

氏名(本籍)	廣瀬健右(茨城県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	乙第4号
学位授与年月日	平成25年11月25日
学位授与の要件	学位規則第3条第3項該当
学位論文題名	Genetic studies on usefulness of gene markers in Duroc pig population improved by closed nucleus breeding system. (閉鎖群育種によって造成されたデュロック種豚における遺伝子マーカーの有用性に関する研究)
論文審査委員	(主査) 田中和明 (副査) 滝沢達也 村上賢

論文内容の要旨

日本における種豚の育種改良は、一般的に純粋種の繁殖能力、産肉能力および、肉質などの経済形質を対象に行われている。種豚の改良手法は、開放型育種と閉鎖群育種に大別される。開放型育種は、基礎集団に随時外部から優良な個体を導入し短期間で能力の向上を図る手法で、主に国内外の民間種豚会社が用いる改良手法である。閉鎖群育種は、我が国独自に発展を遂げた改良手法で、群外から新たな個体の導入がない閉鎖集団内で交配を行い、後代の能力検定と選抜を、5~7世代にわたり継続する。これにより、遺伝的斉一性が高まり、個体間の能力差が小さい系統を作り出すことが可能となる。2つの改良手法ともに個体の選抜は、形質の表型値、環境効果および、家系血縁情報をもとにBLUP法を用いて算出した各個体の遺伝的能力(育種価)を用いて実施するのが一般的である。

近年、効率的な育種改良を行うために、形質と関連する遺伝子マーカーの開発が盛んに行われている。しかし、実際の種豚の改良に、遺伝子マーカーが活用されている例は、まだ少ない。これは、育種価に基づいた選抜改良に個々の遺伝子マーカー情報を反映する手法が十分に確立していないからである。特に、日本では重要な育種戦略である閉鎖群育種に対して、遺伝子マーカー情報を活用する方法は、これまで研究されていない。

本研究では、閉鎖群育種を用いて造成したデュロック種集団を対象に、産肉性や肉質などの経済形質に相関する遺伝子マーカーの探索を行った。さらに、遺伝子マーカー情報を、統計モデルに組み入れることで、選抜改良の指標となる育種価の推定精度がどのように変化するかを検討し、実際の改良に遺伝子マーカー情報を活用する手法の開発と、その有用性を検証した。

本論文は5つの章で構成されており、第1章では、第2章以降の研究の基盤となるデュロック種集

団の計測値に対する各種統計分析を実施した。第 2 章では、*ADRB3* 遺伝子型多型と産肉形質との関連性解析、第 3 章では *PIK3C3* 遺伝子型多型と産肉形質の関連性解析、第 4 章では、*VRTN* 遺伝子と産肉形質および体尺測定値との関連性解析を実施した。第 5 章では、第 3 章と第 4 章で解析した 2 つの遺伝子に、先行研究で形質との相関が報告されている *LEP*、*LEPR* および *MC4R* 遺伝子を加えた、5 つの遺伝子の組み合わせ効果を考慮した統計モデルを考案し適合度を比較検討した。

第 1 章 系統造成手法を用いたデュロック種集団の育種改良試験

1 日平均増体重、背脂肪厚、および筋肉内脂肪割合を選抜形質をとし、5 世代にわたって多形質アニマルモデル BLUP 法により各形質の育種価を算出し、総合育種価、体型、家系をもとに個体の選抜を行なった。この系統造成の過程で測定した表現型値の変化に対して理論育種学的分析を行った。系統が完成した第 5 世代目を、第 1 世代と比較すると、1 日平均増体重、背脂肪厚および、筋肉内脂肪割合に対する育種価は、それぞれ 82g/日、0.32cm、0.83%増加していた。また、第 5 世代における血縁係数は 10.09%、近交係数では 3.15%であり、全ての個体は、互いに血縁関係を有していた。

第 2 章 デュロック種集団におけるブタ *ADRB3* 遺伝子と産肉形質の関係

ADRB3 遺伝子の変異は、ヒトにおいて成人型肥満と関連付けられている。ブタ *ADRB3* 遺伝子には、エクソン 2 におけるチミン塩基の挿入/欠失による多型 (T5 型、T6 型) が存在するが、形質への影響は不明であった。本章では第 1 章で詳説したデュロック種集団に含まれる 735 個体を用いて *ADRB3* 遺伝子多型と 1 日平均増体重、ロース芯面積、背脂肪厚および筋肉内脂肪割合との関連性を調査した。1 日平均増体重、背脂肪厚、筋肉内脂肪割合においては *ADRB3* 遺伝子型による差は見られなかった。しかし、雌においてロース芯面積と *ADRB3* 遺伝子型間に有意な相関が認められ、T6 対立遺伝子にはロース芯面積を増加させる効果が認められた。さらに、多形質アニマルモデル BLUP で求めたロース芯面積の育種価と *ADRB3* 遺伝子型間にも有意な相関が検出された。以上の結果から、*ADRB3* 遺伝子はデュロック種においてロース芯面積に対する遺伝子マーカーに成り得ることが示唆された。

第 3 章 デュロック種集団におけるブタ *PIK3C3* 遺伝子と産肉形質との関係

PIK3C3 遺伝子のエクソン 24 に存在する SNP (c.2604C>T) は、ブタの背脂肪厚と相関があるとの報告されているが、まだ十分な検証が行われていない。本章研究では、本第 1 章で詳説したデュロック種集団から 739 個体を用いて *PIK3C3* 遺伝子の遺伝子型多型と産肉形質との関連性を調査した。その結果、1 日平均増体重、背脂肪厚、ロース芯面積、および筋肉内脂肪割合において *PIK3C3* 遺伝子型による差が見られた。c.2604C 対立遺伝子は、1 日平均増体重、背脂肪厚、筋肉内脂肪割合を増加させ、逆にロース芯面積を減少させる効果が認められた。*PIK3C3* 遺伝子型の情報を固定効果とした数学モデルでは、遺伝子型の効果を含まないモデルよりも AIC 値 (赤池情報量基準) が小さくなり、モデルの適合度がよくなることが示された。本研究の結果から *PIK3C3* (c.2604C>T) 遺伝子型多型は、

デュロック種において産肉形質を改良するための有用な遺伝子マーカーに成り得ることが示唆された。

第4章 デュロック種集団におけるブタ *VRTN* 遺伝子と産肉形質の関係

ランドレース種、デュロック種などの西洋品種の椎骨数の多様性は、*VRTN* 遺伝子によって支配されていることが明らかになっている。西洋品種の *VRTN* 遺伝子には、複数の多型から構成される増大型と野生型の2つのハプロタイプが存在する。椎骨数は枝肉形状と強く相関があるものの、*VRTN* 遺伝子と発育、産肉形質との関連性は、明らかになっていない。本章では第1章で詳説したデュロック種集団から1414個体を用いて *VRTN* 遺伝子の遺伝子型と産肉形質及び体尺測定値との関連性について調査した。その結果、本研究で用いたデュロック種集団でも、以前の研究と同様に *VRTN* 遺伝子が体長と密接に関連することが確認された。さらにロース中の筋肉内脂肪割合と *VRTN* 遺伝子型間にも有意な関連が認められ、野生型は増大型よりも筋肉内脂肪割合が高いことが明らかとなった。本章の結果から、デュロック種において *VRTN* 遺伝子の多型は、椎骨数だけではなく、筋肉内脂肪割合を改良するための遺伝子マーカーにもなり得ることが示された。

第5章 デュロック種集団における複数の遺伝子 (*LEP*, *LEPR*, *MC4R*, *PIK3C3*, *VRTN*) と産肉形質の関係およびモデルの適合度の評価

これまでにブタの産肉形質に関連する多くの遺伝子マーカーが報告されている。背脂肪厚などの量的形質は、数多くの遺伝子が関与しているため、複数の遺伝子マーカーを組み合わせる利用することが、育種改良において有効であると思われる。しかしながら、これまでに複数の遺伝子マーカーの組み合わせ効果について検証されている報告はほとんどない。本章では、第1章で詳説したデュロック種集団から1414個体を用いて第3章で産肉形質との相関が検出された *PIK3C3* 遺伝子、第4章で筋肉内脂肪割合との相関が検出された *VRTN* 遺伝子に、先行研究において産肉形質との関連性が報告されている3つの遺伝子 (*LEP*, *LEPR*, *MC4R*) を加えた合計5つの遺伝子の組み合わせ効果を解析した。さらに、各遺伝子の効果を組み合わせたモデルについてAICを用いて適合度の比較を行った。その結果、1日平均増体重では、3遺伝子 (*LEPR*, *MC4R*, *PIK3C3*)、背脂肪厚では4遺伝子 (*MC4R*, *LEPR*, *PIK3C3*, *VRTN*)、筋肉内脂肪割合では2遺伝子 (*LEPR*, *VRTN*) の効果を固定効果としてモデルに含めた時に、最も適合度が高くなった。すなわち、本研究の結果により、複数の遺伝子の効果を、それぞれ固定効果として数学モデルに適合すると、育種価の推定精度が向上することが示された。

総合考察

本研究では、形質と相関関係にある複数の遺伝子マーカーの効果を同時に母数効果としたモデルの適合度が、遺伝子マーカーの効果を考慮しない従来のモデルに比べて高くなることが示された。したがって、外部からの個体の導入がない閉鎖群育種集団の改良に遺伝子の効果を利用する場合、初期世代において形質と相関があるマーカーを検索し、従来のBLUP法を用いたモデルに、それらを母数効

果として組み込めばよいことが明らかとなった。

以上、本研究で得られた多くの知見によって、閉鎖群育種による種豚改良に対して、有効な遺伝子マーカーと遺伝子情報を効率的に活用するための統計手法を開発することができた。

論文審査の結果の要旨

近年の遺伝子解析技術の急速な発展に伴って、ブタの様々な経済形質と関連する遺伝子マーカーの探索が活発に行われている。しかし、ブタの品種改良における遺伝子マーカー情報の利用は、ストレス症候群感受性遺伝子の排除など、メンデル性の単純な遺伝様式をとる形質を対象としたものしか実用化されていない。これは、1日平均増体重、背脂肪厚および、筋肉内脂肪割合といった改良の対象となる経済形質の多くが、複数の遺伝子と環境要因が相互に影響を持つ量的形質であるためである。量的形質では、形質と関連を持つ遺伝子マーカーが発見されても、個々の遺伝子によって説明できる表現型分散の割合が小さいために、少数の遺伝子マーカーに極度に依存した選抜は有効ではない。種豚の選抜改良では、個体の表現型値、環境効果および、家系情報をもとに個体の遺伝的能力を推定した育種価が重要な尺度として用いられている。このため、遺伝子マーカー情報を種豚改良に活用するためには、育種価の推定にマーカー情報を取り入れる手法を確立する必要がある。

我が国の養豚現場では、三元交配を用いた生産が広く普及しているため遺伝的斉一性の高い種豚系統が必要となる。このため、群外からの遺伝子の導入がない閉鎖集団内で選抜改良を行う閉鎖群育種が重要な改良戦略となっている。しかし、海外では閉鎖群育種への依存度が、我が国に比べて小さいため遺伝子マーカー情報を閉鎖群育種に活用する手法は、これまで検討されていない。本研究の目的は、閉鎖群育種によって造成されたデュロック種の集団を用いて、脂肪蓄積や発育との関連が報告されている遺伝子を解析することで、ブタの改良に有効な遺伝子マーカーの開発と、遺伝子マーカー情報を改良に活用するための統計手法を確立することである。

本論文は、5つの章で構成されており、第1章では多形質アニマルモデル BLUP 法により各形質の育種価を算出し、総合育種価、体型、家系をもとに5世代にわたって個体の選抜を行なった育種改良試験の結果が詳細な統計分析とともに示されている。この章で示されている統計値は、第2章以降の研究の基礎データとなっている。

第2章では、ブタ *ADRB3* 遺伝子のコーディングエクソン内に存在する T 塩基の挿入の有無によって生じる T5/T6 多型と、1日平均増体重、ロース芯面積、背脂肪厚および筋肉内脂肪割合との関連性を調査している。*ADRB3* 遺伝子の多型は、雌雄ともに1日平均増体重、背脂肪厚、および筋肉内脂肪割合に効果を持たなかった。しかし、雌においてロース芯面積と *ADRB3* 遺伝子の間に有意な相関が認められ、T6 対立遺伝子にはロース芯面積を増加させる効果が認められた。さらに、多形質アニマルモデル BLUP 法で求めたロース芯面積の育種価と *ADRB3* 遺伝子型間にも有意な相関が検出された。

以上の結果から、*ADRB3* 遺伝子はデュロック種においてロース芯面積に対する遺伝子マーカーに成り得ることが示唆された。しかし、研究対象の集団は、ロース芯面積を選抜形質としていないため、第3章以後の研究では、*ADRB3* 遺伝子は、解析対象からは除外されている。

第3章では、ブタ *PIK3C3* 遺伝子のエクソン 24 に存在する SNP (c.2604C>T) と産肉形質との関連性解析が行われている。その結果、c.2604C 対立遺伝子は、1日平均増体重、背脂肪厚、筋肉内脂肪割合を増加させ、逆にロース芯面積を減少させる効果が認められた。*PIK3C3* 遺伝子の多型情報を固定効果とした統計モデルでは、遺伝子型の効果を含まないモデルよりも赤池情報量基準値が小さくなり、モデルの適合度がよくなることが示された。本研究の結果から *PIK3C3* 遺伝子 (c.2604C>T) 多型は、デュロック種において産肉形質を改良するための遺伝子マーカーに成り得ることが示唆された。

第4章では、ブタ *VRTN* 遺伝子の複数の変異の組み合わせからなる増大型と野生型ハプロタイプと産肉形質および体尺測定値との関連性解析が行われている。その結果、*VRTN* 遺伝子の遺伝子型は、体長と密接に関連することが確認された。さらに、ロース筋肉内の脂肪割合と *VRTN* 遺伝子型間に有意な関連が認められ、野生型は増大型よりも筋肉内脂肪割合が高くなることが明らかとなった。本章の結果から、デュロック種において *VRTN* 遺伝子の多型は、椎骨数だけではなく、筋肉内脂肪割合を改良するための遺伝子マーカーにも成り得ることが示された。

第5章では、第3章と4章で解析された2つの遺伝子に、先行研究から、ブタの1日平均増体重、背脂肪厚および、筋肉内脂肪割合との相関が報告されている *LEP*、*LEPR* および *MC4R* 遺伝子を加えた、5つの遺伝子の組み合わせ効果を考慮した統計モデルを考案し適合度を比較検討している。その結果、1日平均増体重では *LEPR*、*MC4R* および *PIK3C3* の3遺伝子、背脂肪厚では *MC4R*、*LEPR*、*PIK3C3* および *VRTN* の4遺伝子を固定効果としてモデルに組み入れた時に、適合度が最も高くなることを明らかにした。これにより、複数の遺伝子の効果を、それぞれ固定効果として統計モデルに適応すると、育種価の推定精度が向上することが示された。これに対して、*LEP* 遺伝子の多型は、本研究で用いたデュロック種に対して調査対象形質と相関を示さず、組み合わせ効果も認められなかった。以上の結果から、外部から新しい個体の導入がない閉鎖群育種では、初期世代において形質と相関がある遺伝子マーカーを特定し、以後は、マーカー情報を母数効果として BLUP 法に組み入れれば、育種価の推定精度が向上されることを明らかにした。

以上、本学位申請論文は、種豚改良に有効な遺伝子マーカーおよび、これを実際の改良に活用するための統計手法が示されており、我が国の養豚産業に大きく貢献しうる新しい知見を提供していることから、博士（学術）の学位を授与するにふさわしい業績であると判定した。