

一塩基多型 (SNP) 情報を利用した沖縄アグー豚の遺伝能力評価

(2) DNA チップによる肉質形質の育種価推定

當眞嗣平 翁長桃子* 我那覇紀子** 鈴木直人

I 要 約

沖縄アグー豚 (アグー) における肉質の育種改良法を検討するため、DNA チップを利用した遺伝能力評価法を検討した。アグー雄と西洋系品種雌の交雑種 457 頭の肉質分析値と Illumina 社の Porcine SNP60 BeadChip から肉質形質の遺伝率とアグー種雄豚のゲノム育種価を推定した。アグー種雄豚のゲノム育種価の推定幅は、筋肉内脂肪含量が 4.66~0.37、破断応力が 4.99~-2.58、オレイン酸が 2.30~-1.62 であった。遺伝率は、おおむね文献値と近い値が推定されたことから、DNA チップを用いたゲノム育種価の有効性が示された。

II 緒 言

アグーは西洋品種に比べ産肉能力、繁殖性などの能力は劣るものの、肉質が優れており、消費者からも高い評価を受けている¹⁾。筆者ら²⁾は、アグーの肉質に関し、遺伝的差異が大きいことから改良の可能性と遺伝能力評価の必要性を報告した。種畜評価の指標として推定育種価が広く用いられている。しかしながら、育種価推定には、詳細な血統情報が必要であり、登録体制が整備されて日が浅いアグーにおいて、従来法による育種価推定は困難である。

近年、ゲノム全域を網羅した大量の SNP マーカーを用いて種畜評価を行うゲノム選抜法^{2~9)}が注目されている。ゲノム選抜法においては、SNP から血統情報を構築することで¹⁰⁾、ゲノム育種価の推定が可能である。前報告¹¹⁾では、アグー交雑種 200 頭の SNP 情報を用いて肉質形質の遺伝率とゲノム育種価を推定した。今回は、その精度を向上させる目的で分析頭数を増やし、アグーの肉質における遺伝的能力評価に向けた検討を行った。

III 材料および方法

1. 供試豚肉および DNA 抽出

平成 25 年 9 月から平成 28 年 1 月までの間、アグーブランド推進協議会の指定生産農場から出荷されたアグー交雑種 457 頭のロース部位を供試した。ロース部位の組織細胞をプロテイナーゼ K (10mg/ml:和光純薬工業株式会社製) を含んだ抽出バッファー (1.2%SDS, 12.0mM EDTA, 100mM Tris-HCl [pH8.5], 0.5%NP-40) で溶解後、自動核酸抽出装置 (プレジジョンシステムサイエンス社) で DNA を抽出した。

2. 分析項目

常法¹¹⁾に準じ上記サンプルの脂肪融点、水分含量、筋肉内脂肪含量、加圧保水性、圧搾肉汁率、加熱損失率、破断応力および脂肪酸組成を分析した。脂肪酸の抽出は Folch の方法¹²⁾で行い GC-MS (Agilent 7890GC/5975MSD) で測定を行った。カラムはキャピラリーカラム (DB-23) を用いた。

3. SNP マーカーのジェノタイピング

Illumina 社の Porcine SNP60 Genotyping BeadChip. Ver2 を用いて SNP 型を決定した。62163 個の SNP マーカーからアレル頻度が 0.01 以下、ハーデーワインベルグ平衡検定が 0.001 以下および性染色体に配置された SNP を除外し、最終的に 37589 個の SNP を解析に用いた。

4. 肉質形質の遺伝率とゲノム育種価の推定

統計モデルは、性と出荷年一季節を母数効果、個体の育種価を変数効果とする混合モデルとした。出荷年一季節の効果は出荷月を 3 月~5 月, 6 月~9 月, 10 月~11 月, 12 月~2 月の 4 つに区分し、平成 25 年 9 月から平成 28 年 1 月までをグループ分けしたもので 8 グループであった。分析モデルを (1) に示す。

* 現沖縄県農林水産部畜産課

** 現八重山農林水産振興センター

$$Y = Xb + Zu + e \quad \dots \dots (1)$$

ただし, Y : 各肉質測定値

X : 性および出荷年-季節の効果に対する計画行列

B : 性および出荷年-季節の効果

Z : 個体育種価に対する計画行列

U : 個体育種価

e : 誤差

(1)のモデルについて統計プログラムRのrrBLUPパッケージ¹³⁾を用いて各肉質測定値の遺伝率をREML法アニマルモデルにより推定し個体のゲノム育種価を算出した。その際の混合モデル方程式は式(2)のとおりである。(2)においては従来のBLUP法における分子血縁逆行列(A^{-1} 行列)の代わりに G^{-1} 行列を用いた。

$$\begin{bmatrix} X'X' & X'Z \\ Z'Z' & Z'Z + G^{-1}(\frac{1}{h^2} - 1) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{u} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'Y \\ Z'Y \end{bmatrix} \quad \dots \dots (2)$$

ただし, h^2 : 推定遺伝率

b : 性および出荷年-季節の効果

u : 個体の推定育種価

G^{-1} : ゲノム関係行列の逆行列

IV 結果および考察

表1に肉質形質の遺伝率を示した。筋肉内脂肪, 加圧保水性, 加熱損失率および脂肪融点は0.34~0.57の中程度の遺伝率が推定された。圧搾肉汁率は0.27, 破断応力は0.19と低い値であった。鈴木ら¹⁵⁾は, 加熱損失率の遺伝率が0.09と報告しており, 本試験では0.57と高めに推定された。脂肪酸組成の遺伝率は, ミリスチン酸とパルミチン酸以外は, 0.36~0.47と中程度の値が推定され, 鈴木ら¹⁵⁾の報告値と同程度であった。

表1 肉質形質の遺伝率

形質	平均	標準偏差	遺伝率	遺伝率 [※]	遺伝率 ^{※※}
筋肉内脂肪含量(%)	5.6	2.3	0.52	0.38	0.39 ¹⁵⁾
加圧保水性(%)	79.8	2.7	0.34	0.36	0.25 ¹⁶⁾
圧搾肉汁率(%)	41.6	2.5	0.27	0.58	0.12 ¹⁶⁾
加熱損失率(%)	28.6	2.7	0.57	0.83	0.09 ¹⁵⁾
破断応力(kgf/cm ²)	45.6	9.7	0.19	0.11	0.38 ¹⁵⁾
脂肪融点(°C)	34.8	2.5	0.45	0.18	0.61 ¹⁵⁾
脂肪酸組成(%)					
ミリスチン酸	1.5	0.2	0.70	0.75	0.15 ¹⁵⁾
パルミチン酸	28.2	2.8	0.26	0.37	0.30 ¹⁵⁾
パルミトリン酸	2.4	0.5	0.41	0.50	0.36 ¹⁵⁾
ステアリン酸	16.0	1.6	0.45	0.48	0.51 ¹⁵⁾
オレイン酸	42.6	3.5	0.36	0.30	0.28 ¹⁵⁾
リノール酸	8.7	1.2	0.47	0.53	0.32 ¹⁵⁾
α -リノレン酸	0.6	0.1	0.39	-	-

※ 當眞ら(2014)の報告値

※※文献値 肩番号は文献番号を表す

本試験では、前報告¹¹⁾と比べ文献値^{15, 16)}と比較的近い値が推定された。佐藤ら¹⁷⁾は、豚系統造成において精度の高い遺伝率を得るためには400頭程度の記録が必要であり、データ数が少ないと推定値に偏りが生じることを報告している。今回は400頭以上のデータを用いたことで遺伝率の推定精度は向上したと考えられる。遺伝的な変異の程度を示す遺伝率は、中程度の値でありアグーにおいて肉質を改良することは十分可能だと思われる。

表2にアグー種雄豚の推定ゲノム育種価を示した。一般的に豚は、肥育豚の親である種豚を特定することが難しく、種豚の育種価推定することができない。しかしながら、本試験ではゲノムを通じた関係性を基に交雑肥育豚からアグー種雄豚20頭について育種価を推定することができた。アグー種雄豚におけるゲノム育種価の推定幅は、筋肉内脂肪含量が4.66~-0.37、破断応力が4.99~-2.58、オレイン酸が2.30~-1.62であった。荒川ら¹⁸⁾は、本試験で用いたIllumina社のDNAチップでデュロック種のゲノム育種価を推定している。その結果、ゲノム育種価と従来のBLUP法による育種価との相関係数は高く、ゲノム育種価の有効性が示唆されている。しかし、Illumina社のDNAチップは主に西洋種のゲノム情報を基に開発されたことから、アグー集団においては多様性を示すSNP割合が低く¹⁹⁾、遺伝率や育種推定に偏りがある可能性も考慮する必要がある。現在、ゲノムリシーケンシングから、アグー集団内において多様性のあるSNPを直接検出し、カスタムチップの開発を行っており、これを利用することで、育種価の推定精度の更なる向上が期待できる。

表2 肉質形質におけるアグー種雄豚の推定ゲノム育種価

形質	推定ゲノム育種価		
	平均値	最大	最小
筋肉内脂肪 (%)	2.04	4.66	-0.37
加圧保水性	-0.49	1.85	-2.09
圧搾肉汁率	0.22	1.21	-1.37
加熱損失率	-0.49	3.38	-2.58
破断応力	0.38	4.99	-2.58
脂肪融点 (°C)	-0.89	2.16	-3.45
脂肪酸組成			
ミリスチン酸	0.07	0.23	-0.11
パルミチン酸	0.83	2.46	-1.11
パルミトレイン酸	0.30	0.76	-0.01
ステアリン酸	-0.57	0.70	-2.11
オレイン酸	0.38	2.30	-1.62
リノール酸	-1.08	0.07	-1.63
α-リノレン酸	-0.07	0.03	-0.11

V 引用文献

- 1) 日本食肉消費総合センター (2010) 第VI章消費者の肉の好み, H22-6月, 132, (http://www.jmi.or.jp/info/survey_file6/51.pdf)
- 2) 當眞嗣平・我那覇紀子・親泊元治・野中克治 (2014) 豚肉の肉質に及ぼすアグー種雄豚の影響, 沖縄畜研研報, 52, 27-29
- 3) Meuwissen T.H.E., B.J. Hayes and M.E. Goddard (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps, *Genetics*, 157, 1819-1829
- 4) Meuwissen T.H.E., M.E. Goddard (2001) Accurate prediction of genetic values for complex traits by whole-genome resequencing, *Genetics*, 185, 623-631
- 5) 長嶺慶隆 (2012) SNP マーカーを用いたゲノム研究と今後の家畜育種, 日畜会報, 83, 1-8
- 6) 長嶺慶隆 (2013) ゲノム情報と家畜育種, 動物遺伝育種研究, 41, 15-22
- 7) 広岡博之 (2010) 家畜の育種価推定の変遷—選抜指数法からゲノム選抜法まで—, 動物遺伝育種研究, 38, 93-98

-
- 8)長嶺慶隆 (2014) ゲノミック選抜, 畜産技術, **2**, 40
 - 9)佐分淳一 (2010) ジェノミックを利用した遺伝的能力評価の試み, 畜産技術, **11**, 2-5
 - 10)A Nejadi-Javaremi, C Smith and J P Gibson (1997) Effect of total allelic relationship on accuracy of evaluation and response to selection. *Journal of Animal Science*, **75**, 1738-1745
 - 11)當眞嗣平・我那覇紀子・親泊元治・野中克治 (2014) 一塩基多型(SNP)情報を利用した沖縄アグー豚の遺伝能力評価, 沖縄畜研研報, **52**, 31-34
 - 12)食肉の理化学分析及び官能評価マニュアル, 独立行政法人家畜改良センター
 - 13)Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane Stanley(1957)A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues:*J. Biol. Chem*, **226**, 497-509
 - 14)Endelman, J. B. (2011) Ridge regression and other kernels for genomic selection with R package rrBLUP. *Plant Genome* 4:250-255
 - 15)鈴木啓一・門脇宏・柴田知也・西田朗(2004)豚の産肉性, 肉質及び生理的形質間の遺伝的関連, 動物遺伝育種研究, **32**, 29-42
 - 16)Lo LL, McLaren DG, McKeith FK, Fernando RL, Novakofski J (1992) Genetic analysis of growth, realtime ultrasound, carcass and pork quality traits in Duroc and Landrace pigs. II. Heritabilities and correlations. *Journal of Animal Science*, **70**, 2387-2396
 - 17)佐藤正寛・古川力・石井和雄 (1999) 豚系統造成において個体数が単一形質のREML法による分散成分および育種価の推定に及ぼす影響, 日豚会誌, **36**, 130-135
 - 18)荒川愛作・奥村直彦・松本敏美・廣瀬健右・普川一雄・伊藤哲也・林武・上西博英・美川智 (2012) デュロック閉鎖集団におけるゲノム育種価の正確度の検討, 日本畜産学会第115回大会講演要旨, 165
 - 19)當眞嗣平・島袋宏俊・親泊元治・我那覇紀子・光部柳子・野中克治・奥村直彦・荒川愛作(2013) SNPマーカーを用いたアグーの遺伝構造解析, 沖縄畜研研報, **51**, 17-20
-

付属資料

沖縄アグー種雄豚推定育種値一覧

アグー種雄豚	筋肉内脂肪含有量(%)	加圧保水性(%)	加熱損失率(%)	圧搾肉汁率(%)	破断応力 kgf/cm ²	ミリステチン酸(%)	パルミチン酸(%)	パルミトリン酸(%)	ステアリン酸(%)	オレイン酸(%)	リノール酸(%)	α-リノレン酸(%)
A	2.551	-1.091	-1.580	0.966	-1.193	0.042	0.973	0.288	-0.561	0.617	-1.514	-0.089
B	2.438	-1.305	0.573	0.686	-1.494	-0.021	0.517	0.347	-0.817	1.473	-1.514	-0.114
C	2.709	-1.603	0.412	-0.024	-0.828	0.138	1.148	0.392	-1.146	0.251	-0.996	-0.060
D	1.009	-1.458	-0.322	0.288	2.815	0.177	1.225	0.455	-0.526	-0.142	-1.359	-0.079
E	1.350	-0.456	-1.140	-0.758	-0.738	0.094	1.159	0.108	0.864	-0.863	-1.350	-0.095
F	0.947	0.022	-0.323	0.616	4.992	0.231	1.262	0.537	-1.021	0.069	-1.206	-0.051
G	2.941	1.470	-2.579	0.488	3.236	0.026	0.774	0.080	0.597	-0.041	-1.360	-0.065
H	3.400	-0.322	0.660	-0.465	0.769	0.161	1.396	0.681	-2.248	0.073	-0.351	-0.014
I	2.288	-0.445	0.053	1.025	-0.226	0.044	0.760	0.389	-1.406	1.137	-1.058	-0.075
J	2.339	-0.971	-0.753	0.962	1.171	0.031	0.656	0.448	-0.786	1.092	-1.422	-0.088
K	1.641	-0.755	-0.758	1.206	0.356	-0.040	0.743	0.222	-0.300	0.903	-1.487	-0.102
L	1.691	-1.036	0.128	0.080	-1.371	-0.019	0.742	0.185	0.045	0.652	-1.636	-0.093
M	2.403	-2.894	1.722	0.037	-2.576	-0.018	0.100	0.049	-0.176	1.162	-1.104	-0.091
N	-0.369	-2.086	3.381	-1.369	-0.489	-0.094	-0.196	0.252	-0.773	2.149	-1.280	-0.071
O	0.349	0.944	-2.010	1.192	3.050	0.015	-0.551	0.036	-0.457	0.628	0.300	0.026
P	0.127	-0.271	-0.280	0.084	-1.738	-0.184	-0.074	0.153	-0.477	0.706	-0.087	-0.014
Q	3.451	0.166	-1.387	0.556	0.370	-0.037	0.788	0.162	-0.325	0.654	-1.275	-0.099
R	4.663	0.050	-1.479	0.962	0.810	0.204	1.560	0.380	-1.188	-0.346	-0.687	-0.046
S	1.957	1.846	-2.184	-1.147	1.009	0.338	2.196	0.577	-0.359	-1.852	-1.118	-0.044
T	2.936	0.393	-1.908	-1.081	-0.234	0.262	1.437	0.309	-0.288	-0.712	-1.148	-0.066
U	2.041	-0.490	-0.489	0.215	0.385	0.068	0.831	0.303	-0.567	0.380	-1.083	-0.066
V	4.663	1.846	3.381	1.206	4.992	0.338	2.196	0.681	0.864	2.149	0.300	0.026
W	-0.369	-2.894	-2.579	-1.369	-2.576	-0.184	-0.551	0.036	-2.248	-1.852	-1.636	-0.114