QTL を検出できる可能性が示唆された。しかしながら、品種間交雑集団で検出された QTL が純粋種集団でも分離しているとは限らないことも同時に明らかとなった。このような多世代家系を用いた QTL 解析は、今後の品種内 QTL 解析における有力な方法の一つとなるであろう。日本では、各地方自治体の畜産試験場にて、純粋種の系統造成が行われており、これらの系統豚を利用することで多世代家系を用いた QTL 解析が可能となる。こうして得られた QTL 情報は、直接育種へと応用が可能であるため、今後は彼らとの協力により積極的に推進することが必要である。

第五章 QTL 情報を利用した MAS による改良効率の検討

QTL 情報を育種に応用する場合、課題の一つとして、「表型値の数がどの程度あれば、育種価の予測を正確に行うことができるか」ということがある。そのため、本章では、第四章で得られた効果の大きな QTL について、表型値の数による正確度の変化について調査した。本章で用いた形質は、LEA(QTL 遺伝率 0.07)、PCS1(QTL 遺伝率 0.32)、および、胸椎数(QTL 遺伝率 0.57)である。LEA は生体での測定が可能であるため 950 頭用い、PCS1 および胸椎数は屠畜豚のみしか得られないため、それぞれ 539 頭および 543 頭用いた。全世代の表型値をもとに推定した育種価を真の育種価(TBV)とした。全世代の DNA マーカー情報および世代ごとに表型値を増加させて推定した育種価を推定育種価(EBV)とした。そして、TBV と EBV との相関係数(正確度)がどのように変化するののかについて調査した。EBV は、Fernando and Grossman (1989)により示されたマーカーアシスト BLUP(MABLUP)法を用いて推定した。また、EBV は、QTL 効果の EBV(marker BV)、QTL 効果およびポリジーン効果の EBV(polygene+marker BV)、ポリジーン効果の EBV(polygene BV)の 3 種類の EBV を推定した。

その結果、QTL 遺伝率の低い LEA については、polygeneBV が頭数の大小に関わらず正確度は高くなった(Figure 4)。QTL 遺伝率が中程度の PCS1 については、初期世代のみの頭数では marker BV と polygene BV は同様な効果を示したが、後半世代の頭数を含めた場合では、正確度に差ができ polygene BV の方が高い正確度となった(Figure 4)。また、QTL 遺伝率の高い胸椎数については、初期世代のみの頭数では marker BV の方が高い正確度を示したが、後期世代の頭数を含めた場合では、逆転し marker BV の方が低い正確度となった(Figure 4)。これらの結果から、QTL 遺伝率が低い形質については、頭数の大小に関わらず、従来の BLUP 法が有効であることが示唆された。また、QTL 遺伝率が高くなるにつれて、表型値の頭数が少ない場合には、マーカー情報が育種価の推定に有効であることが示唆された。

まとめ

本研究では、QTL 情報を育種へ応用していくために、(i) 候補遺伝子解析および QTL

解析による QTL 効果検出の有効性、(ii) 得られた QTL 情報の育種への利用法、の 2 点について検討を行った。(i)については、第一章から第四章で遺伝的背景の異なる実際のブタ集団について、各集団に適した方法を用いて、複数の経済形質に影響を与える QTL の探索を行った。また、(ii)については、第五章で実際の QTL 解析により得られた QTL 情報を育種に応用した場合の利用効率について検討を行った。QTL 情報を用いた選抜を行う場合、責任遺伝子、もしくは、責任遺伝子と連鎖したマーカーの情報を QTL 情報として用いることになる。責任遺伝子は特定の形質でのみ報告されており、報告のない形質については、責任遺伝子まで探索しその情報を QTL 情報とするか、候補遺伝子解析または QTL 解析により領域を絞り込み、その QTL 情報を育種価の推定に利用するか選択する必要がある。責任遺伝子まで特定する場合、MAS に利用する QTL 情報としては最も効果的であるが、その特定までには多くの時間やコストを要する。そのため、責任遺伝子は特定できないが、責任遺伝子と連鎖したマーカーを QTL 情報として用いて MAS を行うことが必要である。本研究では、このような QTL 情報を検出するためには、純粋種多世代家系集団を用いた VCA 法による QTL 解析を行うこと、エピスタシス効果についても考慮した QTL 解析を行うこと、他集団を用いた QTL 効果の検証を行うこと、が必要であることが示唆された。また、このような QTL 情報を MAS に利用するためには、初期世代であらかじめ QTL 効果の確認を行うこと、エピスタシス効果を考慮した MAS も検討すること、QTL 効果およびポリジーン効果の育種価を組み合わせる用いること、が必要であることが示唆された。本研究で得られた知見は、このような責任遺伝子が特定できない場合の QTL 情報を指標とした効率的な育種改良を行う際の QTL の探索および利用についての重要な知見を与えるとともに、今後の育種計画を進めるに当たっての、重要な指標となるであろう。

Table 1. Comparison of IMF breeding values for three H-FABP RFLPs.

Genotype	Msp I			Hae III			Hinf I				
	N ^a	PV ^b	BV ^c	Genotype	N	PV	BV	Genotype	N	PV	BV
AA	207	4.50 ^d	0.66 ^d	DD	177	4.61 ^d	0.73 ^d	HH	253	4.13 ^d	0.31 ^d
Aa	242	4.12 ^e	0.37 ^e	Dd	258	4.11 ^e	0.38 ^e	Hh	216	4.40 ^{de}	0.64 ^{de}
aa	50	4.08 ^e	0.34 ^e	dd	64	3.99 ^e	0.28 ^e	hh	30	4.62 ^e	0.84 ^e

^aNumber of animal genotyped.

^bPV: Phenotypic value for intramuscular fat.

^cBV: Breeding value for intramuscular fat.

^{d-e}Means within the same column with different letters are significantly different at p<0.05.

Table 2. Comparison of phenotypic and breeding value of intramuscular fat percentage among haplotype of H-FABP RFLPs.

N ^a	AA/DD/HH			AA/DD/hh			AA/Dd/HH			Aa/DD/Hh			Aa/dD/HH			aa/dd/HH														
	48	99	30	30	15	13	2	126	104	12	50	4.43 ^d	4.70 ^d	4.62 ^d	4.07 ^d	3.77 ^d	4.08 ^d	4.19 ^d	3.82 ^d	4.08 ^d	0.47 ^{de}	0.82 ^d	0.84 ^d	0.27 ^{de}	0.31 ^{de}	0.28 ^{de}	0.52 ^{de}	0.15 ^e	0.34 ^{de}	
PV ^b																														
BV ^c																														

^aNumber of animal genotyped.

^bPV: Phenotypic value for intramuscular fat.

^cBV: Breeding value for intramuscular fat.

^{d-f}Means within the same column with different letters are significantly different at p<0.05.

Table 3. Estimates of additive, dominance, and imprinting effects of the single QTL analysis for fatty acid composition traits in this study.

Trait	Chromosome	Location (cM)	Marker interval	LRT ¹	P-value	Additive ²		Dominance ²		Imprinting ²	
						mean	SE	mean	SE	mean	SE
Not corrected for backfat thickness											
C14:0	12	1	S0143 - SW957	15 *	5.5×10^{-4}	-0.09	0.02	0.06	0.03		
	12	1	S0143 - SW957	24.15 **	8.9×10^{-7}					-0.10	0.02
C16:1	7	62	TNFB - SW1701	15.7 *	3.9×10^{-4}	-0.23	0.06	-0.03	0.10		
C18:2	5	49	SW70 - S0005	22.9 **	1.1×10^{-5}	-0.39	0.10	0.35	0.16		
Corrected for backfat thickness											
C14:0	12	1	S0143 - SW957	15.27 *	4.8×10^{-4}	-0.09	0.02	0.06	0.03		
	12	2	S0143 - SW957	25.01 **	5.7×10^{-7}					-0.10	0.02
C16:1	7	59	TNFB - SW1701	10.87	4.4×10^{-3}	-0.23	0.06	-0.03	0.10		
C18:2	5	49	SW70 - S0005	24.38 **	5.1×10^{-6}	-0.39	0.10	0.35	0.16		

¹ likelihood ratio test statistics

² Positive (negative) additive effects indicate that the Duroc (Meishan) alleles increased the trait value.

Dominance effects are relative to the mean of the two homozygotes.

Imprinting effects indicate paternal imprinting in this result.

* suggestive linkage, ** significant linkage

Table 4. Results of the QTL epistatic analysis for the porcine fatty acid compositions in this study.

Trait	QTL positions			Epistatic QTL effects ²									
	(chromosome, location(cM), marker interval)	LRT ¹	P-value	I _{a×a} mean	SE	I _{a×d} mean	SE	I _{d×a} mean	SE	I _{d×d} mean	SE		
Not corrected for backfat thickness													
C14:0	SSC16 34 SWR2086	SW977	SSC16 11 SW2411	64.7	4.9×10 ⁻¹²	-0.58	0.08	-0.64	0.10	0.50	0.09	0.48	0.11
C18:0	SSC4 43 S0001	SW752	SSC10 17 SW830 SW249	25.8	3.4×10 ⁻⁵	1.11	0.39	-0.82	0.63	-2.00	0.53	2.91	0.84
C18:1	SSC4 43 S0001	SW752	SSC10 19 SW830 SW249	36.0	2.8×10 ⁻⁷	-1.23	0.61	1.76	0.92	3.24	0.81	-4.11	1.24
C18:2	SSC2 52 SW1201	SWR468	SSC5 47 SW70 S0005	26.8	2.2×10 ⁻⁵	0.04	0.15	0.36	0.24	-1.04	0.23	0.41	0.38
C18:3	SSC5 91 IGF1	SWR1112	SSC9 17 SW21 S0024	34.1	7.1×10 ⁻⁷	-0.02	0.01	-0.08	0.02	0.02	0.02	0.15	0.03
Corrected for backfat thickness													
C14:0	SSC16 34 SWR2086	SW977	SSC16 11 SW2411	67.3	8.4×10 ⁻¹⁴	-0.59	0.08	-0.65	0.10	0.51	0.09	0.48	0.11
C18:0	SSC4 43 S0001	SW752	SSC10 17 SW830 SW249	31.3	2.7×10 ⁻⁶	1.17	0.40	-0.89	0.64	-1.98	0.53	2.95	0.84
C18:1	SSC4 43 S0001	SW752	SSC10 19 SW830 SW249	34.9	4.8×10 ⁻⁷	-1.06	0.61	1.57	0.92	3.19	0.80	-4.00	1.23
C18:2	SSC2 51 SW1201	SWR468	SSC5 47 SW70 S0005	26.2	2.9×10 ⁻⁵	0.02	0.15	0.34	0.24	-1.02	0.22	0.38	0.38
C18:3	SSC5 91 IGF1	SWR1112	SSC9 16 SW21 S0024	30.8	3.4×10 ⁻⁶	-0.02	0.01	-0.08	0.02	0.02	0.02	0.15	0.03

¹ likelihood ratio test statistics.

² Estimates of each of the epistatic interactions between the QTL pairs; I_{a×a}, I_{a×d}, I_{d×a}, and I_{d×d} are the additive × additive, additive × dominance, dominance × additive, and dominance × dominance epistatic interaction effects, respectively.

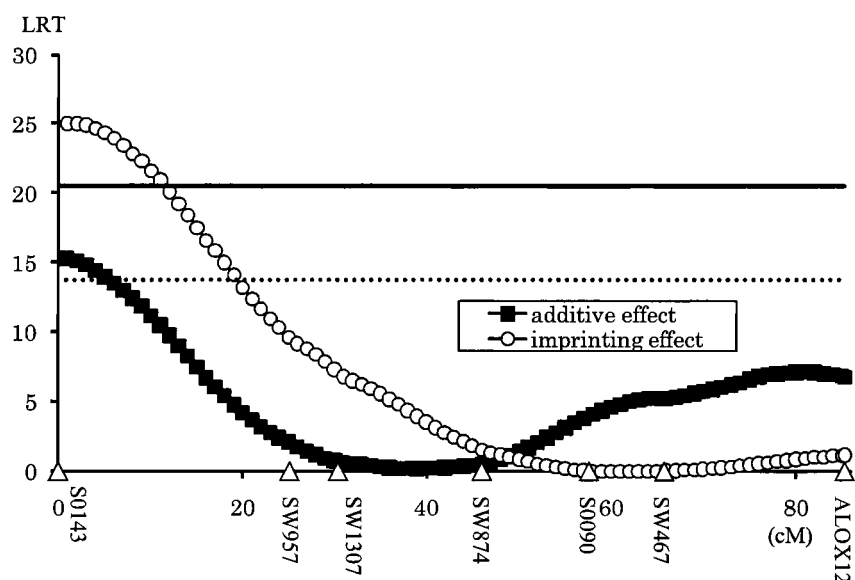


Figure 1. Evidence of significant QTLs for Myristic acid (C14:0) on pig chromosome 12. The x-axis indicates the relative position on the linkage map. The y-axis represents the likelihood-ratio test statistics (LRT) value. Triangles on the x-axis indicate a marker position. A horizontal continuous and dashed lines indicate the threshold values for significant linkage and suggestive linkage.

Table 5. Scoring for front and rear legs and feet, on a scale 1 (very weak) to 5 (very strong), and five aggregate scores.

Trait	attribute	score and explanation					
		1	2	3	4	5	
Front legs score	FLS	Strength	very weak	weak	moderate	strong	very strong
		Side view	extremely buckled	buckled	slightly bent	straight	straight
		Front view	extremely X-shaped	X-shaped	nomal	nomal	nomal
Rear legs score	RLS	Strength	very weak	weak	moderate	strong	very strong
		Side view	standing under	sickled	nomal	nomal	nomal
		Callus	big	small	none	none	none
Front feet score	FFS	Pasterns	very weak	weak	moderate	strong	very strong
		Claws	uneven and narrow	uneven or narrow	nomal	nomal	nomal
Rear feet score	RFS	Pasterns	very weak	weak	moderate	strong	very strong
		Claws	uneven and narrow	uneven or narrow	nomal	nomal	nomal
Total legs score	TLS	FLS+RLS 2 to 10					
Total feet score	TFeS	FFS+RFS 2 to 10					
Total front score	TFrS	FFS+FLS 2 to 10					
Total rear score	TRs	RFS+RLS 2 to 10					
Total score	TS	FFS+FLS+RFS+RLS 4 to 20					

Trait 6. Genome-wide QTL analysis for leg weakness traits.

Trait	chromosome	Location (cM)	F-value	Flanking markers	allelic substitution effect ¹	Variance ²
FLS	3	79	3.4 *	S0352 S0167	0.62	0.09
RLS	10	82	3.1 *	SW1041	0.78	0.08
	11	0	2.9 *	SW1486	0.59	0.07
FFS	1	89	3.9 *	SWR702	0.44	0.11
RFS	2	121	3.9 **	SW1844 SWR345	0.67	0.11
TLS	3	83	4.3 **	S0352 S0167	1.17	0.13
TFrS	3	72	3.6 *	S0094 S0352	0.93	0.10
TRS	10	85	3.5 *	SW1041 SW1991	0.89	0.10
TS	3	80	3.9 *	S0352 S0167	1.73	0.11

*: 5% chromosome-wide level, **: 1% chromosome-wide level

¹average absolute value of allelic substitution effect for sires with t-statistic > 2.0.

²proportion of phenotypic variance explained by QTL.

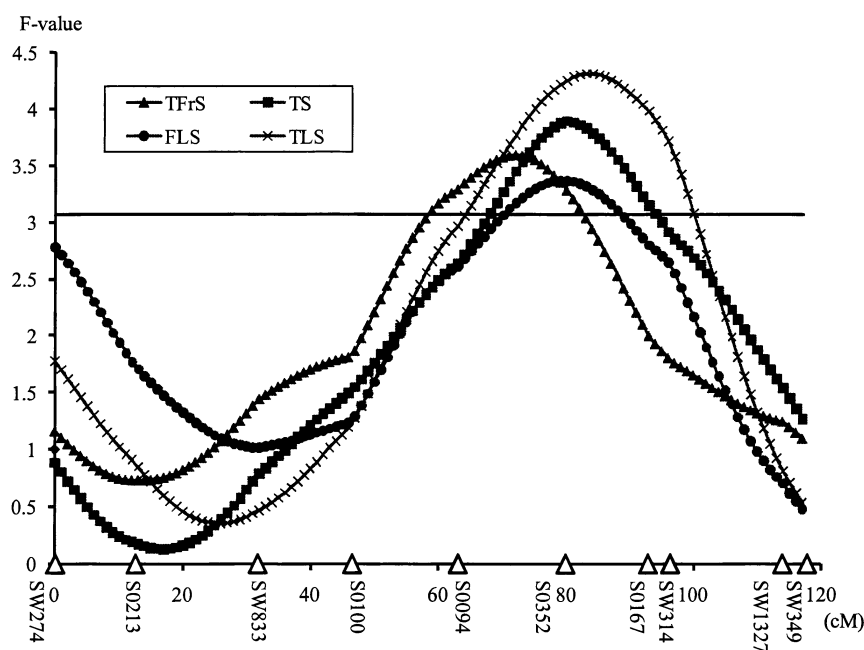


Figure 2. Evidence of significant QTLs for leg weakness traits on pig chromosome 3. The x-axis indicates the relative position on the linkage map. The y-axis represents the F-value. Triangles on the x-axis indicate a marker position. A horizontal line indicates the threshold value for chromosome-wide 5% level. These levels were different for each trait but, for simplicity, values of 3.04 are indicated. TFrS, total front score; TLS, total legs score; TS, total score; FLS, front legs score.

Table 7. The likelihood of odds (LOD) score and QTL position in a multigenerational pedigree family and heritability estimated for a multigenerational pedigree family.

Trait	Peak position		Heritability ¹		
	(cM)	LOD score	h_g^2	h_q^2	polygene
Growth traits					
LEA ² at half-length	70	2.77 **	0.46	0.07	0.53
Body size					
Cannon circumference of fore leg	72	2.29 *	0.32	0.08	0.40
Cannon circumference of hind leg	72	2.24 *	0.38	0.08	0.45
Chest depth	13	1.62	0.07	0.12	0.20
Withers height	163	1.43	0.34	0.06	0.42
Meat quality					
pH	55	0.87	0.00	0.11	0.09
PCS1 ²	0	3.01 **	0.00	0.32	0.31
PCS2 ²	163	1.61	0.15	0.20	0.20
Minolta L*	34	1.09	0.00	0.16	0.15
Minolta b*	42	1.49	0.11	0.10	0.25
Physiological traits					
IGF-1 8w ³	10	1.44	0.00	0.26	0.22
IGF-1 105kg ³	32	1.25	0.04	0.10	0.16
Carcass traits					
Carcass weight	64	1.36	0.07	0.09	0.20
Carcass length I ⁴	83	4.24 **	0.30	0.22	0.50
Carcass length II ⁴	103	4.85 **	0.37	0.25	0.61
Carcass length III ⁴	97	6.28 **	0.33	0.28	0.60
Loin length	115	7.89 **	0.30	0.32	0.67
No. of Thoracic vertebrae	120	27.29 **	0.03	0.57	0.73

*, ** Significant at 0.005 level for a 1 and 2 df χ^2 test, respectively.

¹ h_g^2 = residual polygenic heritability; h_q^2 = QTL genotypic heritability.
polygene = polygenic heritability without QTL effect.

²LEA = loin eye muscle area; PCS1 = pork color standard on the fifth-sixth thoracic vertebra;
PCS2 = pork color standard on the loin (thoracic vertebra section above the last rib).

³IGFI-8w, IGFI-105kg = Plasma concentration of IGF-I at 8 week and at 105 kg of BW.

⁴Carcass length I = the carcass length from the first cervical bone to the pubic bone;
Carcass length II = the carcass length from the first rib to the pubic bone;
Carcass length III = the carcass length from the first rib to last lumbar vertebra.

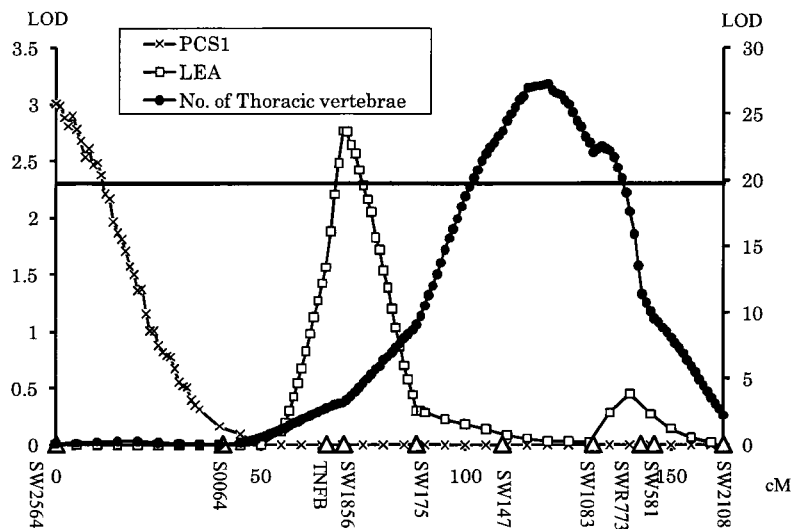


Figure 3. Evidence of significant QTLs for PCS1, LEA, and the number of thoracic vertebrae on pig chromosome 7. The x-axis indicates the relative position on the linkage map. The y-axis (primary) represents the LOD score for PCS1 and LEA. The y-axis (secondary) represents the LOD score for No. of thoracic vertebrae. Triangles on the x-axis indicate a marker position. A horizontal line indicates the threshold value for 0.005 level for a 2 df χ^2 test. PCS1, pork color standard on the fifth-sixth thoracic vertebra; LEA, loin eye muscle.

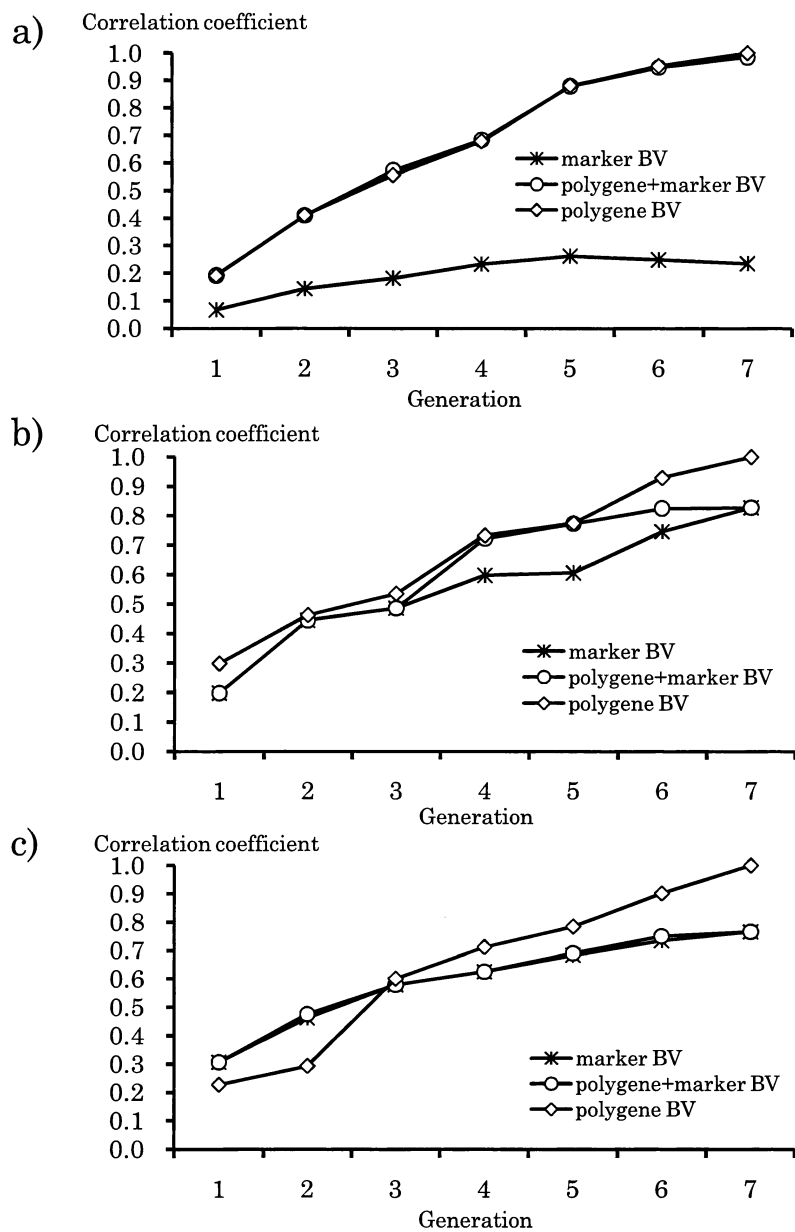


Figure 4. Correlation between true and estimated breeding value (BV) on a) LEA, b) PCS1 and c) the number of thoracic vertebrae, when the number of phenotypic records is increased per generation. The x-axis indicates total generations used to estimate BV. The y-axis indicates the correlation coefficient between true and estimated BV. marker BV; estimated BV by using only marker information. polygene BV; estimated BV by using only pedigree information. polygene+marker BV; estimated BV by using pedigree and marker information.

論文審査結果要旨

近年の分子生物学の進展により、家畜の産肉、肉質、繁殖形質等の量的形質に関与する DNA 領域 (QTL) が染色体上の位置に位置づけられ、その効果を直接検出する試みが行われている。本研究では、実際の育種改良を念頭に、ブタの交雑集団と純粋品種種内で QTL が検出可能かどうか、また、QTL 情報を用いたマーカーアシスト選抜(MAS)が効果的に利用可能かどうか検討した。

本研究では、(i) 候補遺伝子解析及び QTL 解析による QTL 効果の検出、(ii) 得られた QTL 情報の育種への利用法、の 2 点について検討した。候補遺伝子解析では、デユロック種選抜集団を用い、筋肉内脂肪 (IMF) とその候補遺伝子である心臓型脂肪酸結合タンパク質(H-FABP)遺伝子内の SNP 多型との関連性について調査し、3 つの SNP が原因変異と連鎖して存在してはいるが、IMF の直接の原因となる変異ではないことを明らかにした。QTL 解析では、はじめに F2 集団を用い、背脂肪の脂肪酸組成に影響を与える QTL を、相加的遺伝子効果とインプリンティング効果や QTL 間のエピスタシス効果について調査した。その結果、脂肪酸組成に関する 8 つの QTL と 2 つのインプリンティング QTL を検出できた。さらに、5 つの脂肪酸組成に関するエピスタシス QTL を初めて明らかにした。このことは複数の遺伝子が脂肪酸割合に関与しているを示すものである。次に、ランドレース純粋種 Half-sib 家系の脚弱形質 (肢蹄得点) に関する QTL 解析を行った結果、脚弱形質に影響を与える QTL が分離することを明らかにした。しかし、2 世代だけで血統情報が不十分な集団のため、検出力が低下することを指摘した。さらに、デユロック種選抜集団について、多世代家系の QTL 解析を行った結果、産肉、肉質形質に関する大きな効果の QTL が純粋種集団でも検出できた。最後に、QTL 解析により得られた QTL 情報を育種に利用する場合の方法について検討した結果、QTL 遺伝率の低い形質については、頭数の大小に関わらず従来の BLUP 法が有効であること、QTL 遺伝率が高くなるにつれて、表型値の頭数が少ない場合にはマーカー情報が育種価の推定に有効であることを明らかにした。

以上、本論文では 2 品種の交雑集団と 2 つの純粋集団の合計約 2,000 頭のブタを材料とし、候補遺伝子解析と QTL 解析を行った結果、遺伝的変異の大きい交雑集団に限らず遺伝的変異の小さい純粋種集団でも QTL が検出可能であることを明らかにした。また、これらの DNA マーカーを活用した効率的な育種改良方法を提案した。これらの新知見は、今後のブタの育種改良に大きく貢献するものであり、高く評価される。よって、審査員一同は、これを博士(農学)の学位授与に値するものと判定した。