

# 黒毛和種における塩基多型(SNP)情報解析

## (2) 沖縄県黒毛和種雌牛の遺伝的多様性と近交度のゲノムレベルでの評価

末澤遼平 佐々木慎二\* 具志尚子 平安山英登

### I 要 約

塩基多型(SNP)解析を用いて、沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団の遺伝的多様性と近交度を、ゲノムレベルで比較した結果、以下のとおりであった。

1. SNPマーカー間の連鎖不平衡の減衰は、沖縄県は他の国内集団と比較すると遅かった。
2. 集団の有効な大きさは、沖縄県は他の国内集団より小さく、両集団とも年々低下していた。
3. 連続するホモ接合領域(Runs of Homozygosity: ROH)から近交係数 $F_{ROH}$ を算出した結果、沖縄県は他の国内集団より近交係数が高く、また枝肉重量に関連する量的形質遺伝子座がROH化されている割合が高かった。

これらの結果から、ゲノム解析で収集されるSNPを活用することで、正確に遺伝的多様性と近交度をゲノムレベルで評価できることが明らかになった。

### II 緒 言

沖縄県では、前報でSNP情報を元にしたゲノム育種価の有効性が認められ<sup>1)</sup>、ゲノム育種価を現場後代検定牛選抜の指標として用いている。ゲノム育種価による種雄牛選抜は推定育種価による選抜に比べて、1回当たりの近交度の増加は少ないものの、世代間隔が短くなるため、1年当たりの近交度増加は高くなる<sup>2)</sup>。近交度が高くなりすぎると、近交退化や劣性(潜性)遺伝病の発生リスクが高くなるため<sup>3)</sup>、遺伝的多様性と近交度のコントロールは、沖縄県のように地理的に隔離された地域では特に重要となってくる。

そこで今回、ゲノム選抜の過程で収集されるSNP情報を元に、沖縄県黒毛和種雌牛の遺伝的多様性と近交度を他の国内集団とゲノムレベルで比較調査したので報告する。

### III 材料および方法

#### 1. 材料

県内10島の繁殖雌牛1031頭からのGGP LD v4.0 SNPチップで得られた30105個のSNPと、他の国内集団(東京芝浦市場および大阪南港市場にて収集した血液を用いた)から収集した繁殖雌牛788頭をBovine HD SNPチップで得られた75939個のSNPを用いた。

#### 2. SNP解析

##### 1) 事前処理

SNPチップは、マイナーアレル頻度<5%、SNPごとの型判定率<5%、個体ごとの型判定率<5%、遺伝子型のハーディーワインベルグ平衡検定P値<1%のSNPを取り除いた。GGP LD v4.0とBovine HDのSNPチップの情報を統合するため、ゲノム位置をARS-UCD1.2に統一後、両SNPチップで共通する21645個のSNPを以後の解析に用いた。

##### 2) 解析

各個体で連続するROHを特定することで、真の近交係数を算出するため、Plink1.9ツールを用い3Mbp以上のROHを、それぞれ個体ごとに算出後、ARS-UCD1.2ウシ参照ゲノムの常染色体を2489385779bpとし、近交係数 $F_{ROH}$ を算出した。主成分分析は、SNPデータからゲノム関係行列を作成後、主成分分析を行い固有種、固有ベクトル、第20主成分までの寄与率を求めた。

\* (大) 琉球大学

## IV 結果および考察

## 1. 沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団の連鎖不平衡の比較

沖縄県黒毛和種雌牛は連鎖不平衡の減衰が他の国内集団に比べて遅いことから、集団内の多様性が低いことが考えられる（図1）。

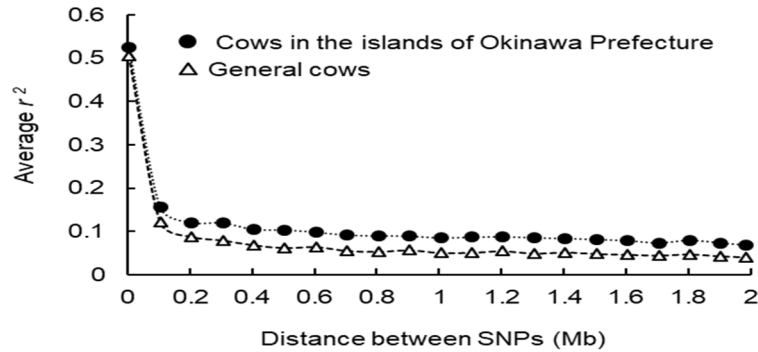


図1 沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団のSNPマーカー間の連鎖不平衡

注) 連鎖不均衡：特定の遺伝子座の(ハプロタイプ)の頻度が構成される各座位のアレル頻度より有意に高くなる集団遺伝学的な現象

## 2. 沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団の有効な集団の大きさの比較

沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団の有効な集団の大きさは世代ごとに減っており（図2），最新の有効な集団の大きさは10.8，23.2とともに小さかった（表1）。

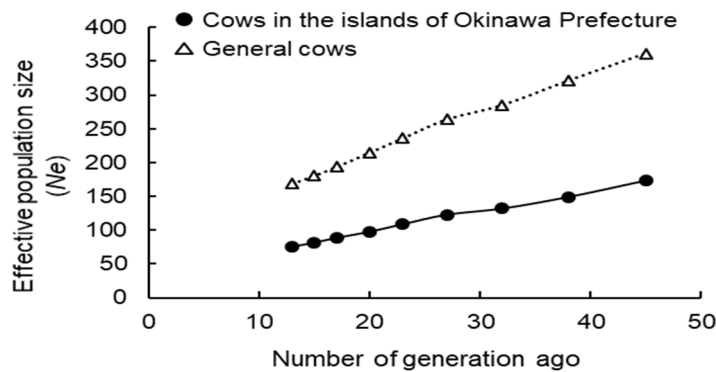


図2 沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団の有効な集団の大きさの推移

表1 沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団の有効な集団の大きさ

項目	全体の $r^2$	集団の大きさ	95%信頼区間
沖縄県	0.027	10.8	10.76~10.92
国内集団	0.015	23.2	23.07~23.38

## 3. 沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団のゲノムレベルでの近交度の比較

沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団の近交係数を算出するため、ROHを>1Mb，>3Mb，>6Mb，10Mbに分類し近交係数 $F_{ROH}$ を算出した結果（図3），いずれも沖縄県黒毛和種雌牛の方が他の国内集団に比べて近交係数が高く，連鎖不平衡の結果と一致した。ROH>3Mbの統計量は表2のとおりであった。

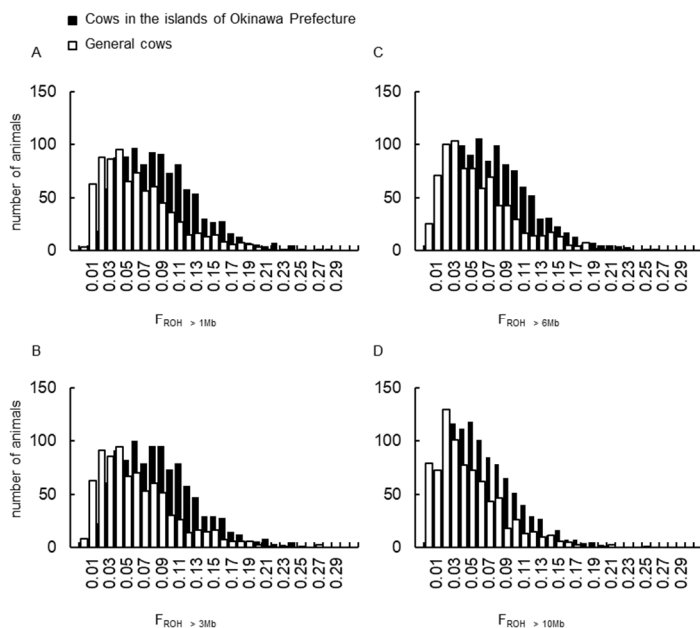


表2 沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団の近交係数の統計量

項目	平均近交係数	標準偏差
沖縄県	0.083	0.044
国内集団	0.058	0.044

図3 沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団の近交係数の分布

#### 4. ROH断片の頻度について

ROHを異なる個体で比較するため、ROHを重複しない断片に分割し集計した(ROH fragment:ROH\_FRAG)。沖縄県黒毛和種雌牛と他の国内集団で、合計9041個のROH>3Mb\_FRAG(アリル頻度は0.05以上)を検出し、集団間でROH\_FRAGを比較した結果、沖縄県黒毛和種雌牛でゲノムワイドに有意に頻度の高いROH\_FRAGを複数検出した(図4A)。これらの領域には、黒毛和種の枝肉重量の主要な量的形質遺伝子座(QTL)として同定されている<sup>4)</sup> NCAPG(図4B)と PLAG1(図4C)を含む領域が含まれていた。

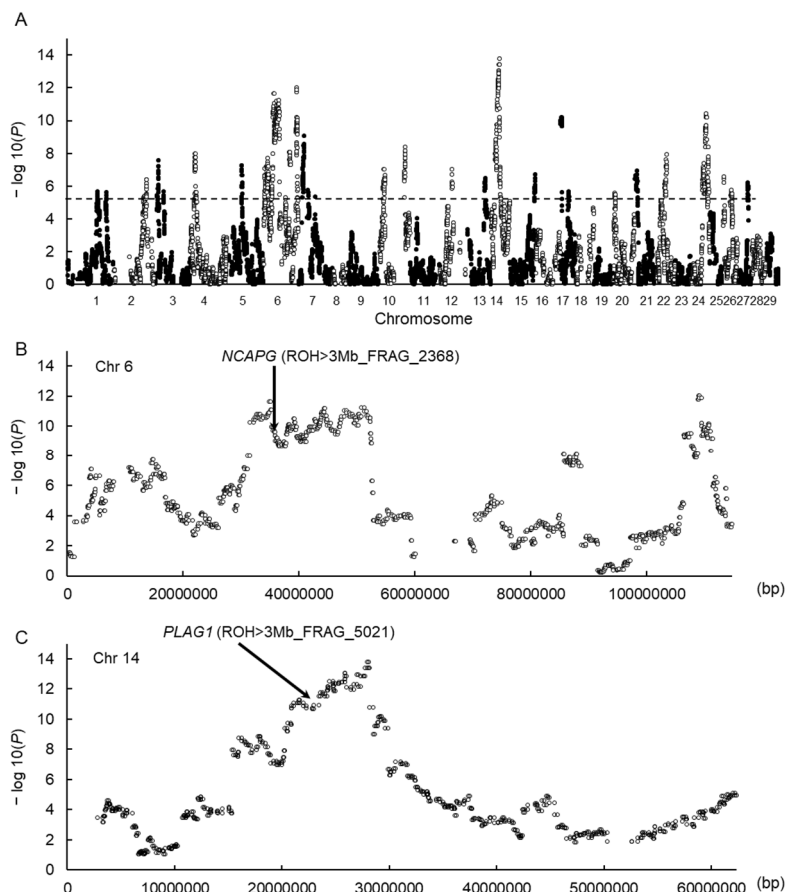


図4 沖縄県と他の国内集団とのROH>3Mbフラグメント領域

これらの結果から、沖縄県はこれまでの育種改良で枝肉重量に対して強い選抜が掛けられたことを反映し、他の国内集団と比較すると遺伝的多様性が低く、近交度が高い集団であることが、ゲノムレベルで明らかになった。今後、ゲノム解析で収集されるSNP情報を活用し、経済形質の改良に加え、確実にゲノムレベルで遺伝的多様性や近交度を評価することで、沖縄県の黒毛和種の持続的生産、育種改良が可能となると考えられる。なお、本研究の成果は、Animal Science Journal 2021, e13525に掲載した。

## 謝 辞

本研究のSNPタイピングにあたりご指導頂いた、独立行政法人家畜改良センターの職員の皆様に心から感謝申し上げます。なお、本研究はJRA助成事業「和牛の地域特性活用ゲノム選抜手法普及事業」により実施した。

## V 引用文献

- 1) 末澤遼平・本田祥嵩・小山秀美・井上慶一・笹子奈々恵・竹田将悠規・小島孝敏・荷川取秀樹 (2020) 黒毛和種における1塩基多型(SNP)情報解析(1)現場後代検定選抜におけるゲノム育種価の有効性の検討, 沖縄畜研研報, **58**, 12-16
- 2) Foutan, M., Ansari Mahyari, S., Baes, C., Melzer, N., Schenkel, F. S., & Sargolzaei, M. (2018) Sargolzaei, M. (2018). Inbreeding and runs of homozygosity before and after genomic selection in North American Holstein cattle. *BMC Genomics*, 19, 98
- 3) Curilk, I., Ferencakovic, M., & Solkner, J. (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livestock science*, 166, 26-34
- 4) Karim, L., Takeda, H., Lin, L., Druet, T., Arias, J. A., Baurain, D., & Coppieters, W. (2011). Variants modulating the expression of a chromosome domain encompassing PLAG1 influence bovine stature. *Nature Genetics*, 43, 405-413