日本動物遺伝育種学会第 17 回大会

講演要旨集

2016 年 11 月 5～6 日

名古屋大学大学院工学研究科 ES 総合館

（名古屋市千種区不老町）

Japanese Society of Animal Breeding and Genetics

日本動物遺伝育種学会

日本動物遺伝育種学会第 17 回大会

講演要旨集

日時：2016 年 11 月 5 日(土)～ 6 日(日)
場所：名古屋大学大学院工学研究科 ES 総合館
(名古屋市千種区不老町)

主催：日本動物遺伝育種学会
後援：名古屋大学

１．日本動物遺伝育種学会第 17 回年次大会

１日目：2016 年 11 月 5 日（土）　名古屋大学大学院工学研究科 ES 総合館

シンポジウム、ポスター発表、懇親会

（１）受付開始	8:30 ~	エントランスホール
（２）実行委員長挨拶	9:00 ~ 9:05	ES ホール
（３）日本動物遺伝育種学会シンポジウム	9:05 ~ 12:00	ES ホール

テーマ：「ポスト QTL 時代の QTG・QTN 研究の現状と展望」

座長：小林 栄治（国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門）

１．「黒毛和種の繁殖能力に関わる多型・変異の迅速な同定に向けた多様体データベースの構築」

佐々木 慎二（公益社団法人 畜産技術協会附属動物遺伝研究所）　9:05 ~ 9:45

２．「ポストゲノムにおけるブタの経済形質関連遺伝子の探求」）　9:45 ~ 10:25

美川　智（国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門）

３．「養殖魚におけるゲノム情報を利用した育種の取り組み」　10:25 ~ 11:05

荒木 和男（国立研究開発法人 水産研究・教育機構 増養殖研究所・育種研究センター）

４．「マウスの成長形質関連遺伝子の探索」　11:05 ~ 11:45

石川　明（国立大学法人 名古屋大学大学院生命農学研究科）

５．総合討論　11:45 ~ 12:00

（４）昼食・ポスター展示	12:00 ~ 13:30	
（５）ポスター発表	13:30 ~ 17:00	エントランスホール
（６）懇親会	18:00 ~ 20:00	レストラン花の木

２日目：2016 年 11 月 6 日（日）　名古屋大学大学院工学研究科 ES 総合館

特別賞選考対象演題の口頭発表、総会

（１）受付開始	8:30 ~	エントランスホール
（２）特別賞選考対象演題の口頭発表	9:00 ~ 11:00	ES ホール
（３）休憩	11:00 ~ 11:30	
（４）総会、学会長特別賞授与式	11:30 ~ 12:30	ES ホール

２．会場

「大会受付」、「ポスター発表」

国立大学法人　名古屋大学大学院工学研究科　ES 総合館　エントランスホール

（〒464-8601　名古屋市千種区不老町）

「実行委員長挨拶」、「日本動物遺伝育種学会シンポジウム」、「特別賞選考対象演題の口頭発表」、「総会、学会長特別賞授与式」

国立大学法人　名古屋大学大学院工学研究科　ES 総合館　ES ホール

（〒464-8601　名古屋市千種区不老町）

「懇親会」

国立大学法人　名古屋大学　レストラン花の木

（〒464-8601　名古屋市千種区不老町）

３．連絡先

名古屋大学大学院生命農学研究科内
日本動物遺伝育種学会第 17 回年次大会実行委員会
大会実行委員長　石川　明（名古屋大学）
Tel/Fax：052-789-4101
E-mail： ishikawa@agr.nagoya-u.ac.jp

４．参加費

（１）大会参加費

普通会員：前納　5,000 円　当日　6,000 円
学生会員：前納　2,000 円　当日　3,000 円
非会員　：前納　6,000 円　当日　7,000 円

（２）懇親会費

前納のみ　4,000 円（学生会員 2,000 円）

５．ポスター発表および特別賞選考対象演題の口頭発表について

（１）ポスター貼付のスペースは幅 80cm、高さ 120cm 以内でお願いします。

（２）ボードの左上に掲示された演題番号（あらかじめ発表者に通知します）を確認の上、所定のパネルに貼付を行って下さい。

（３）ポスターの発表者は、13:30~17:00 の間にセッション別に、5 分以内の個別説明をお願いします。

（４）特別賞選考対象者（年齢 35 歳以下の者）はポスターに加えて、口頭発表用のパワーポイントファイル（Windows 用）を USB メモリでお持ち下さい。２日目の受付時に、パワーポイントファイルを担当係がパソコンにコピーします（学会終了後にコピーしたファイルは削除します)。

（５）本年度大会では、各ポスター発表後に演題の中から各研究領域を代表する特別賞選考対象演題（最大 8 題）を選考します。選出された演題は懇親会会場で発表します。特別賞選考対象演題の発表者は 11 月 6 日 9:00 ~ 11:00 の間にパワーポイントファイルを用いた口頭での発表（発表 7 分、質問 3 分）をお願いします。その中からプレゼンテーション、内容等が特に優秀と認められる者に学会長特別賞を授与いたします。授与式は総会後に会場で行います。

（６）スケジュール

１日目

ポスター貼付：　12:00 ~ 13:30
個別説明、自由討論：　13:30 ~ 17:00
撤去：　17:00 ~ 17:30

２日目

ファイル受付：　8:30 ~　9:00
口頭発表：　9:00 ~ 11:00

６．委員会・理事会の開催

企画運営委員会・新旧合同円卓理事会　　2016 年 11 月 4 日（金）15:00 ~ 17:00

場所：名古屋大学大学院生命農学研究科 A 館 3 階 334 号室

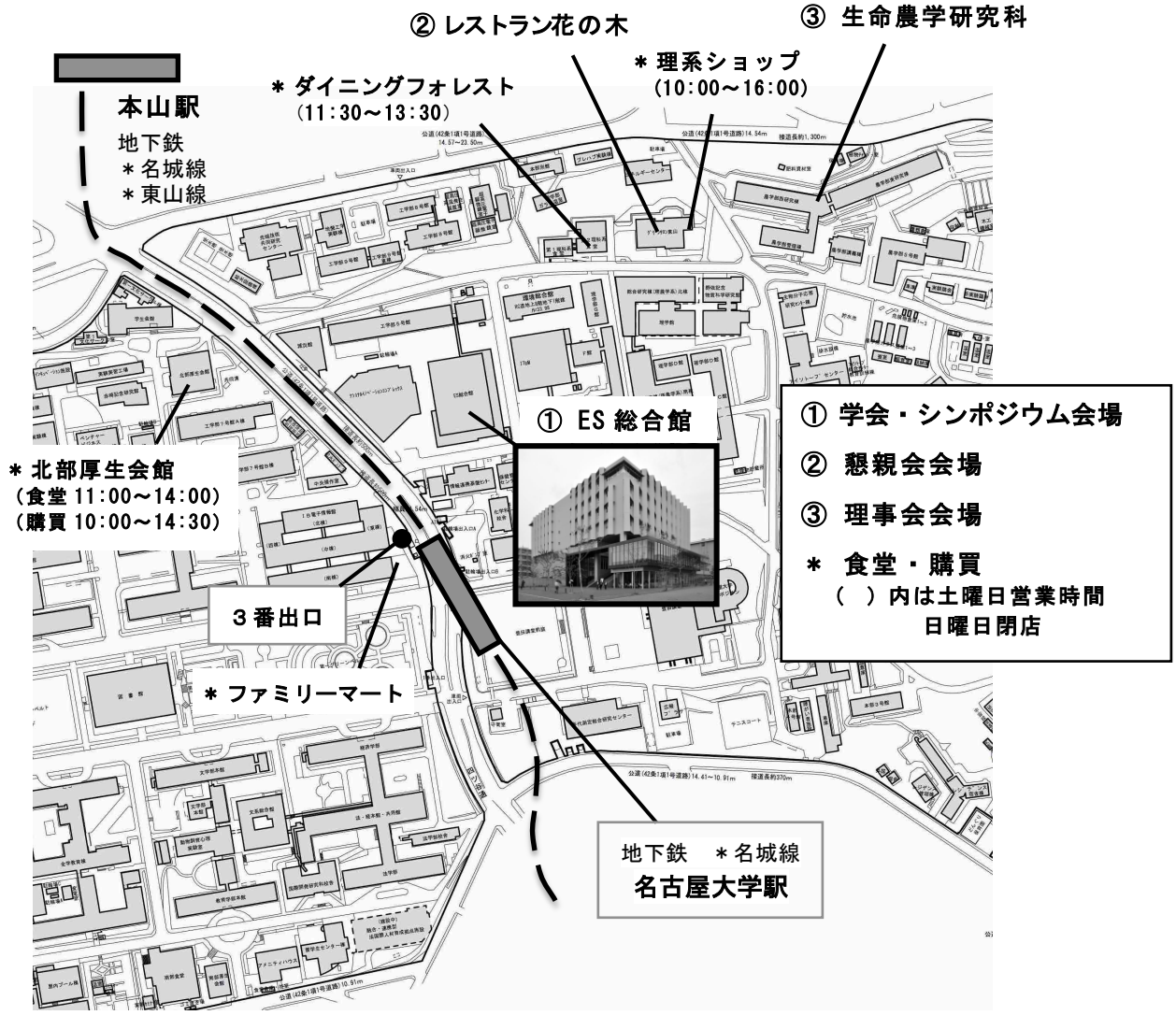
９．大会運営組織

大会実行委員長：石川　明（名古屋大学）

大会副実行委員長：山縣 高宏（名古屋大学）

後援：名古屋大学

会場案内図



プログラム

（1）ポスター発表 1　　11 月 5 日　13：30 ～ 15：00　エントランスホール

I-01 ～ I-10　　座長：上西博英(農研機構生物機能)、戸崎晃明(競走馬理化研)

II-01 ～ II-09　　座長：大山憲二(神戸大院農)、三宅　武(京大院農)

（2）ポスター発表 2　　11 月 5 日　15：30 ～ 17：00　エントランスホール

III-01 ～ III-09　座長：下桐　猛(鹿児島大農)、谷口雅章(農研機構畜産)

IV-01 ～ IV-09　座長：村山美穂(京大野生動物研究センター)、平野　貴(東京農大農)

I ～ IV のポスター発表時間は、発表 5 分、質疑応答 3 分の合計 8 分です。

（3）学会長特別賞候補演題口頭発表　　11 月 6 日　9：00 ～ 11：00　ES ホール

本年度大会では、各ポスター発表後に演題の中から各研究領域を代表する特別賞選考対象演題（最大 8 題）を選考します。選出された演題は懇親会会場で発表します。

発表時間は、発表 7 分、質疑応答 3 分の合計 10 分です。

◎は、特別賞選考対象者です。

I.

ポスター発表 1　　11 月 5 日　13：30 ～ 15：00　エントランスホール

座長：上西博英（農研機構生物機能）、戸崎晃明（競走馬理化研）

I-01　陳旧試料に対する簡易検出 PAS 法を用いた分子種判別法の構築
◎伊藤文香（広大院生物圏）、大西諒貴（広大院生物圏）、山下裕樹（クラボウ）、安江博（農業生物資源研、つくば遺伝子研）、西堀正英（広大院生物圏）

I-02　見島牛・口之島牛および黒毛和種のウシ主要組織適合遺伝子領域のリシークエンスによる比較解析
〇竹嶋伸之輔（理研分子ウイルス）、細道一善（金沢大医薬保健研究域）、万年英之（神戸大農）、国枝哲夫（岡山大環境生命科学研究科）、印牧美佐生（家畜学研究所）、下桐猛（鹿児島大農）、間陽子（理研分子ウイルス）

I-03　牛白血病ウイルスの共通 B 細胞エピトープとその抗体結合部位の同定
◎Bai Lanlan（理研分子ウイルス）、竹嶋伸之輔（理研分子ウイルス）、磯貝恵美子（東北大生物生産創成科学）、間陽子（理研分子ウイルス）

I-04　豚の背脂肪厚に関連する遺伝子発現量解析
〇谷口雅章（農研機構畜産）、小島美咲（農研機構畜産）、中島郁世（農研機構畜産）、中村有希（農研機構果樹茶業）、松本敏美（農研機構次世代作物）、上西博英（農研機構生物機能）、美川智（農研機構畜産）

I-05　日本鶏品種オオシャモにおける *MC1R* 遺伝子多型
◎竹之内惇（広大院生物圏）、河上眞一（広大院生物圏、日本鶏資源開発セ）、都築政起（広大院生物圏、日本鶏資源開発セ）

I-06　ヒメウズラの黒褐色羽装突然変異に関する遺伝解析
◎景山実帆（広大院生物圏）、阿部優（広大院生物圏）、竹之内惇（広大院生物圏）、木下圭司（名大院生命農学、名大院鳥類バイオサイエンス研究セ）、都築政起（広大院生物圏、広大日本鶏資源開発セ）

I-07　オーソログ遺伝子解析を利用したニワトリ脂肪蓄積に関与する原因遺伝子の探索
◎鈴木彩絵（名大院生命農学）、木下圭司（名大院生命農学鳥セ）、中井瑞希（名大院生命農学）、村井篤嗣（名大院生命農学）、堀尾文彦（名大院生命農学）、石川明（名大院生命農学）

I-08　加齢変化するマウス被毛色突然変異原因遺伝子の探索
◎中野貴哉（名大院生命農学）、杉山真言（北里大獣医）、石川明（名大院生命農学）

I-09　アユ *Plecoglossus altivelis* のドラフトゲノム解析
〇中本正俊(東京海洋大)、内野翼(東京海洋大)、望月博文(東京海洋大)、坂本崇(東京海洋大)

I-10　GBS 解析による連鎖地図の作成と MS 連鎖地図との比較
◎内野翼(東京海洋大)、菅谷琢磨(水研機構瀬戸内水研)、中村洋路(水研機構中央水研)、安池元重(水研機構中央水研)、関野正志(水研機構中央水研)、藤原篤志(水研機構中央水研)、佐野元彦(東京海洋大)、坂本崇(東京海洋大)

II.

ポスター発表 1　11 月 5 日　13：30 ～ 15：00　エントランスホール

座長：大山憲二(神戸大院農)、三宅　武(京大院農)

II-01　黒毛和種における *RBP4* 多型と枝肉形質および子牛死亡の関連解析
〇平野貴(東京農大農)、原ひろみ(東京農大農)、半澤恵(東京農大農)

II-02　黒毛和種繁殖雌牛集団におけるレプチン遺伝子内多型と繁殖形質との関連
◎川口芙岐(神戸大院農)、深澤謙治(神戸大院農)、小浜菜美子(兵農技総合セ)、秋山敬孝(兵農技総合セ)、福島護之(兵農技総合セ)、小林栄治(畜草研)、大山憲二(神戸大院農)、万年英之(神戸大院農)、笹崎晋史(神戸大院農)

II-03　鹿児島県産黒毛和種で発生する白斑に関する遺伝育種学的研究
◎小山秀美(鹿大院農)、今村清人((公社)全和鹿県支部)、坂元信一((公社)全和鹿県支部)、西和隆((公社)全和本部)、河邊弘太郎(鹿大自セ)、岡本新(鹿大農)、本多健(神戸大院農)、大山憲二(神戸大院農)、下桐猛(鹿大農)

II-04　黒毛和種ロース芯内脂肪交雑の新細かさ指数に関する遺伝的パラメータの推定
◎岩﨑良介、迫田康平、萩谷功一、阿佐玲奈、口田圭吾(帯畜大)

II-05　褐毛和種・黒毛和種混合訓練群による褐毛和種種雄牛の枝肉形質ゲノム育種価評価の試み
佐田千絵美(熊本県農研セ畜産研)、中村理樹(熊本県農研セ畜産研)、谷口雅律(熊本県農研セ畜産研)、〇渡邊敏夫(畜技協動物遺伝研)

II-06　黒毛和種繁殖雌牛における分娩間隔の繰り返し記録の多形質モデルによる分析
◎造田篤(京大院農)、小川伸一郎(京大院農)、松田洋和(京大院農)、谷口幸雄(京大院農)、勝田智博((公社)全和登)、祝前博明(京大院農、現新潟大)

II-07　ホルスタイン種雄牛の精液性状形質に関するゲノミック評価精度の検討
◎鈴木克弥(帯畜大院)、花牟禮武史(ジェネティクス北海道)、早川宏之(ジェネティクス北海道)、川上純平(日ホ北支局)、馬場俊見(日ホ北支局)、萩谷功一(帯畜大)

II-08　ランドレース種および大ヨークシャー種の分娩時繁殖形質における遺伝的パラメーターの推定
◎半谷明寛(東北大農)、木全誠(株シムコ)、石井和雄(農研機構畜産部門)、佐藤正寛(東北大院農)

II-09　シングルステップ法による分散成分の推定において選抜が与える影響
◎荒川愛作(農研機構畜産部門)、谷口雅章(農研機構畜産部門)、美川智(農研機構畜産部門)

III.

ポスター発表 2　　11 月 5 日　15：30 ～ 17：00　エントランスホール

座長：下桐　猛(鹿児島大農)、谷口雅章(農研機構畜産)

III-01　SNP 型の情報を用いた黒毛和種集団の集団構造に関する一検討
◎三ツ井葵(京大院農)、小川伸一郎(京大院農)、松田洋和(京大院農)、谷口幸雄(京大院農)、渡邊敏夫(畜技協動物遺伝研)、北村夕貴(鳥取畜試)、田淵一郎(鳥取畜試)、山崎瑞穂(広島総技研畜技セ)、柴田愛梨(広島総技研畜技セ)、秋山敬孝(兵庫農技総セ北部)、福島護之(兵庫農技総セ北部)、杉本喜憲(畜技協動物遺伝研)、祝前博明(京大院農、現新潟大)

III-02　北海道和種馬の遺伝的多様性と近交度の解析
〇天野朋子(酪農大)、白井興一(北海道和種馬保存協会)、小野木章雄(東大院農)

III-03　カザフスタン在来馬の遺伝学的解析
◎江副暖子(岡山大農)、奥田ゆう(岡山大院環境生命)、Polat Kazymbet (JSC ASTANA Medical University)、Meirat Bakhtin (JSC ASTANA Medical University)、Meldelokov Alyan (Institute of Zoology, Kazakhstan)、Maratbek Zh Suleimenov (Institute of Zoology, Kazakhstan)、西堀正英(広大院生物圏)、山本義雄(広大院生物圏)、万年英之(神戸大院農)、山縣高宏(名大院生命農学)、高橋幸水(東農大農)、野村こう(東農大農)、角田健司(家畜研)、国枝哲夫(岡山大院環境生命)

III-04　わが国で維持しているマンクスロフタンの遺伝的多様性の解析
◎山口隼(東農大院農)、浦宗悠華(東農大)、遠藤和貴(東農大)、佐藤翼(東農大)、野村こう(東農大院農)、高橋幸水(東農大院農)、古川力(東農大院農)

III-05　合成系統豚トウキョウ X における遺伝的多様性および構造の評価
◎田原岳(東農大院農)、兵頭勲((公財)東京都農水振財団青梅畜セ)、小嶋禎夫((公財)東京都農水振財団青梅畜セ)、宇杉央((公財)東京都農水振財団青梅畜セ)、野村こう(東農大院農)、高橋幸水(東農大院農)、小林栄治(東農大院農、畜草研)、古川力(東農大院農)

III-06　マイクロサテライト解析から推定したイノシシ地域個体群の遺伝的構造と遺伝子流動
〇只野亮(岐大応用生物)、長井文(岐大応用生物)、森部絢嗣(岐大応用生物野生動物管理学研究セ)

III-07　マイクロサテライトマーカーを用いたアマミノクロウサギの遺伝的多様性の評価
◎芦立崚(明治大院農)、倉石武(東大医科学研究所)、溝口康(明治大農)

III-08　母系分子系統解析を用いた関東周辺域のニホンジカの人為的影響の考察
◎小西清夏(明治大院農)、畑尚子(東京都農林総合研究セ)、松田彩友美(明治大農)、新井一司(東京都農林総合研究セ)、溝口康(明治大農)

III-09　ニホンイヌワシ(*Aquila chrysaetos japonica*) の飼育集団における遺伝的多様性および個体数推移の解析
◎佐藤悠、Rob Ogden、村山-井上美穂(京大野生動物研究セ)

IV.

ポスター発表 2　　11 月 5 日　15：30 ～ 17：00　エントランスホール

座長：村山美穂(京大野生動物研究セ)、平野　貴(東京農大農)

IV-01　黒毛和種で発生した胎膜水種の原因変異の解明
〇佐々木慎二(畜技協動物遺伝研)、長谷川清寿(島根畜技セ)、東智子(島根家畜病鑑)、杉本喜憲(畜技協動物遺伝研)

IV-02　定量 PCR を用いた牛白血病遺伝子診断法(BLV-CoCoMo-qPCR 法)に用いる推奨 PCR 酵素および定量 PCR 機器の比較試験
◎綿貫園子(理研分子ウイルス、東大院農)、竹嶋伸之輔(理研分子ウイルス)、若松敏枝(理研分子ウイルス)、松本安喜(東大院農)、的場和弘(農研機構畜産部門)、石崎宏(農研機構畜産部門)、間陽子(理研分子ウイルス)

IV-03　The first molecular epidemiological study of bovine leukemia virus (BLV) infection in Myanmar cattle
Meripet Polat（理研分子ウイルス、東大院新領域)、Hla Hla Moe (University of

Veterinary Science, Yezin Myanmar)、下桐猛（鹿児島大農）、Kyaw Kyaw Moe (University of Veterinary Science, Yezin Myanmar)、竹嶋伸之輔（理研分子ウイルス、東大院新領域)、〇間陽子（理研分子ウイルス、東大院新領域）

IV-04　イヌの高脂血症治療薬であるクリノフィブラートの薬効に関する犬種間比較
◎佐藤洋大朗（明治大院農)、荒井延明（スペクトラム ラボ ジャパン（株））、安田英巳（安田獣医科医院)、水谷尚（日本獣医生命科学大獣医)、溝口康（明治大農）

IV-05　次世代型シークエンサーを用いたアキタイヌのぶどう膜皮膚症候群のゲノム多型比較解析
〇渡邊学（東大新領域)、坪井誠也（東大院農)、石倉隆（サーモフィッシャーサイエンティフィック)、加藤さやか（サーモフィッシャーサイエンティフィック)、東きょう（サーモフィッシャーサイエンティフィック)、瀧本善之（ナディア動物クリニック・動物眼科)、村田佳輝（むらた動物病院)、上岡尚民（うえおか動物病院)、都築圭子（東大院農)、内田和幸（東大院農)、辻本元（東大院農)、菅野純夫（東大新領域)、中山裕之（東大院農）

IV-06　コイ目魚類での異種間雄性発生による核 - 細胞質雑種の誘起とその胚発生能力
◎遠藤充、藤本貴史、荒井克俊（北大院水）

IV-07　ウズラにおける新たな淡色羽装突然変異（DVD）の繁殖性および生存性
◎小野貴史（広大院生物圏)、阿部優（広大院生物圏)、Mohammad Ibrahim Haqani（広大院国際協力)、都築政起（広大院生物圏、広大日本鶏資源開発セ）

IV-08　マウス白色脂肪組織重量および腎臓重量に関わる QTL の責任遺伝子の探索
◎牧野圭汰（名大院生命農学)、石川明（名大院生命農学）

IV-09　GBS 法によるニホンウナギの変態期に関する QTL 解析
◎宮尾萌莉（海洋大)、内野翼（海洋大)、須藤竜介（水産機構増養殖研)、山田祥朗（いらご研)、坂本崇（海洋大）

講 演 要 旨

一般演題　37 題

I-01

陳旧試料に対する簡易検出 PAS 法を用いた分子種判別法の構築

◎伊藤文香(広大院生物圏)、大西諒貴(広大院生物圏)、山下裕樹(クラボウ)、安江博(農業生物資源研、つくば遺伝子研)、西堀正英(広大院生物圏)

【背景・目的】ここ数年、食に関する様々な報道があり食品の安全安心は日本のみならず、世界においても消費者における最も関心の高い項目である。食品に関する報道は肉種偽造や獣毛などの異物混入、宗教や文化上の問題またはアレルギーにおける忌避食品におけるものなど多岐にわたる。そのため原材料や加工食品に対して食品検査、種判別を行う必要となる場面が年々増加している。我々はこれまでに迅速、簡易かつ高感度に検出できる PAS（Printed array strip）検出を用いて、家畜種を対象とした分子種判別法（大西ら, 2014）および野生動物や愛玩動物を対象とした分子種判別法を構築し報告してきた（伊藤ら, 2015）。しかし現在の検査では加熱、加工および劣化した試料に対して検出が困難な場合が多い。そこで本研究では陳旧状態の試料においても正確な種判別ができるよう、PAS 検出方法を用いた分子種判別法の再構築を試みた。
【方法】ウシ、ブタ（イノシシ)、ニワトリ、ウマ、ヒツジ、イヌ、ネコ、クマ、ウサギ、シカ、タヌキ、マウス、ラットおよびヒトについて種判別の対象種として用いた。それぞれの動物種特異的 PCR primer set および全動物種で検出可能なコモン PCR primer set を再設計した。これらの動物種特異的 PCR Primer を用いて DNA 増幅を行った後 PAS 検出を用いた種判別を行った。加えて PAS 検出における検出感度検討を行った。
【結果・考察】本研究で再設計した動物種特異的 PCR primer を用いた種判別において、対象とした動物種すべての動物種特異的 PAS バンド、全動物種共通コモン PAS バンドが明確に検出された。検出感度検討においては 10 pg の微量 DNA でも検出が可能であった。本研究は陳旧状態において DNA 含量が微量な試料や僅かな DNA 混入のある試料においても正確な種判別を行うことが可能であることが示唆された。そのため本研究を用いることで食品検査のみならず様々な場面において有用な種判別方法になると期待される。

I-02

見島牛・口之島牛および黒毛和種のウシ主要組織適合遺伝子領域のリシークエンスによる比較解析

○竹嶋伸之輔(理研分子ウイルス)、細道一善(金沢大医薬保健研究域)、万年英之(神戸大農)、国枝哲夫(岡山大環境生命科学研究科)、印牧美佐生(家畜学研究所)、下桐猛(鹿児島大農)、間陽子(理研分子ウイルス)

【目的】日本固有の肉用種で世界最高品質の牛肉を産生する黒毛和種は、日本古来の在来牛に、明治期に欧米より導入された外来種を掛け合わせ、その後純化することにより作製された品種である。一方、現存する日本古来の在来牛は、鹿児島県口之島で外来種との交雑が起こる前に野生化した口之島牛および山口県見島産の見島牛の 2 品種だけとなっている。本研究では、これら日本在来牛と現存する黒毛和種の全ウシ MHC(BoLA)領域を次世代シークエンサーによりシークエンスし、その共通性と相違性を明らかにすることを目的とした。
【方法】口之島牛 39 頭、見島牛 11 頭および黒毛和種 10 頭のゲノム DNA を収集し、それらの BoLA 遺伝子型を PCR-SBT 法によりタイピングすると共に、BoLA class II, class III および class I を全て含む第 23 番染色体上の ELOVL5 から HFE 遺伝子(約 6Mbp)にプローブを設計して MiSeq を用いたターゲットリシークエンスを行った。
【結果・考察】PCR-SBT による BoLA-DRB3 遺伝子タイピングの結果、口之島牛 39 頭中 38 頭が DRB3*0201 ホモ型、残る 1 頭が DRB3*2801 ホモ型であった。見島牛は DRB3*2703 ホモ型（6 頭)と DRB3*2703/*0902 型(5 頭)、黒毛和種は DRB3*1601 ホモ型(6 頭)、DRB3*1501/*2703 (2 頭)、DRB3*1501/*1201 (1 頭)、DRB3*1501/*0503 (1 頭)であった。続いて、口之島牛 12 頭(DRB3*0201 ホモ型 11 頭と DRB3*2801 ホモ型 1 頭)、見島牛 11 頭と黒毛和種 10 頭、計 33 頭のターゲットリシークエンスを行い、主成分分析により遺伝子領域の類似性を解析した。BoLA class I 領域は口之島牛と見島牛が含まれる集団と明らかに異なる集団に 5 頭の黒毛和種が分断され、黒毛和種の品種形成と class I 領域の構造に相関があることが示唆された。同時に解析した第 22 番染色体の CNTN3 領域においては口之島牛と見島牛が明確に一つの集団を形成していたことから、日本古来の遺伝子の特徴は、MHC 領域内ではとくに class I 領域の構成に反映されている事が示唆された。

I-03

牛白血病ウイルスの共通 B 細胞エピトープとその抗体結合部位の同定

◎Bai Lanlan(理研分子ウイルス)、竹嶋伸之輔(理研分子ウイルス)、磯貝恵美子(東北大生物生産創成科学)、間陽子(理研分子ウイルス)

【目的】地方病性牛白血病は、牛白血病ウイルス(BLV)により惹起される悪性 B リンパ種であり、発症すると必ず死の転帰をとることから畜産界に与える打撃は深刻である。現在、ウシ主要組織適合遺伝子(BoLA)-DRB3 アリルが牛白血病の発症に対して、感受性及び抵抗性を示すことが報告されている。本研究では、現在までに国内で検出される 37 種類の BoLA-DRB3 アリル中の 28 種類をカバーする牛由来の血清を用い、共通 B 細胞エピトープとその抗体結合部位の同定を行った。
【方法】ペプチドマイクロアレイ法およびキャリア蛋白質を利用した ELISA 法を用いて共通 B 細胞エピトープを同定した。アラニン置換ペプチドを用いた ELISA 法で共通抗体結合部位を決定した。抗体結合部位のアラニン置換 BLV 分子クローン変異体を構築し、その発現や感染性を調べた。BLV Env 配列をアライメントし、抗体結合部位のアミノ酸の保存性を解析した。
【結果・考察】ペプチドマイクロアレイ法によって、BLV Gag・Gp51 由来の 157 種類のペプチドの中から 4 頭の陽性血清の全てと特異的に反応する gp51p16 が同定した。このペプチドの C 末端に Cys を含む gp51p16-C を用いた ELISA 法を確立して、28 種 BoLA-DRB3 アリルを有する 917 頭の血清を調べた結果、647 頭の陽性血清の 91.2%と反応したことから、これが共通 B 細胞エピトープであることが示された。次に、17 種類の gp51p16-C アラニン置換ペプチドと 71 頭の陽性血清との反応性から、5 種類（R7, R9, F10, V16 および Y18）のペプチドが野生型より低下した。以上から、この 5 つのアミノ酸残基が共通抗体結合部位であることが示された。Western Blot 及び Syncytium 法によって、これらの 5 つのアラニン置換は Env 発現や感染性に影響がないことが明らかになった。続いて、518 種類の BLV Env 配列のアライメント解析では 5 つの抗体結合部位のアミノ酸が高度に保存されていた。以上の結果から、共通 5 つの抗体結合部位のアミノ酸残基を含む共通 B 細胞エピトープ gp51p16-C が BLV の診断、ワクチン開発および抗体産生に有用なツールであることが示唆された。

I-04

豚の背脂肪厚に関連する遺伝子発現量解析

○谷口雅章(農研機構畜産)、小島美咲(農研機構畜産)、中島郁世(農研機構畜産)、中村有希(農研機構果樹茶業)、松本敏美(農研機構次世代作物)、上西博英(農研機構生物機能)、美川智(農研機構畜産)

【目的】メイシャン種（M 種）はランドレース種(L 種)に比較して背脂肪が厚いが、その要因の一つは M 種が L 種に比較して脂肪細胞のサイズが大きいためである（Nakjima ら、*Anim. Sci. J.* 2011, 82: 144-149)。これらブタ品種間で見られる背脂肪厚の違いに関わる遺伝的要因を検討するため、M 種と L 種を留め雄として交雑豚を作出し、エネルギー代謝に関わる臓器である肝臓、骨格筋および脂肪組織の胎児期、授乳期、成熟期における遺伝子発現量の差異を網羅的に解析した。
【方法】3 元交雑豚（LWD）の母豚に M 種あるいは L 種の雄を交雑した LWDM および LWDL の雌豚を用いた。胎児期（胎齢 85 日)、授乳期（生後 12 日齢）および成熟期（5 か月齢）で肝臓、胸最長筋および皮下脂肪組織を採取し、各組織から抽出した RNA を用いてブタ 44K カスタムマイクロアレイ（アジレント）により網羅的に遺伝子発現量の差異を解析した。発現量変動を示した遺伝子のパスウェイ解析は Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes（KEGG）の情報に基づいて行った。
【結果と考察】L 種とM種の特徴を反映して、5 か月齢の平均背脂肪厚は LWDM が LWDL より有意に高かった。LWDM で発現量が上昇した遺伝子により、筋肉組織では 5 か月齢で糖代謝に関連するパスウェイが検出された。脂肪組織では、5 か月齢で細胞接着および細胞構造に関わるパスウェイが同定された。肝臓では 12 日齢および 5 カ月齢に共通して、脂肪酸の代謝ならびに合成に関連するパスウェイが同定された。以上から、LWDM では肝臓の脂質合成・代謝、ならびに骨格筋での糖代謝が亢進し、脂肪組織を構成する細胞骨格が発達することが、両品種の背脂肪厚の差異を生むと考えられた。

I-05

日本鶏品種オオシャモにおける *MC1R* 遺伝子多型

◎竹之内惇（広大院生物圏）、河上眞一（広大院生物圏、日本鶏資源開発セ）、都築政起（広大院生物圏、日本鶏資源開発セ）

【緒言】我が国の日本鶏品種は、愛好家によりその特徴が選抜・固定されてきた結果、品種ごとに様々な外観的特徴をもつ。しかし、闘鶏用のオオシャモは体格や強さを基に選抜育種され、羽装色に関しては特に選抜が行われなかったことから、極めて多彩な羽装色を示す。ニワトリの羽装色に関わる遺伝子の一つに、メラノコルチン１受容体遺伝子（*MC1R*）がある。*MC1R* 座の対立遺伝子には、e^{+}（wild type）、*E*（extend black）、E^{R}（birchen）、 e^{wh}（wheaten）、e^{b}（brown）などが報告されている。他にも、*MC1R* 座には羽装色への影響が証明されていない塩基置換の報告もある。本研究では、オオシャモ集団を用いて、*MC1R* の塩基配列を決定し、日本鶏特有の変異を発見することを目的とした。

【材料および方法】104 個体の闘鶏用オオシャモから、羽装色情報を取得すると共に、採血を行った。血液より DNA を抽出した後、各個体の *MC1R* を PCR にて増幅した後、塩基配列を決定した。

【結果および考察】調査の結果、*MC1R* に 8 つのハプロタイプ（仮に H1～H8）が検出され、オオシャモは本遺伝子座に極めて多くの多型を示す品種であることが明らかになった。H5・H7・H8 の 3 つは、外国鶏には報告例のない新発見のものであったことから、日本鶏特有のものである可能性がある。尚、ハプロタイプの頻度は、野生型（H2）が 31%と最も多く、次に新発見の H7（25%）と H5（16%）が多くみられた。オオシャモがもつ日本鶏特有の羽装色や遺伝子は、世界に向けた個性豊かな JAS 地鶏の作出や、食肉偽装を防ぐための DNA 鑑別技術などへの応用が期待される。ニワトリの羽装色発現には多くの遺伝子が関与するため、*MC1R* だけでは各個体の羽装色を十分に説明することはできない。今後は、他の羽装色関連遺伝子の調査も行い、羽装色と遺伝子の関係を広く明らかにしたい。

I-06

ヒメウズラの黒褐色羽装突然変異に関する遺伝解析

◎景山実帆（広大院生物圏）、阿部優（広大院生物圏）、竹之内惇（広大院生物圏）、木下圭司（名大院生命農学、名大院鳥類バイオサイエンス研究セ）、都築政起（広大院生物圏、広大日本鶏資源開発セ）

【背景】ヒメウズラ（*Coturnix chinensis*）は、小型で世代交替が早いなど、実験動物に適している。実験動物として活用するには、発見されている突然変異数が多いことが望ましいが、ヒメウズラの突然変異に関する報告は少ない。ニワトリとウズラにおいては、メラノコルチン１受容体（MC1R）の遺伝子の変異により、それぞれ全身黒色および黒褐色の羽装を示すことが報告されているが、ヒメウズラにおいても、黒褐色羽装（Dark brown: DB と仮称）が存在する。本研究では、ヒメウズラの DB 羽装の遺伝様式を明らかにすると共に、*MC1R* 遺伝子が本形質の発現に関与しているか否かを明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】ヒメウズラの野生型（WT）個体と DB 個体を用いた。DB 個体と WT 個体との間で正逆交配を行って、F_1、F_2 および戻し交配世代における羽装色の分離比を調査した。また、親世代個体の *MC1R* 遺伝子の塩基配列を決定すると共に、F_1 および F_2 世代個体の *MC1R* 遺伝子における変異の有無を調査した。

【結果および考察】F_1 世代個体の全てが褐色の羽装（BR）を示した。正逆交配間に差はみられなかった。F_2 世代および戻し交配世代では、WT、BR および DB がそれぞれ 7：17：11 および 13：11：0 の比で分離した。以上の F_1、F_2 および戻し交配世代の羽装色の分離比から、本形質は常染色体性の不完全優性形質であり、DB はホモ型、BR はヘテロ型であると考えられた。DB および WT の *MC1R* 遺伝子の塩基配列を決定した結果、DB には WT に対して一つの非同義置換 c.274 G>A, p.E92K が存在することが明らかになった。また、親世代の DB 個体は全て E92K 変異をホモ型でもっていた。F_1 世代の全個体が E92K 変異をヘテロ型でもっていた。F_2 世代においては、DB 個体は E92K 変異をホモ型で、BR 個体は同変異をヘテロ型でもっていた。WT 個体には、同変異はみられなかった。以上の事実から、c.274 G>A, p.E92K 変異と DB 羽装発現には密接な関連があることが明らかになった。

I-07

オーソログ遺伝子解析を利用したニワトリ脂肪蓄積に関与する原因遺伝子の探索

◎鈴木彩絵(名大院生命農学)、木下圭司(名大院生命農学鳥セ)、中井瑞希(名大院生命農学)、村井篤嗣(名大院生命農学)、堀尾文彦(名大院生命農学)、石川明(名大院生命農学)

【目的】現在のブロイラーは脂肪蓄積が著しい。脂肪は経済価値の低い副産物であるとともに、過度の脂肪蓄積、つまり肥満はブロイラーの健康被害や突然死などを引き起こす。このため、養鶏業界では脂肪蓄積の少ない品種の作出が望まれている。肥満研究においてはマウスがモデル動物として広く用いられており、これまでに肥満や体重増加に関与するQTLsやその候補遺伝子が多数報告されてきた。本研究では、マウスのQTL候補遺伝子情報を利用し、白色プリマスロック(以下、WPR)と名古屋種(NG)およびそのF_1雑種を用いて、両品種間の肥満関連形質の違いを明らかにするとともに、ニワトリ肥満関連遺伝子の探索を試みた。

【材料・方法】WPRとNG((独)家畜改良センター兵庫牧場より種卵購入)およびそのF_1雑種の雌をそれぞれ10羽用いた。体重は孵化直後より49日齢まで、飼料摂取量は28日齢より49日齢まで毎週測定した。49日齢で採血と肝臓、腹腔内脂肪、皮下脂肪、胸筋などの組織採取を行い、血清と肝臓のTG・TC濃度を測定した。各組織から総RNAを抽出し、マウス体重・肥満QTL候補遺伝子に対するニワトリオーソログ遺伝子、*LY75, FAP, GRB14, GCG, FAP, LRP2*についてリアルタイムPCR解析を行った。

【結果・考察】49日齢平均体重はNGが約950g、WPRが約2400gで、F_1は約1750gとおよそ中間の値を示した。飼料摂取量はNGに対しWPRとF_1が約2倍高かった。同様に、腹腔内脂肪と皮下脂肪組織相対重量もNGに対しWPRとF_1が2倍以上の値を示した。肝臓TCはNGに対してWPRとF_1が1割程度高く、肝臓TGはNGに対してWPRが5倍以上、F_1は2倍以上高く、WPRは脂肪肝を呈した。血中脂質濃度に品種間の差はなかった。*GRB14*の皮下脂肪での発現量に品種間差がみられ、腹腔内脂肪重量と正の相関を示した。*GRB14*の腹腔内脂肪での発現量に品種間差はなかったが、腹腔内脂肪重量と正の相関を示した。したがって、インスリンシグナル伝達のアダプター分子であるGRB14とニワトリ肥満との関連が示唆された。

I-08

加齢変化するマウス被毛色突然変異原因遺伝子の探索

◎中野貴哉(名大院生命農学)、杉山真言(北里大獣医)、石川明(名大院生命農学)

【目的】インドネシア産野生マウス*Mus musculus castaneus*由来の突然変異遺伝子*Oca2*$^{p\text{-}cas}$は、網膜と被毛における色素量の減少を引きおこす。この遺伝子をもつ混合系統マウスの維持過程において、加齢に伴って眼色が濃くなっていく突然変異個体が発見された。本研究は、この眼色の変化を支配する原因遺伝子の同定を目的として交配実験を行い、F_2雑種の表現型の解析と原因遺伝子のマッピングを行った。

【材料と方法】先行研究で作出された赤眼系統B6;Cg-*Oca2*$^{p\text{-}cas}$/1Ngaと黒眼系統B6;Cg-*Oca2*$^{p\text{-}cas}$/2NgaのそれぞれF_{15}世代とF_{14}世代目の個体を交配させ、F_2雑種163個体を作出した。生後4ヶ月齢で眼球を採取し、網膜の組織標本を作製し、網膜の一番黒い点の黒さによって眼色の分類を行った。交配に用いた個体と同腹の赤眼系統雌と黒眼系統雌各1個体の耳片からゲノムDNAを抽出し、IlluminaHiSeq2000により全ゲノムシーケンス解析し、リファレンス配列mm10にマッピングした。眼色に基づいてセレクティブジェノタイピングを行い、R/qtlソフトによるQTL解析を行った。

【結果と考察】F_2世代の眼色は、赤～中間～黒眼に連続的に分布していた。全ゲノム解析の結果から*castaneus*由来の領域は、第7染色体に赤眼系統と黒眼系統で同じ長さの領域(約40Mbp)が、第9染色体に長さの異なる領域(赤眼約14Mbp、黒眼約8Mbp)があり、第13染色体上に黒眼系統のみ約20Mbp長の*castaneus*由来領域をもっていた。また、黒眼系統の第9染色体8Mbpの領域は固定されておらずヘテロ接合であることが判明した。QTL解析の結果、第13染色体のセントロメアから約50Mbp付近にLOD値5のピークがみられるQTL(寄与率24%)が存在しており、*castaneus*由来のアレルが眼色変化の原因遺伝子であることがわかった。他にも効果の大きいQTLが存在していることが考えられ、現在、他の染色体の連鎖解析を進めている。

I-09

アユ *Plecoglossus altivelis* のドラフトゲノム解析

○中本正俊（東京海洋大）、内野翼（東京海洋大）、望月博文（東京海洋大）、坂本崇（東京海洋大）

【目的】アユ *Plecoglossus altivelis* はキュウリウオ目 キュウリウオ科 アユ亜科の一年魚であり、食用および遊漁対象魚として日本各地で盛んに養殖・種苗放流が行われている水産重要種である。アユでは完全養殖が行われており、ゲノム情報の整備を行うことで天然魚から有用な形質を持った個体を選抜し、有用系統を短期間に育種することが可能となると期待される。そこで、本研究では次世代シークエンサーを用いてホールゲノムショットガン法によりアユゲノムのドラフト配列の取得を行った。
【材料・方法】東京海洋大学・吉田ステーションにおいて継代飼育されているアユからゲノム DNA を抽出し、挿入 DNA 断片長 300bp のショットガンライブラリーおよび挿入断片長 3kb、8kb、20kb、40kb のジャンピングライブラリーを作成し、Illumina Hiseq2000 を用いて 100bp ペアエンドシークエンスにより塩基配列の取得を行った。得られたシークエンスに対して *de novo* アセンブラーPlatanus を用いて *de novo* アセンブルを行いアユゲノムの再構築を行った。また一分子シークエンサーPacBio RSII を用いてアユゲノムのロングリードを取得し、PBJelly によりギャップ領域の解消を試みた。
【結果】ショットガンシークエンスによりアユのゲノムサイズ 450 Mb の約 250 x 相当の塩基配列が得られた。Platanus および PBJelly を用いた *de novo* アセンブルの結果、最長 scaffold 長：17,198,601 bp、平均 scaffold 長：621,803 bp、N50：4,195,052 bp、長さ 10kb 以上の scaffold 数：521、のドラフトゲノム配列が構築された。得られた scaffold のうち約 70%が既存のマイクロサテライトマーカーによるアユの連鎖地図（510 マーカー）上に位置付けられた。

I-10

GBS 解析による連鎖地図の作成と MS 連鎖地図との比較

◎内野翼（東京海洋大）、菅谷琢磨（水研機構瀬戸内水研）、中村洋路（水研機構中央水研）、安池元重（水研機構中央水研）、関野正志（水研機構中央水研）、藤原篤志（水研機構中央水研）、佐野元彦（東京海洋大）、坂本崇（東京海洋大）

【目的】太平洋クロマグロ *Thunnus orientalis* は、市場価値の非常に高い水産物であるが、天然資源状況の悪化が懸念されている。そのため、天然種苗に依存せず人工種苗を用いた養殖生産が求められている。高成長等の優良形質を遺伝的に有する人工種苗の作出には、形質と連鎖する遺伝マーカーによる親魚選抜が有効である。そのようなマーカーの探索には、遺伝マーカーを多数配置した連鎖地図作成と QTL 解析を行う必要がある。近年、次世代シークエンサーによる制限酵素部位近傍のゲノム配列解読から SNP マーカーを探索する手法が複数開発され、従来のマイクロサテライト（MS）マーカー等に代わり連鎖地図作成や QTL 解析の代表的手法となっている。その中でも Genotyping-by-Sequencing 法（GBS 法. Sonah *et al.*, 2013）は、解析費用が安価な点や、ライブラリー作製が簡便である特徴を有する。そこで本研究では、GBS 法により太平洋クロマグロの連鎖地図作成を行い、既報の MS 連鎖地図（Uchino *et al.*, 2016）との比較を行った。
【材料・方法】太平洋クロマグロの MS 連鎖地図作成（Uchino *et al.*, 2016）に用いた雄親、雌親と仔魚 87 個体から、ゲノム DNA を抽出した。GBS 法によるライブラリー調製は、Sonah ら（2013）の方法に従った。個体別に特異的なアダプター配列を付加後混合し、Hiseq4000 の 1 レーンを用いてシークエンスを行った。低精度配列の除去とリファレンスゲノムへのマッピングには、CLC Genomics Workbench を用いた。SNP の抽出には Stacks を、連鎖解析には MapDisto を使用した。
【結果】MS 連鎖地図作成時に比べ、GBS 解析の費用は約 3 割となった。Hiseq4000 によるシークエンスの結果、親 2 個体と子供 87 個体でそれぞれ平均 1,902 万、418 万リードが取得された。リファレンスゲノムには、約 9 割のリードがマッピングされた。SNP 抽出と連鎖解析の結果、657 座位の SNP マーカーからなる雄雌連鎖地図が構築された。
本連鎖地図と MS 地図を統合し、計 6,146 の予測遺伝子を含む 212.6 Mbp のゲノム配列を連鎖地図上に位置づけることが出来た。

II-01

黒毛和種における *RBP4* 多型と枝肉形質および子牛死亡の関連解析

○平野貴（東京農大農）、原ひろみ（東京農大農）、半澤恵（東京農大農）

【目的】RBP4 は肝臓でレチノールに変換されたビタミン A（VA）を標的臓器（細胞）に輸送するタンパクである。VA は成長など様々な生理作用が知られ，黒毛和種では脂肪交雑を高めるために VA 給与が制限されて肥育される。*RBP4* 遺伝子の多型は枝肉形質に影響する可能性があるため，我々は黒毛和種の *RBP4* 多型を探索し，検出した多型と各種枝肉形質の関連を調べた。
【材料および方法】多型探索用集団として，2009～2010 年に生後 20 日以内に死亡した黒毛和種 490 頭から同一種雄牛の産子が２頭を越えないように 65 頭を選抜した。枝肉形質との関連解析用集団として，2003～2008 年に枝肉市場で収集された肥育牛から月齢が 23～39 ヶ月，枝肉重量が 300～700kg の範囲で，同一種雄牛の産子が 3 頭を超えないように 1,234 頭の去勢牛を選抜した。今回は、これら 1,234 頭のうち，2003 年に収集された個体から同一種雄牛の産子を含まない 172 頭を用いた。多型探索および型判定はダイレクトシーケンスによって行った。
【結果および考察】これまでに，*RBP4* c.237C>G（同義置換），c.355+26C>T および c.*50A>G（3'UTR）を検出した。これら 3 SNPs を肥育去勢牛 172 頭について型判定し，各種枝肉形質との関連を調べた。さらに，これら塩基置換は子牛死亡の原因となる可能性もあるため，使用した両集団の遺伝子型頻度から，これら SNPs と子牛死亡の関連についても解析した。その結果，3 SNPs 全てがホモ接合である遺伝子型（C-C-A, C-T-A, G-T-G）間で枝肉重量に有意差（$P<0.05$）が検出され，*RBP4* が枝肉重量と関連する可能性が示された。また，子牛死亡集団と肥育牛集団における各 SNP の遺伝子型頻度に差がなく，これら SNPs は子牛死亡と関連しないことが示唆された。

II-02

黒毛和種繁殖雌牛集団におけるレプチン遺伝子内多型と繁殖形質との関連

◎川口芙岐（神戸大院農）、深澤謙治（神戸大院農）、小浜菜美子（兵農技総合セ）、秋山敬孝（兵農技総合セ）、福島護之（兵農技総合セ）、小林栄治（畜草研）、大山憲二（神戸大院農）、万年英之（神戸大院農）、笹崎晋史（神戸大院農）

【目的】兵庫県黒毛和種繁殖雌牛集団においてレプチン遺伝子内多型の繁殖形質に対する効果を調査することにより、黒毛和種の繁殖能力向上に寄与する DNA マーカーの開発を目的とした。
【方法】対象集団は兵庫県内で平成 21 年～23 年に飼養された黒毛和種繁殖雌牛 409 頭で構成され、これらは初産月齢、分娩間隔及び子牛生産指数の 3 形質を有し、同じ種雄牛をもつ個体が 10 頭以上になるように選抜したものである。本集団から種雄牛に考慮してランダムに選抜した 16 頭の塩基配列を比較し、レプチン遺伝子翻訳領域の多型探索を行った。多型探索により同定された SNP について対象集団の遺伝子型判定を行い、その結果を用いて分散分析及び Tukey の HSD 検定により上記繁殖 3 形質に対する効果を調査した。また各 SNP 間の連鎖不平衡係数を算出した。
【結果】多型探索により Y7F、R25C、A80V の 3 つのアミノ酸置換が同定され、遺伝子型判定を行った結果、マイナーアリル頻度はそれぞれ Y7F で 0.184、R25C で 0.185、A80V で 0.005 であった。また分散分析の結果、Y7F は分娩間隔に、R25C は分娩間隔と子牛生産子数に関連が観察され、Tukey の HSD 検定では Y7F において YF 型が YY 型に比べて分娩間隔が有意に短く、R25C において RC 型が RR 型に比べて分娩間隔が有意に短い結果となった。さらに Y7F と R25C の 2 多型間には r^2=0.88 と非常に高い連鎖不平衡係数が算出された。Y7F は翻訳後にシグナルペプチドとして切断される領域に位置しているため本集団で認められた効果は R25C との連鎖によるものである可能性が考えられた。以上の結果により、R25C は分娩間隔の短縮に向けて有用な選抜マーカーになると期待される。

II-03

鹿児島県産黒毛和種で発生する白斑に関する遺伝育種学的研究

◎小山秀美(鹿大院農)、今村清人((公社)全和鹿県支部)、坂元信一((公社)全和鹿県支部)、
西和隆((公社)全和本部)、河邊弘太郎(鹿大自セ)、岡本新(鹿大農)、本多健(神戸大院農)、
大山憲二(神戸大院農)、下桐猛(鹿大農)

【目的】近年、黒毛和種は肉質・肉量の遺伝的改良が進展したものの、損徴や遺伝病等の不良形質の発生が問題となっている。黒毛和種で発生する白斑は、その大きさによっては子牛登記ができなくなり、さらにその母牛も育種牛として供用出来なくなるなど、負の影響を与える損徴の一つである。本研究では、鹿児島県産黒毛和種で得られた子牛検査データを使って、白斑の発生状況の調査及び遺伝的パラメータを推定したので報告する。
【材料・方法】材料には、1999 年 4 月から 2015 年 3 月までの 16 年間の鹿児島県産黒毛和種雌子牛の子牛検査データのうち、50 件以上のデータを持つ農家のみを抽出した 511,337 件を解析に用いた。遺伝的評価の基準年を 1975 年に設定し、白斑の解析モデルは母数効果として出生年月を、共変量に出産時母牛年齢及び本牛近交係数を、変量効果として農家、直接遺伝及び残差を考慮した。分散成分は Misztal ら（2006）が開発した THRGIBBS1F90 プログラムによる単形質の Gibbs sampling 法で推定した。
【結果・考察】本解析データにおける白斑の発生率は 3.68%であり、その年次推移は 1999 年の 1.84%から 2013 年の 5.31%まで概ね増加傾向を示した。遺伝的パラメータを推定した結果、白斑の遺伝率は 80.8±1.7%と高く推定された。そこで、白斑を持つ母牛と持たない母牛との間で、子供の白斑の発生率を比較した。その結果、白斑なしの母牛から生まれた子牛の白斑発生率は 4.0%であったのに対し、白斑ありの母牛では 16.7%となった。以上、本研究から白斑の発生は遺伝的な作用が大きく、改良が十分可能であることが示唆された。

II-04

黒毛和種ロース芯内脂肪交雑の新細かさ指数に関する遺伝的パラメータの推定

◎岩﨑良介、迫田康平、萩谷功一、阿佐玲奈、口田圭吾(帯畜大)

【目的】我が国の牛枝肉の肉質評価において,脂肪交雑は重要な形質である.また,脂肪交雑形状はあらいものより細かいものの方が枝肉単価が高い傾向にあることが過去に報告されている. 脂肪交雑粒子の周囲長を利用し開発された新細かさ指数は,小ザシを客観的に評価することが可能な指標であり,新細かさ指数が新たな遺伝的改良のターゲットとなり得るかを探ることは重要である. 本研究では黒毛和種における新細かさ指数に関する遺伝的パラメータおよび育種価の推定を目的とした.
【方法】2005 年 9 月から 2015 年 12 月にかけて北海道内の枝肉市場に上場された黒毛和種 23,213 頭の枝肉格付形質と画像解析形質を用いた.枝肉左半丸第 6-7 肋骨間の横断面画像を用いて画像解析を行った. 枝肉格付形質と画像解析形質について,単形質アニマルモデルにより分散成分および遺伝率を推定した. また遺伝的関連性の調査のため,多形質アニマルモデルにより遺伝相関係数を推定した.遺伝的パラメータならびに育種価の推定にはそれぞれ AIREMLF90 および BLUPF90 を用い,母数効果に性別,と畜年季節,肥育農家およびと畜月齢,変量効果に個体の育種価および残差を取り上げた.
【結果】最大あらさ指数とロース芯複雑度を除く画像解析形質の遺伝率は中程度から高い値（0.36～0.84）であり,脂肪交雑の量や形状は十分に遺伝的改良が可能であることが示された.また,新細かさ指数の遺伝率は 0.62±0.03 と高い値が推定された.新細かさ指数と他の形質との遺伝相関係数は BMS ナンバー,ロース芯面積,枝肉重量,バラの厚さおよび皮下脂肪厚でそれぞれ 0.71, 0.68,0.22 ,0.27 および-0.25 が推定され,望ましい遺伝的関係にあった.新細かさ指数の遺伝的趨勢は,1990 年頃から上昇傾向にあるが,脂肪面積割合と比較してばらつきが大きく,改良の程度が小さいことが推察された.近年多く供用されている種雄牛の育種価の傾向を見ると,脂肪面積割合,新細かさ指数ともに上位に位置するものが多く,脂肪交雑の量だけではなく,その形状を意識した種雄牛の利用がなされており,さらなる改良が期待される.

II-05

褐毛和種・黒毛和種混合訓練群による褐毛和種種雄牛の枝肉形質ゲノム育種価評価の試み

佐田千絵美(熊本県農研セ畜産研)、中村理樹(熊本県農研セ畜産研)、谷口雅律(熊本県農研セ畜産研)、〇渡邊敏夫(畜技協動物遺伝研)

【目的】これまで褐毛和種の枝肉形質ゲノム育種価評価が試みられたことはない。一方、黒毛和種肥育牛の SNP データを用いた黒毛種雄牛のゲノム育種価評価は実施されている。品種横断的ゲノム育種価評価はホルスタイン種／ジャージー種間等で実施された報告例がある。本研究は黒毛和種肥育牛の高密度 SNP データを用いることで褐毛種雄牛のゲノム育種価評価が可能かどうか検討した。

【材料・方法】黒毛和種肥育牛 2610 頭および褐毛和種肥育牛 147 頭の枝肉成績（枝肉重量、ロース芯面積、バラ厚、皮下脂肪厚、推定歩留、脂肪交雑）を収集した。上記黒毛肥育牛、褐毛肥育牛に加えて褐毛種雄牛 48 頭の SNP 型判定を行った。SNP データは imputation によりすべて 50K アレイ相当のデータに補完した。訓練群セットは「黒毛肥育のみ」および「黒毛＋褐毛」を検討した。AI-REML 法により分散成分を推定後、GBLUP 法により SNP 効果を推定し、褐毛種雄牛のゲノム育種価を算出した。

【結果・考察】褐毛種雄牛 48 頭の従来法による評価育種価の正確度は平均 0.99 であり、これらの値を真の遺伝的能力値と見なした。「黒毛肥育のみ」訓練群セットによるゲノム育種価評価値と育種価との相関係数はそれぞれ 0.21（枝肉重量）、0.01（ロース芯面積）、-0.13（バラ厚）、0.04（皮下脂肪厚）、0.14（推定歩留）、0.03（脂肪交雑）であったが、「黒毛＋褐毛」訓練群セットによるゲノム育種価評価値では 0.27、0.21、0.37、0.56、0.50、0.31 といずれも値が上昇した。本手法は、現時点のサンプルサイズではその実用性は乏しいが、既存の黒毛和種 SNP データが褐毛和種ゲノム育種価評価に利用できる可能性を示した。

II-06

黒毛和種繁殖雌牛における分娩間隔の繰り返し記録の多形質モデルによる分析

◎造田篤(京大院農)、小川伸一郎(京大院農)、松田洋和(京大院農)、谷口幸雄(京大院農)、勝田智博((公社)全和登)、祝前博明(京大院農、現新潟大)

【目的】演者らは先に、繁殖雌牛の月齢を複数の区間に区分し、各区間における分娩間隔を異なる別形質と見なした多形質モデルによる分析を行い、分娩間隔に関する遺伝的パラメータの経時的変化の様相について検討を加えた。今回は、分析に用いるデータを、欠測値の分布とデータの連結度の観点からより良好な性質のサンプルとして絞り込み、パラメータの点推定値の変化と推定精度の評価を試みた。

【方法】3 県の黒毛和種繁殖雌牛のデータを用いた。月齢の範囲は 20～120 ヵ月齢とし、20～30 ヵ月齢、30～72 ヵ月齢および 72～120 ヵ月齢に 3 区分（それぞれ区間Ⅰ、ⅡおよびⅢ）して、区間Ⅰに 1 記録をもち、区間ⅡおよびⅢにはそれぞれ 2 記録以上をもつ個体を抽出し、分析対象とした。分析に用いた記録数は、県 A : 19,301 件、県 B : 24,747 件および県 C : 22,400 件であった。本検討では、区間Ⅰ、ⅡおよびⅢにおける分娩間隔を異なる 3 形質として定義し、区間ⅡおよびⅢの記録にはそれぞれ反復率モデルを当てはめて、3 形質モデルによる分析を行った。分析は、県ごとに実施した。

【結果】遺伝率をはじめとする遺伝的パラメータの点推定値には、利用可能なより多くの記録を用いて行った先の分析における結果と概して同様の様相が認められ、推定精度は全般に相応の値であった。推定遺伝率は、いずれの県および区間についても低い値であった。3 つの区間の相互の間の推定遺伝相関は、全般に正の高い値であり、概して 0.8 以上であった。(公社) 全国和牛登録協会と各道府県が連携して実施している黒毛和種繁殖雌牛の分娩間隔の育種価評価事業では、分娩間隔を単形質と見なした反復率モデルが当てはめられているが、本分析の結果は、このアプローチを支持する結果と考えられる。

II-07

ホルスタイン種雄牛の精液性状形質に関するゲノミック評価精度の検討

◎鈴木克弥(帯畜大院)、花牟禮武史(ジェネティクス北海道)、早川宏之(ジェネティクス北海道)、川上純平(日ホ北支局)、馬場俊見(日ホ北支局)、萩谷功一(帯畜大)

【目的】種雄牛の精液性状形質は、受胎率や凍結精液の生産本数に関係する。本研究の目的は北海道におけるホルスタイン種雄牛の精液性状形質の育種価を最良線形不偏予測（BLUP）法およびシングルステップゲノミック BLUP（ssGBLUP）法を用いて推定し、その精度を比較することである。

【方法】データは 2005 年から 2014 年にジェネティクス北海道が収集したホルスタイン種雄牛の採精記録を使用した。一日の採精回数は最大 3 回とし、採精方法は台牛または擬牝台による記録を使用した。編集後のデータは、ホルスタイン種雄牛 1,284 頭からの採取直後の精液量（ml、以下、採取量）、精子濃度（10^8/ml）および精子数 36,655 記録、採取直後の精子の活力指標（新鮮活力）36,628 記録と凍結後活力指標（凍結後活力）31,765 記録である。血縁情報は日本ホルスタイン登録協会に集積された記録のうち、ホルスタイン種雄牛を 5 世代遡った 11,871 記録を使用した。一塩基多型（SNP）情報をもつ種雄牛は 3,129 個体であった。育種価推定のためのモデルは、母数効果として採取場所（2 区分）、採取月（12 区分）、採取年（10 区分）、採取月齢に関する一次及び二次回帰、採精回次（3 区分）、採取方法（2 区分）、通常または性選別精液（2 区分）、変量効果として採取者、個体、恒久的環境及び残差を含む。分析には BLUPF90 プログラムを使用した。全ての記録を用いたフルセットと、最新の記録を削除した検証用データセットについて、従来の BLUP 法と ssGBLUP 法により育種価を推定し、推定精度を検討した。

【結果】フルセットとサブセットによる推定育種価間の相関係数は、BLUP 法と比較し、ssGBLUP 法で高かった。

II-08

ランドレース種および大ヨークシャー種の分娩時繁殖形質における遺伝的パラメーターの推定

◎半谷明寛(東北大農)、木全誠(株シムコ)、石井和雄(農研機構畜産部門)、佐藤正寛(東北大院農)

【目的】種豚の生涯生産性を向上させるうえで、生存産子数（NBA）は重要な形質の一つである。本研究では、豚の NBA を効率的に改良するための評価指標を明らかにするため、反復率モデルを用いて、分娩時における繁殖形質の遺伝的パラメーターを推定した。

【材料･方法】株式会社シムコで 2000 年から 2015 年までに得られた、ランドレース種および大ヨークシャー種のすべての産次における分娩記録（それぞれ 60,745 記録および 46,349 記録）、ならびにランドレース種 69,773 頭および 大ヨークシャー種 60,213 頭の血統記録を用いた。異常値を除くため、一腹平均体重（MWB）を平均 1.48、標準偏差 0.23 と仮定し、MWB が平均から 3 標準偏差範囲内となる個体の分娩記録を抽出した。そのため、実際に用いた記録数は、ランドレース種で 57,314 記録、大ヨークシャー種で 43,074 記録である。総産子数（LSB）、NBA、分娩時死亡数（NSB）、一腹総体重（LWB）および MWB を分析形質とした。遺伝率の推定には単形質、遺伝相関の推定には２形質の反復率アニマルモデルを用いた。母数効果はすべての形質で、分娩年次、分娩季節、交配雄品種、豚舎および産次とした。遺伝的パラメーターの推定には VCE6.0.2 プログラムを用いた。

【結果】LSB, NBA, NSB, LWB および MWB の遺伝率は、ランドレース種でそれぞれ 0.117, 0.112, 0.081, 0.176 および 0.187, 大ヨークシャー種でそれぞれ 0.135, 0.114, 0.082, 0.181 および 0.160 と推定された。反復率は概ね 0.05～0.10 の範囲で推定された。LWB と NBA との遺伝相関は、ランドレース種および大ヨークシャー種でそれぞれ 0.754,および 0.760 と高い値が推定された。また、LWB と NSB との遺伝相関は、両品種で中程度の正の値が推定された。今後、これらの遺伝的パラメーターの推定値を用いて遺伝的改良量の期待値を算出することにより、生存産子数を効率的に改良するための指標について検討する。

II-09

シングルステップ法による分散成分の推定において選抜が与える影響

◎荒川愛作（農研機構畜産部門）、谷口雅章（農研機構畜産部門）、美川智（農研機構畜産部門）

【目的】シグルステップ法では、血統集団の一部から得られた SNP 情報を血統情報と統合し、遺伝率推定などを行う。豚の系統造成では、基礎世代(G0)は精液などにより導入することもあるため、それら個体から SNP タイピングするのは難しく、第一世代以降の集団からタイピングする可能性が高い。そこで、本研究では、G0 以降の選抜された集団において SNP 情報が得られた場合での、シングルステップ法における分散成分推定の影響を検討した。

【方法】集団は QMSim により発生させた。G0 の雄および雌は、それぞれ 10 および 20 とした。各雄は無作為に２頭の雌と交配し、それぞれ 5 頭の後代を生産し、第一世代を形成した。第一世代以降は、無作為もしくは推定育種価により雄および雌を、それぞれ 10 および 20 を選抜し次世代を作出した。世代は、G0 を含め 11 世代(G0–G10)発生させた。ゲノムは、100cM の 5 つの染色体から構成され、各染色体は 1,000 の SNP マーカーと 200QTL を持ち、また、遺伝率は 0.2 とした。形質記録はすべての個体について測定し、G6 から G10 の全ての個体について SNP を取得した。分散成分の推定は、相加的血縁行列(A 行列)もしくは一部をゲノム関係行列(G 行列)で代替した H 行列を用いた AI-REML により行った。

【結果】A 行列より推定した分散成分は、選抜の有無に関わらず偏りが認められなかった。また、H 行列による分散成分の推定値においても、選抜のない集団を用いた場合では分散成分に偏りは認められなかった。しかし、選抜が行われた集団からタイピングした場合、残差分散の偏りはほぼなかったが､遺伝分散が 2 倍程度過大推定された。G6 から G10 の G 行列のみを用いた場合では､遺伝分散についてこのような過大推定は認められなかった。

III-01

SNP 型の情報を用いた黒毛和種集団の集団構造に関する一検討

◎三ツ井葵(京大院農)、小川伸一郎(京大院農)、松田洋和(京大院農)、谷口幸雄(京大院農)、渡邊敏夫(畜技協動物遺伝研)、北村夕貴(鳥取畜試)、田淵一郎(鳥取畜試)、山崎瑞穂(広島総技研畜技セ)、柴田愛梨(広島総技研畜技セ)、秋山敬孝(兵庫農技総セ北部)、福島護之(兵庫農技総セ北部)、杉本喜憲(畜技協動物遺伝研)、祝前博明(京大院農、現新潟大)

【目的】演者らはこれまでに、複数の県における黒毛和種肥育牛の高密度 SNP データを用いて、集団構造関連のいくつかのパラメータ値を算出し、県間でのアリル頻度の違いをはじめとする特徴的な結果を得ている。本研究では、SNP のジェノタイプの一致などの点から、黒毛和種集団のゲノム多様性に関する検討を行った。

【方法】市場に出荷された 4,348 頭の黒毛和種肥育牛（兵庫、鳥取、広島、芝浦・南港の 4 群）の約 3 万 SNP のジェノタイプ情報を用いた。全個体でのマイナーアリル頻度（MAF）を算出し、その範囲を 5 分割して、5 つの SNP セットを設けた。個体間で、ジェノタイプ（0、1 または 2）が一致する SNP 座、一方がホモ（0 または 2）で他方がヘテロ（1）の SNP 座、一方がホモ（0）で他方が逆ホモ（2）の SNP 座について、分析に使用した全 SNP 座数に対する割合をそれぞれ算出した（それぞれ一致割合、ホモ - ヘテロ割合およびホモ - 逆ホモ割合と略す）。また、ジェノタイプがヘテロの SNP 座数の割合（ヘテロ割合）も個体ごとに求めた。これらの割合の算出は、5 つの SNP セットと全 SNP を含むセットについて行った。

【結果】鳥取、広島、芝浦・南港の群では、各群内個体間および異なる 2 群の個体間での一致割合、ホモ - ヘテロ割合およびホモ - 逆ホモ割合の平均は、いずれの SNP セットでもほぼ同程度であった。兵庫以外の群と比較した場合、兵庫の群内の個体間では一致割合の平均は高く、ホモ - ヘテロ割合およびホモ - 逆ホモ割合の平均は低かった。兵庫の群と兵庫以外の群の個体間での一致割合の平均は、兵庫以外の 2 群間のそれらに比べて低 MAF では高く、高 MAF では低かった。各個体のヘテロ割合の群別平均は、兵庫以外の群では同程度であったのに対し、兵庫の群ではそれらよりも低かった。以上の主な結果からも、兵庫ではゲノムの多様性が相対的に低いことが推測される。

III-02

北海道和種馬の遺伝的多様性と近交度の解析

○天野朋子(酪農大)、白井興一(北海道和種馬保存協会)、小野木章雄(東大院農)

【目的】作物や家畜の在来種は地域の環境に適応するよう育種されており、ユニークな遺伝的特性を持つため、地球規模での気候変動に備えた遺伝資源として注目されている。北海道和種馬は寒冷な気候や粗飼料に耐性があるとされる在来馬種であるが、近年登録数が急激に減少し、遺伝的多様性の減少が懸念される。本研究では、血統情報から同種の遺伝的多様性と近交係数の推移を調査した。

【材料・方法】1954 年から 2015 年までに誕生した 15293 個体の血統情報について、誕生日が 1986 年から 1995 年(集団 A)、1996 年から 2005 年(集団 B)、2006 年から 2015 年(集団 C)に分けて解析を行った。遺伝的多様性の指標には、有効な始祖個体の数(*fe*)、有効な祖先数(*fa*)、有効な始祖個体ゲノム数(*Ng*)を用いた。

【結果・考察】集団 A、B、C にて *Ng* はそれぞれ 40.2、27.0、18.2 となり、ゲノム多様性の経時的減少が示された。*fa*/*fe* 比は 62.4%、58.7%、54.8%といずれの年代でも低く、限られた個体が繁殖に使われ、ボトルネックとなったことがゲノム多様性減少の主因と考えられた。また近交係数(*Fit*)は、集団 A、B、C の順に 2.1 ± 5.0%、2.7 ± 4.9%、3.9 ± 5.7%と上昇し、ノンランダム交配の程度を表す *Fis* も 1.1 %、1.2 %、1.6 %と上昇しており、近年、ノンランダムな交配による近交係数の上昇が進んだことが示された。さらに北海道を地理的に 8 つに分け、集団 C についてそれぞれ近交係数を求めると、高い近交係数(7%)を示す地域があり、地域内の個体間のみでの交配が進んでいる可能性が想定された。以上から、北海道和種馬ではゲノム多様性の減少と近親交配が進んでおり、これらを抑制するために、遺伝的に多様な種雄馬を増やすことや、地域間での定期的な種雄馬の交換などの方策が必要と考えられた。

III-03

カザフスタン在来馬の遺伝学的解析

◎江副暖子(岡山大農)、奥田ゆう(岡山大院環境生命)、Polat Kazymbet（JSC ASTANA Medical University)、Meirat Bakhtin (JSC ASTANA Medical University)、Meldelokov Alyan (Institute of Zoology, Kazakhstan)、Maratbek Zh Suleimenov（Institute of Zoology, Kazakhstan)、西堀正英(広大院生物圏)、山本義雄(広大院生物圏)、万年英之(神戸大院農)、山縣高宏(名大院生命農学)、高橋幸水(東農大農)、野村こう(東農大農)、角田健司(家畜研)、国枝哲夫(岡山大院環境生命)

【目的】家畜馬は約 5500 年前にカザフスタン北部で野生馬から家畜化され、その後全世界へ広がったと考えられている。家畜馬の原種となる野生馬はすでに絶滅しているが、カザフスタン在来馬は野生馬の集団の遺伝的多様性を比較的強く反映している可能性も考えられる。カザフスタン在来馬には飼育地域、体型等が異なるジャベイとアダイという主に 2 つの集団が存在することが知られている。そこで本研究では、これらのカザフスタン在来馬を対象として、その遺伝的特徴を明らかにすることを試みた。
【試料・方法】2013 年から 2015 年の在来家畜研究会の調査によりカザフスタン内の 6 つの地域で収集された 113 個体の DNA サンプルのうち、ジャベイに分類される集団の 20 個体とアダイ二分類される集団の 15 個体を用い、運動能力等に関わる 3 種の機能的遺伝子、Y 染色体特異的マーカーおよび、ミトコンドリア DNA の配列について PCR-RFLP 法および、塩基配列の解析によりその遺伝子型あるいはハプロタイプを調べた。
【結果・考察】機能的遺伝子については歩様に関わる *DMRT3*、運動能力に関わる *MSTN*、体高に関わる *LCORL* の 3 遺伝子を調べた。*DMRT3* では側対歩を可能にする変異がジャベイ、アダイともに検出されたが、ジャベイに比べアダイは変異型の割合が高く、変異型ホモ個体も 1 個体検出された。*MSTN* ではほとんどの個体が長距離適性型のホモであったがジャベイの 1 個体でのみヘテロ型が認められた。体高に関する *LCORL* では高体高型のヘテロ個体がジャベイで 3 個体、アダイで 1 個体検出され、他はすべて低体高型のホモであった。また、Y 染色体特異的マーカーを用いて Y 染色体を調べたところ、ジャベイでは西洋系品種に特異的に認められるハプロタイプが検出されたたことから、ジャベイと西洋系品種との関連が示唆された。

III-04

わが国で維持しているマンクスロフタンの遺伝的多様性の解析

◎山口隼(東農大院農)、浦宗悠華(東農大)、遠藤和貴(東農大)、佐藤翼(東農大)、野村こう(東農大院農)、高橋幸水(東農大院農)、古川力(東農大院農)

【目的】本研究では、希少種であるマンクスロフタンの 1990 年以来日本で維持されている集団についてマイクロサテライトマーカーを用いて、他品種と比較することで遺伝的多様性と遺伝的構造を明らかにすることを目的とした。
【材料および方法】供試動物にマンクス 49 頭、サーフォーク 39 頭およびコリデール 36 頭の計 124 頭を用いた。本研究では、FAO/ISAG 推奨を含むマイクロサテライトマーカー36 座位を用いてフラグメント解析を行った。決定した遺伝子型をもとに、プログラム GenAlEx ver6.5 を用いて遺伝的多様性を評価し、またプログラム Structure ver2.3 を用いてベイジアンクラスタリング解析を行った。分集団数 K＝1～10 を想定して各 K について 10 回試行し、プログラム Structure Harvester ver0.6 を用いて対数尤度の算出および ΔK を求め、最適な分集団数を推定した。
【結果および考察】マンクスはその他の集団と比較して遺伝的多様性の指標となる全ての項目において低い値を示し遺伝的多様性の低下が確認された。しかし、F 統計量は負の値を示し無作為交配に比較して近交度の上昇は認められなかった。全集団を対称に主座標分析を行ったところ、第 1 主成分でマンクスがその他から独立し、第 2 主成分では 3 品種が全て分離した。その結果、集団ごとにそれぞれのクラスターが形成された。Structure 解析を行った結果、全集団を 2 つのクラスターと仮定した場合に対数尤度が最大で、そのばらつきが最も小さくなり、ΔK からも K=2 が最適であることが示された。これは、マンクスだけが北欧由来の羊を祖先としていることに起因していると考えられた。以上のことから、マンクスは特異的な多型を保有しているが、遺伝的多様性が減少している集団であることが示された。しかし、日本国内では血統情報をもとに牧場間で頻繁に譲渡などが行われているため、近親交配が回避されていることも明らかになった。

III-05

合成系統豚トウキョウ X における遺伝的多様性および構造の評価

◎田原岳(東農大院農)、兵頭勲((公財)東京都農水振財団青梅畜セ)、小嶋禎夫((公財)東京都農水振財団青梅畜セ)、宇杉央((公財)東京都農水振財団青梅畜セ)、野村こう(東農大院農)、高橋幸水(東農大院農)、小林栄治(東農大院農、畜草研)、古川力(東農大院農)

【目的】本研究では、マイクロサテライト(MS)マーカーを用いて、トウキョウ X(TX)と他品種とを比較することでより詳細な TX における遺伝的多様性および遺伝的構造を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】供試動物には、TX の繁殖豚 72 頭および対照群としてランドレース種(L)、大ヨークシャー種(W)、デュロック種(D)育種集団各 30 頭、バークシャー種(B)23 頭、金華豚(J)9 頭、梅山豚(M)23 頭の計 217 頭を用いた。本研究では、FAO/ISAG に推奨されているブタ MS30 マーカーを用いてフラグメント解析を行った。決定した遺伝子型をもとに、平均アリル数、有効アリル数、ヘテロ接合度の期待値および観測値、F_{IS} 値の算出および主座標分析を行った。さらに個体間の D_{AS} 遺伝距離を算出し、NJ 系統樹を作製した。ベイジアンクラスタリング解析により、分集団数 K=2~8 を想定して各 K について 10 回試行し、対数尤度の算出および⊿K を求め、最適な分集団数を推定した。

【結果および考察】遺伝的多様性指標の全項目において TX は L および W 集団と同程度かあるいはそれ以上の値を示した。主座標分析では第 1、2 主成分で TX、D および B のまとまりが形成された。個体間の NJ 系統樹は TX および L、W、D、B(西洋系ブタ)と J、M(中国系ブタ)が異なるクラスターを形成した。Structure 解析では⊿K の値は K=3 のときに最大値を示し、TX、D および B 集団と L および W 集団と中国系ブタ集団に分離し、主座標分析ならびに NJ 系統樹同様のクラスターが形成された。これは、TX の系統造成の際に D、B、北京黒豚を掛け合わせているため多様性が増加し、その後の系統維持で近親交配を回避するような交配が行われているため、遺伝的多様性を維持している可能性が示唆された。

III-06

マイクロサテライト解析から推定したイノシシ地域個体群の遺伝的構造と遺伝子流動

○只野亮(岐大応用生物)、長井文(岐大応用生物)、森部絢嗣(岐大応用生物野生動物管理学研究セ)

【目的】野生動物においては、生息地を分断する山地、大きな河川、幹線道路、鉄道、市街地などが遺伝子流動を妨げる障壁となり、集団の遺伝的構造に影響を与えるケースが報告されている。本研究では、マイクロサテライト多型解析に基づき、イノシシ地域個体群の遺伝的構造を明らかにし、さらに遺伝子流動の障壁となり得る地理的要因を推定することを目的とした。

【材料・方法】岐阜県内（10,621km^2）で捕獲されたイノシシ 172 個体を解析対象とした。各個体のサンプリング場所の緯度・経度も併せて記録し空間的遺伝構造の解析データとして用いた。常染色体に位置するブタ由来の 29 のマイクロサテライト DNA マーカーでタイピングを行った。遺伝的構造の解析には、遺伝子型の情報のみを用いる STRUCTURE（Pritchard et al. 2000）と遺伝子型と個体の位置情報である緯度・経度を用いる GENELAND（Guillot et al. 2005）を使用した。さらに、地域個体群間の地理的距離と遺伝的距離の相関を Mantel test により検定した。

【結果・考察】地域個体群間の遺伝的分化は、F_{ST} の値で 0.020 から 0.128 の範囲であり、中程度の遺伝的な違いが生じていることが明らかとなった。STRUCTURE による解析では、幹線道路、鉄道、河川、市街地などによって、他と分断されている個体群が高い割合で独自のクラスターを形成した。また GENELAND による解析では、推定された地域個体群の地理的な境界（切れ目）と幹線道路、鉄道、河川、市街地などの位置関係が、ほぼ一致していた。さらに、地域個体群間の地理的距離と遺伝的距離の間に有意な相関は認められず、「距離による隔離」は検出されなかった。これらの結果から、幹線道路、鉄道、河川、市街地などが、イノシシの遺伝子流動を妨げる障壁となっている可能性が示唆された。

III-07

マイクロサテライトマーカーを用いたアマミノクロウサギの遺伝的多様性の評価

◎芦立崚(明治大院農)、倉石武(東大医科学研究所)、溝口康(明治大農)

【背景・目的】アマミノクロウサギは、奄美大島・徳之島にのみ生息している固有種である。外来捕食哺乳類のマングースにより、1990 年代中盤に急激に生息数が減少したことが明らかになった（山田 2015)。しかしながら、2005 年に施行された「外来生物法」によりマングースの防除事業が本格的に開始された。その結果、マングースは劇的に減少し、アマミノクロウサギの生息数が回復してきた（山田 2015)。近年のアマミノクロウサギの遺伝的多様性および遺伝構造を明らかにすることを目的として、本研究ではマイクロサテライトマーカーを用いて評価することとした。
【材料・方法】アマミノクロウサギの DNA は、交通事故などで死亡した 69 個体（奄美大島：67 個体､徳之島:2 個体)の筋組織より抽出した(2008 年 10 月～2015 年 2 月)。常染色体に存在する 8 種のマイクロサテライト（Nagata et. al. 2009）を用いて対立マーカー型判定を実施した。遺伝構造解析は、STRCTURE v.2.3.4 を使用した。遺伝的多様性指標は、ヘテロ接合度の期待値（H_e)、観測値（H_o)、アリル数（N_a)、有効アリル数（N_e）を算出した。また集団の分化の程度を示す値である F_{st} 値も算出した。
【結果・考察】STRCTURE 解析および算出した F_{st} 値により､奄美大島と徳之島の集団は分化していることが明らかになった。本研究で用いた各マイクロサテライトマーカーのヘテロ接合度の期待値は 0.35－0.81 であった。過去の報告（Nagata et al. 2009）における各マイクロサテライトマーカーのヘテロ接合度の期待値は 0.27－0.82 であった。本研究結果は過去の報告とほぼ一致しており、過去数十年において遺伝的多様性が減少していないことを示唆した。これは、2005 年から本格的に開始されたマングースの駆除活動によって、アマミノクロウサギの生息数が回復してきたことに起因していると考察した。

III-08

母系分子系統解析を用いた関東周辺域のニホンジカの人為的影響の考察

◎小西清夏(明治大院農)、畑尚子(東京都農林総合研究セ)、松田彩友美(明治大農)、
新井一司(東京都農林総合研究セ)、溝口康(明治大農)

【背景・目的】近年、日本列島に生息しているニホンジカ（*Cervus nippon*）の個体数は増加しており、それに伴い森林および農業被害が急増している。ニホンジカの個体管理計画を適正に実施するためには、各地域に生息する集団の遺伝系統を把握することが必要であると考えた。そこで本研究ではミトコンドリア DNA シトクロム *b*（cyt*b*）遺伝子および D-loop 領域を基に、関東地方およびその周辺地域に生息するニホンジカの分子系統解析を実施した。
【材料・方法】サンプルは神奈川県、東京都、埼玉県、栃木県、山梨県、愛知県、長野県に生息するニホンジカ 180 頭を各都県地方自治体および猟友会の協力のもと採取した。解析対象領域は cyt*b* 遺伝子 1,140bp および D-loop 領域 999bp とした。ハプロタイプ（HT）再構成とアライメントは MEGA 6.0 を用いて実施し、近隣接合法による系統樹解析、Median-joining 法によるハプロタイプネットワークを作成した。
【結果・考察】本研究では cyt*b* 遺伝子で 13 種、D-loop 領域で 31 種の HT を検出した。両領域を用いた系統解析およびハプロタイプネットワーク解析の結果、各都県の HT は混在しており、各集団で多くの共通 HT を有していた。以上のことから、関東地方および、その周辺地域のニホンジカは遺伝交流があり隔離がないと考察した。しかし、両領域において神奈川県から検出した各 1 種の HT（2 個体）は九州南部の島嶼個体の HT とほぼ一致した。ニホンジカの D-loop 領域多型解析の結果、南日本と北日本に大きく分岐していることが報告されている（Nagata *et al.* 1999)。今回検出した 2 個体の HT は、過去に南日本産のニホンジカを神奈川県丹沢山地に持ち込んだこと（飯村 1965）が原因ではないかと考察した。

III-09

ニホンイヌワシ（*Aquila chrysaetos japonica*）の飼育集団における遺伝的多様性および個体数推移の解析

◎佐藤悠、Rob Ogden、村山-井上美穂（京大野生動物研究セ）

【目的】ニホンイヌワシは日本および朝鮮半島の一部にのみ生息しており、日本における生息数は500羽と推定されている絶滅危惧種の大型猛禽類である。2014年4月時点において、日本の８動物園にて計40羽が飼育されており、血統登録簿の情報を元に年に3～4つがいを選出し、近親交配を避けた繁殖が試みられている。しかし、遺伝的多様性や近交係数は解析されていない。そこで本研究では新規開発したイヌワシ特異的なマイクロサテライトマーカーを用いて遺伝的多様性を解析し、将来の個体数の変化についてシミュレーションを行った。

【材料・方法】動物園で飼育されている27個体について、16マーカーを用いた遺伝解析を行い、平均ヘテロ接合度（*Ho*）および近交係数（*F*）を算出した。またVORTEX 10（Lacy and Pollak, 2015）を用いて、今後200年間の個体数の推移をシミュレートした。データには2014年時の血統情報を用いた。生まれる子の近交係数 $F <$ X となる場合、つがいを解消し繁殖を行わないことで近親交配の進行を防ぐという戦略を適用し、Xの値には0.01、0.10、0.125、0.15、0.175、0.20、および0.25を用いた。また、祖父母と孫にあたる $F < 0.125$ において、野生からの新規加入（雌雄1羽ずつ合計2羽）が生じる場合においての個体数変化もシミュレートし、200年後に集団が維持されるための加入間隔の条件を検討した。

【結果･考察】16マーカーの平均アリル数は4.1、平均 *Ho* は0.589であった。*F* は-0.05で、現在は近親交配が生じていないことが示された。シミュレーションの結果、$F < 0.125$ かつ野生からの新規個体が加入しない場合、約150年後に集団が絶滅することが推定された。一方、30年に一度以上の頻度で新規個体が加入すれば200年後でも集団が維持されることが推定された。

IV-01

黒毛和種で発生した胎膜水種の原因変異の解明

○佐々木慎二（畜技協動物遺伝研）、長谷川清寿（島根畜技セ）、東智子（島根家畜病鑑）、
杉本喜憲（畜技協動物遺伝研）

【背景、目的】胎膜水種は、妊娠中期に胎水が過剰に貯留することで、母牛の腹部が膨張する疾患である。多くのケースで母子ともに死亡するため、その経済的損失は大きい。今回、黒毛和種で発生した胎膜水種で、胎子の両親の血統に共通祖先として種雄牛 X が存在し劣性遺伝病が疑われたため、劣性変異の特定を試みた。
【材料、方法】臨床獣医師が胎膜水種と診断した黒毛和種 6 例を解析対象とした。これらの症例胎子と正常子牛 17 頭の DNA を用い、SNP チップ(GGP_LD_V2　26K)で型判定し、自己接合断片マッピングを行った。次に、次世代 DNA シーケンサーを用い、リスクハプロタイプ領域から原因となる劣性変異の探索を行った。
【結果】10 番染色体上の 61.7-65.2Mb（3.52Mb）にリスクハプロタイプ領域が存在した。この領域から候補変異として、*SLC12A1* 遺伝子のミスセンス変異 p.Pro372Leu を検出した。この変異は、１）発症胎子でホモ接合であること、２）発症胎子の両親は全てヘテロ接合で保因すること、３）種雄牛 X から伝達していること、さらに４）健常な成牛約 2300 頭の中にホモ接合が存在しないことが確認されたことから、本症の原因となる劣性変異であることが明らかになった。また、種雄牛 X の両親はともに正常型ホモ接合体であり、本劣性変異の始祖牛は種雄牛 X であることが判明した。
【結語】胎膜水種の原因変異を特定し、遺伝子検査法の開発に成功した。また、原因変異の始祖牛が判明したことから、予防対策は種雄牛 X の後代牛のみ行えば良く、遺伝子検査に基づき確実に胎膜水種の発症を防ぐことができることが分かった。

IV-02

定量 PCR を用いた牛白血病遺伝子診断法（BLV-CoCoMo-qPCR 法）に用いる推奨 PCR 酵素および定量 PCR 機器の比較試験

◎綿貫園子（理研分子ウイルス、東大院農）、竹嶋伸之輔（理研分子ウイルス）、若松敏枝（理研分子ウイルス）、松本安喜（東大院農）、的場和弘（農研機構畜産部門）、石崎宏（農研機構畜産部門）、間陽子（理研分子ウイルス）

【目的】国内に広く蔓延し畜産界に多大な被害を与えている牛白血病ウイルス（BLV）は、感染率が高い農場において単純に感染牛を隔離・淘汰するという戦略を取ることが難しくなってきている。そこで淘汰の優先順位を決定するために、病態進行や伝播リスクの指標となるプロウイルス量の測定が重要となる。最近我々は、全ての BLV 変異株の LTR 遺伝子領域を検出でき、細胞数あたりのプロウイルス量を測定可能な BLV-CoCoMo-qPCR 法を開発した。この手法を様々な施設で利用できるよう、本実験では試薬キットに含まれていない PCR 酵素および測定機器に着目し検討を行った。
【方法】プロウイルス量の異なる 8 頭の感染牛を選抜し、試験に供した。使用する酵素は本手法の推奨品である Taqman Gene Expression Master Mix およびより安価に購入可能な THUNDERBIRD Probe qPCR Mix を、定量 PCR 機器は現行の方法に用いられている Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR および LightCycler480 を用いた。
【結果・考察】各酵素を用いて現行の PCR サイクル条件のもと複数回の定量を行い、そのすべての定量値の平均値を真の値と仮定し相関性を評価した。酵素を変更することで、相関係数が下がり現行の方法に比べ相関がみられなかった。そこで PCR 条件を最適化し新たに試験を行った結果、相関係数が 0.9282 から 0.9775 に改善し、より強い相関がみられた。このことから現行の方法同様に使用可能であることが示された。次に定量 PCR 機器の比較実験を行ったところ機器を変えても値の差が 2 倍以下となり、PCR 機器間の誤差なく使用可能であることが明らかとなった。以上の結果から、今後 BLV 蔓延対策において全国各地の施設で診断できる方法として本手法の有用性が示された。

IV-03

The first molecular epidemiological study of bovine leukemia virus (BLV) infection in Myanmar cattle

Meripet Polat（理研分子ウイルス、東大院新領域）、Hla Hla Moe (University of Veterinary Science, Yezin Myanmar)、下桐猛（鹿児島大農）、Kyaw Kyaw Moe (University of Veterinary Science, Yezin Myanmar)、竹嶋伸之輔（理研分子ウイルス、東大院新領域)、○間陽子（理研分子ウイルス、東大院新領域）

【Background & Aim】BLV is the etiological agent of enzootic bovine leukosis. BLV infects cattle worldwide, and induces leukemia. However, there are no comprehensive studies on the distribution of BLV and the genetic characteristics of Myanmar BLV strains are unknown. Thus, this study aims to detect BLV infections in Myanmar and to determine their genetic variability.

【Method】Genomic DNA was extracted from buffy coats separated from blood from 66 cattle of central Myanmar, and BLV provirus was detected by nested PCR. For phylogenetic analysis, direct sequencing of partial *gp51* region and clone-sequencing of *gp51* and full genome sequences of Myanmar strains were carried out.

【Results & discussion】 Out of 66 samples, 5 (7.6 %) were positive for BLV provirus, as determined by nested PCR. Phylogenetic analysis based on *gp51* sequences and full genome sequences indicated that Myanmar BLV strains is a new genotype. Amino acid comparative analysis of full BLV genome showed Myanmar strain-specific 22 amino acid substitutions in both structural and regulatory genes. Interestingly, amino acid substitution in *env gp51* region were identical with that of genotype-10 Thailand strains (Infect Genet Evol, 2016). In conclusion, this study provides comprehensive information regarding BLV infection levels in Myanmar and documents the presence of BLV genotype 10 (G-10) circulating in Myanmar.

IV-04

イヌの高脂血症治療薬であるクリノフィブラートの薬効に関する犬種間比較

◎佐藤洋大朗（明治大院農）、荒井延明（スペクトラム ラボ ジャパン（株））、安田英巳（安田獣医科医院）、水谷尚（日本獣医生命科学大獣医）、溝口康（明治大農）

【背景・目的】イヌを室内で飼育する家庭が増える昨今、イヌの肥満頭数の増加が問題となっている。現在、イヌの高脂血症治療にはヒト用の薬が処方されている。様々な高脂血症パターンに応じて治療薬が選択されるが、高中性脂肪血症個体においては、クリノフィブラートが処方されることが多い。フィブラート系薬剤は核内受容体の一つであるPPARαを活性化することにより、血漿中中性脂肪の再吸収を促進し中性脂肪値を下げる薬剤である。ヒトにおいてフィブラート系薬剤の薬効には個人差があり、APOA5 遺伝子多型に関連があることが明らかになっている（Cardona *et al.* 2008）。一方でイヌにおけるフィブラート系薬剤の薬効に関する知見は本邦では見当たらない。そこで、本研究はクリノフィブラートの薬効における犬種差の有無を明らかにすることを目的とした。

【材料・方法】高中性脂肪血症と診断された 139 頭を解析対象とした。解析には、犬種、年齢、性別、中性化の有無、B.C.S.（Body Condition Score）、治療前後の血漿中総中性脂肪値を用いた。本研究において犬種の内訳は、ミニチュア・シュナウザー31 頭、トイ・プードル 21 頭、シー・ズー13 頭、その他 74 頭である。その他犬種には頭数が 10 頭以下の犬種を含めた。薬剤投与による総中性脂肪値減少率は非正規分布を示したため、ノンパラメトリック検定を統計ソフトである EZR を用いて行った。

【結果・考察】クリノフィブラートによる総中性脂肪値の減少率と年齢、性別、中性化の有無、B.C.S.の間には有意差はなかった。一方、犬種間において有意差が確認され（$p < 0.05$）、最も高い総中性脂肪値減少率を示したのはミニチュア・シュナウザーであった。本結果より薬効は犬種によって差があることが明らかとなり、これはPPARαを介した脂質代謝経路において何らかの遺伝的変異が犬種間にある可能性が考えられる。また犬種内においても総中性脂肪値減少率の高い個体と低い個体がいることから、薬効に関連する遺伝子変異があると考察した。

IV-05
次世代型シークエンサーを用いたアキタイヌのぶどう膜皮膚症候群のゲノム多型比較解析

○渡邊学(東大新領域)、坪井誠也(東大院農)、石倉隆(サーモフィッシャーサイエンティフィック)、加藤さやか(サーモフィッシャーサイエンティフィック)、東きょう(サーモフィッシャーサイエンティフィック)、瀧本善之(ナディア動物クリニック・動物眼科)、村田佳輝(むらた動物病院)、上岡尚民(うえおか動物病院)、都築圭子(東大院農)、内田和幸(東大院農)、辻本元(東大院農)、菅野純夫(東大新領域)、中山裕之(東大院農)

【背景・目的】イヌのぶどう膜皮膚症候群(uveodermatologic syndrome: UDS)は、フォークト小柳原田様症候群(Vogt-Koyanagi-Harada-like syndrome: VKH)ともよばれ，ヒトの VKH 病と類似の病態をしめす。1977 年に朝倉らにより初めて報告されたイヌの自己免疫疾患であり、好発犬種は、アキタイヌ、柴犬、シベリアンハスキーなどが挙げられ、その発症年齢の早さから遺伝性が強く示唆されている。本研究では、同症候群に罹患したアキタイヌと非罹患検体のゲノム比較によりその病態と相関するゲノム多型の抽出を行った。
【材料･方法】アキタイヌ純血種 22 例および UDS 罹症例 6 例の血液よりゲノムの抽出を行い、ホールエクソームライブラリーを作成した。EZ Beads system を用いてライブラリーの調整を行い、次世代型シークエンサーSOLiD5500xl にて Paired End シークエンスを行った。各検体より得られたシークエンスデータは、イヌリファレンスゲノム(CamFam3.1)へマッピングを行い、一塩基多型(SNP)およびゲノム挿入･欠損 (Indel)の抽出を行った。
【結果・考察】ヒト VKH 症候群の直接の抗原とされている Tyrosinase, Tyrosinase related proteins 1、関連の報告されている DLA3 領域および 17 遺伝子のエクソン領域におけるゲノム多型比較解析の結果、両群で特異的な 311 ヶ所の SNP と 25 ヶ所の Indels が抽出された。これらの結果に基づき、両群での多型頻度を算出し、その頻度を比較した結果､16 ヶ所が罹患群における多型傾向があり、119 ヶ所が非罹患群での多型傾向が認められ,これらの多型がアキタイヌの UDS の病態と相関することが推察された。

IV-06
コイ目魚類での異種間雄性発生による核 - 細胞質雑種の誘起とその胚発生能力

◎遠藤充、藤本貴史、荒井克俊(北大院水)

【目的】魚類では異種間雄性発生によって核 - 細胞質雑種を誘起できる。核 - 細胞質雑種では核と細胞質が新規の組合せとなることによって、新たな形質の発現が期待されるが、組合せによっては胚発生に障害を来す。本研究ではコイ目魚類の異なる種間、異なる倍数性の精子によって核 - 細胞質雑種を誘起し、その胚発生能力を調査した。
【材料・方法】ゼブラフィッシュ *Danio rerio* を細胞質提供種として使用し､異種間雄性発生は 75 mJ/cm^2 の紫外線を照射することによって遺伝的に不活性化した卵に異種精子（半数性精子：パールダニオ *Danio albolineatus*，ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus*，キンギョ *Carassius auratus*；二倍性精子：クローン系統ドジョウ，四倍体ギンブナ *C. auratus langsdorfii*）を媒精することによって誘起した。そして、同種間雄性発生胚と核ー細胞質雑種胚の外部形態観察と組織学的解析により胚発生能力を調査した。
【結果・考察】同種間での雄性発生半数体胚は孵化期まで生存するが、すべて半数体症候群を呈して死亡した。また、*Danio* 属のパールダニオを用いた核ー細胞質雑種も孵化期まで生残したが、同種間雄性発生半数体よりも重篤な奇形を呈し死亡した。*Carassius* 属と *Misgurnus* 属の半数性精子と二倍性精子を用いた核 - 細胞質雑種では倍数性に関わらず、*Carassius* 属では嚢胚期前に、*Misgurnus* 属では嚢胚期中に発生を停止し、これらでは肥厚した多核層が形成されていた。致死的な核 - 細胞質雑種では倍数性に関係なく核と細胞質の不適合性に起因することが考えられた。しかしながら、近縁種間の核 - 細胞質雑種では胚発生が進行したことから、倍加処理を施すことによって生存性の核 - 細胞質雑種を誘起できることが期待される。

IV-07

ウズラにおける新たな淡色羽装突然変異（DVD）の繁殖性および生存性

◎小野貴史（広大院生物圏）、阿部優（広大院生物圏）、Mohammad Ibrahim Haqani（広大院国際協力）、都築政起（広大院生物圏、広大日本鶏資源開発セ）

【目的】ウズラ(*Coturnix japonica*)は、家禽における実験動物の一つであり、本種においては、これまでに約 30 の羽装色突然変異が報告されている。我々は、野生型羽装では褐色である領域の淡色化を示す新たな淡色羽装突然変異 dominant viable dilution (DVD)を発見し、常染色体性不完全優性形質であることを報告した（Asia Pacific Poultry Conference, 2014）。優性遺伝子によって支配されている淡色羽装突然変異には、silver、dominant white および light down があり、これらの突然変異のホモ型はいずれも完全致死あるいは半致死を示す。本研究では、淡色羽装突然変異 DVD における繁殖性および生存性について調査を行った。

【材料・方法】DVD ホモ型と野生型（WT)の正逆交配を行うと共に、DVD ホモ型同士および WT 同士の交配を行い、得られた卵および孵化した個体を用いた。卵の受精率および孵化率を算出し、交配間で比較した。また、孵化した個体については、16 週齢までの生存率を算出し、DVD ホモ型、同ヘテロ型および WT 間で比較した。

【結果・考察】受精率については、DVD ホモ型オスと WT メスの交配では 94.7 %、WT オスと DVD ホモ型メスの交配では 86.7 %、DVD ホモ型同士の交配では 94.3 %、および WT 同士の交配では 93.9 %であり、交配間に有意な差は認められなかった。孵化率については、DVD ホモ型オスと WT メスの交配では 94.4 %、WT オスと DVD ホモ型メスの交配では 89.7 %、DVD ホモ型同士の交配では 94.0 %、および WT 同士の交配では 96.7 %であり、受精率と同様に交配間に有意な差は認められなかった。16 週齢時における生存率は、DVD ホモ型で 87.1 %、DVD ヘテロ型で 91.4 %、および WT で 89.5 %であり、3 者間に有意な差は認められなかった。以上の結果より、淡色羽装突然変異 DVD の受精率、孵化率および生存率は正常であることを確認した。

IV-08

マウス白色脂肪組織重量および腎臓重量に関わる QTL の責任遺伝子の探索

◎牧野圭汰（名大院生命農学）、石川明（名大院生命農学）

【目的】以前に、フィリピン産野生マウスと C57BL/6JJcl 近交系（略称 B6JJcl）との戻し交雑において成長関連形質に関与する QTL *Pbwg1* を第 2 染色体上に位置づけた。その後、野生マウス由来の *Pbwg1* 領域約 3 Mb を B6JJcl に導入した B6.Cg-*Pbwg1*/24Nga（SR24）サブコンジェニック系統を樹立した。この領域内には、白色脂肪組織重量に関する QTL *Pbwg1.5* と腎臓重量に関する QTL が存在するものと考えられている。本研究では、この QTL 候補領域内に位置する *Gcg*、*Ly75*、*Fap* を候補遺伝子として SR24、ノックアウト（KO）マウスとそのバックグラウンドの B6 系統を用いて、表現型解析、遺伝子発現解析と相補性検定を行った。

【材料と方法】実験 1：C57BL/6J 近交系（B6J)、KO、B6JJcl、SR24 系統の雄 4~6 個体を用いて、生後 5 から 8 週齢、12 から 14 週齢までの摂食量と体重を測定し、主要臓器を採取した。リアルタイム PCR 解析により候補遺伝子の発現量を定量した。実験 2：B6J と KO、B6JJcl と SR24 をそれぞれ交配させて、得られた F_1 個体を正逆交配し、相補性検定用の F_2 個体群を得た。生後 10 週齢までは通常食を与え、10 から 16 週齢の間高脂肪食（45kcal% Fat）を与えた。生後 1、3、6、10、13、16 週齢の体重を測定し、16 週齢で臓器重量などを測定した。

【結果と考察】実験 1：系統間で摂食量に有意な差異はみられなかった。しかし、腎臓重量は B6 より KO、SR24 が有意に重く、白色脂肪組織重量は SR24 が有意に軽かった。*Gcg* の遺伝子発現量は系統間で差がみられなかったが、*Ly75* と *Fap* の発現量は B6 より SR24 が有意に高くなった。このことから、*Ly75*、*Fap* が白色脂肪組織重量と腎臓重量に関係している可能性が示唆された。実験 2：相補性検定の結果、遺伝子型間で腎臓重量に有意な交互作用が認められた。以上の結果から、*Ly75* が腎臓の重量に関係していることが示された。現在、白色脂肪組織重量との関係を解析中である。

IV-09

GBS 法によるニホンウナギの変態期に関する QTL 解析

◎宮尾萌莉（海洋大）、内野翼（海洋大）、須藤竜介（水産機構増養殖研）、山田祥朗（いらご研）、坂本崇（海洋大）

【目的】ニホンウナギ *Anguilla japonica* の資源保全のために、天然資源に頼らないウナギ種苗の安定供給が求められている。仔魚（レプトセファルス）から稚魚（シラスウナギ）に変態するまでの期間は、天然で約 130 日であるが、人工飼育下では約 200～300 日と長い期間を要する。より効率的な種苗生産技術を確立するためには、変態までにかかる期間（仔魚期間）の短縮化が必要である。そこで本研究では次世代シーケンサーを用いた GBS 法により、SNP マーカーを用いた連鎖地図の作成と仔魚期間の QTL 解析を実施し、ウナギ種苗生産研究におけるマーカーアシスト選抜（MAS）育種の可能性を検討した。

【方法】人為催熟した雄雌（F2）の 1 対 1 交配を実施し、変態期まで生育したウナギ仔稚魚 75 個体と親魚 2 個体を材料とした。GBS 法（Sonah *et al.*, 2013）によりライブラリー調製後、Hiseq2000（Illumina 社）を用いてシークエンスを行った。CLC Genomics Workbench を用いてリファレンスゲノムへマッピングし、Stacks により SNP マーカーを抽出した。MapDisto により連鎖地図を作成後、R/QTL により変態までの日数を形質とした QTL 解析を実施した。

【結果】変態終了日齢は 202~457 日であり、平均 314.3±75.6 日であった。75 個体中 9 個体は、ふ化後 457 日でも未変態であった。Hiseq2000 によるシークエンスにより、親は平均 2.1Gbp、子どもは平均 4Mbp の配列を得た。リファレンスゲノムには、約 7 割のリードがマッピングされた。SNP 抽出と連鎖解析により、318 SNP マーカーからなる連鎖地図が作成された。平均連鎖群長は 151.7cM であった。QTL 解析の結果、一つの連鎖群において形質との関連性が示された。最も関連性の強い SNP では、アレル別の日齢に約 70 日の差がみられた。今後、QTL 領域の詳細解析を進めるとともに、得られた SNP マーカーを用いた MAS 育種による人工種苗生産技術への応用が期待される。

シンポジウム要旨

ポストQTL時代のQTG・QTN研究の現状と展望

１.「黒毛和種の繁殖能力に関わる多型・変異の迅速な同定に向けた多様体データベースの構築」

佐々木 慎二（公益社団法人 畜産技術協会附属動物遺伝研究所）

２.「ポストゲノムにおけるブタの経済形質関連遺伝子の探求」

美川　智（国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産研究部門）

３.「養殖魚におけるゲノム情報を利用した育種の取り組み」

荒木 和男（国立研究開発法人 水産研究・教育機構 増養殖研究所・育種研究センター）

４.「マウスの成長形質関連遺伝子の探索」

石川　明（国立大学法人 名古屋大学大学院生命農学研究科）

座長：小林 栄治（国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門）

黒毛和種の繁殖能力に関わる多型・変異の迅速な同定に向けた多様体データベースの構築

佐々木　慎二
（公益社団法人　畜産技術協会附属動物遺伝研究所）

2009 年のウシゲノム解読を受け、リシークエンスによって開発された多数の SNP を搭載した SNP アレイが市販され、ウシにおいても様々な量的形質や遺伝性疾患に関連する領域のマッピングが相次いでいる。しかし、マッピングされたこれらの領域から、量的形質に関わる多型や遺伝性疾患の原因となる変異を同定するまでの道のりは長く、一般に下記の 2 つのステップを経る。まず、１）領域内の多型･変異を探索し、マッピングの結果と矛盾しない候補をリストアップする。次に、２）候補多型は該当する量的形質の表型値の差を生みうるか、あるいは候補変異は該当する遺伝性疾患を引き起こすか生物学的に検証するステップである。

現在、ステップ 1 を迅速に漏れなく行うため、次世代 DNA シークエンサーを使ってウシの各品種で要となる種雄牛 1000 頭の全ゲノム配列を解読するプロジェクトが進行し、情報基盤の整備が進められている。2014 年には 4 品種、234 頭のデータが公開され、2016 年時点で 29 品種、約 1200 頭の解読が終了し、その成果として多型･変異の同定が報告されつつある。特に、ウシは集団の有効なサイズが小さいため、各品種で要となる種雄牛の全ゲノム情報は多型･変異の同定に有効であると考えられる。

一方、多型が表型値の差を生むまでの過程や変異が疾患を引き起こすまでの過程は階層的である。このため、ステップ 2 の段階では、多型・変異が遺伝子の発現やタンパク質の機能変化を起こし、その結果、細胞、組織そして生体システムに影響を与えるか各段階を丹念に調べる必要がある。しかし、特に量的形質は各段階で環境効果を受けるため、責任多型の同定への道のりは大変険しい。そこで、予め様々な形質の表型値や臨床データ、生物試料（血液、細胞、組織）をバイオバンクとして準備し検証に臨む体制作りや、マウスなどのモデル生物を使った検証が行われている。

本演題では、ウシの生産の基盤である繁殖能力を取り上げ、黒毛和種の繁殖能力に関わる量的形質や遺伝性疾患に関与する多型・変異を効率的に同定するための取り組みとして、１）黒毛和種で要となる種雄牛 500 頭のエクソームシークエンスによる多様体データベースの構築と、２）候補多型・変異の検証のための黒毛和種のバイオバンクの構築とモデル生物を使った解析例を紹介する。

ポストゲノムにおけるブタの経済形質関連遺伝子の探求

美川　智
（国立研究開発法人　農業・食品産業技術総合研究機構　畜産研究部門）

ブタのゲノム配列は、2009 年にその概要配列が公開された。さらに日本は独自の完全長 cDNA 解析により 15,000 個以上の遺伝子配列を公開しており、それらを用いたゲノムアノテーションを含む詳細解読が 2012 年に公開されている。また SNP チップが開発され、現在の有用遺伝子単離に関する研究は、同一品種からなる大集団を用いた GWAS が主流となっている。このようなゲノム研究基盤が整備されたことにより、有用ゲノム領域を探索する効率が格段に向上した。SNP チップによる GWAS ではマイクロサテライトマーカーを用いた連鎖解析と比べ、解析速度およびマーカー密度はともに 100 倍以上となり、1 頭当たりの解析コストも半分以下になっている。

GWAS から原因遺伝子へ到達する過程には、ゲノム配列の精度という問題がある。公開されたゲノム配列には、重複、逆転、分断など、多くのミスアセンブリと思われる箇所がある。特定された有用ゲノム領域については、ヒトゲノム配列との比較も含め、アセンブルに用いられた BAC の精査と再度のコンティグ作成、また塩基配列の追加と再アセンブルが必要なことも多い。

GWAS に血縁の無い個体を用いた場合、マッピングはハプロタイプブロックまで到達する可能性があるが、血縁の無い個体で均質な形質測定がされることはブタではまずない。よって量的形質についての GWAS の結果は、ある領域の多数の SNP が関連性を示し、F2 家系の連鎖解析によく似たものである。よって QTL の原因遺伝子の遺伝学的な特定には、これまでと同様にマッピングを成功させるための何かしらの工夫が必要である。そうでなければ機能面からの候補遺伝子の探索となるが、候補遺伝子に関連 SNP が得られたとしても原因遺伝子であることの証明は難しい。まもなく SNP の効果をゲノム編集技術によって証明することが実現すると思われるが、真の原因遺伝子を候補遺伝子とするには、候補領域をできるだけ絞り込むことが必須である。

これらの問題の打開策の一つとして、我々は複合的なオミクス解析にも取り組んでいる。遺伝子およびタンパク質発現、さらにはメタボロームなどの生体内情報も加えて、遺伝的差異を検出しようという試みである。ポストゲノムとしてトランスクリプトーム以外にもオミクスの解析技術は向上しており、最大限の活用が期待される。また GWAS では集団内の遺伝的多様性が検出されるが、その他に系統間差に関する研究も必要となっている。例えば、ブタの産子数は、欧米において増大しているが、国内の種豚の解析のみでは対応できず、欧米系と国産系の比較も必要である。また肉質に関する系統間差も注目されているが、同様に SNP とオミクス情報を統合した系統比較解析の開発を期待したい。さらには雑種強勢に関わる因子の解明も興味深いが、多くの遺伝子がヘテロ型になる状況下においては、ゲノムよりむしろ他のオミクス情報が有用となると考えている。

養殖魚におけるゲノム情報を利用した育種の取り組み

荒木　和男
（国立研究開発法人　水産研究・教育機構　増養殖研究所・育種研究センター）

コイや金魚など一部の魚種を除いて水産生物の養殖の歴史は短く、サケ科魚類やアコヤガイなどの養殖が 19 世紀後半から、海産魚に至っては 20 世紀に入ってから本格的な養殖が始まった。しかし、完全養殖できる魚種は少なく、多くが天然の種苗を捕獲して養殖しているのが現状であり、目的とする雌と雄を 1 対 1 で交配できるのは一部の魚種に限られている。そのため、天然海の魚類には原種のままの多くの遺伝的多様性が残されている。また、魚類では 1 対 1 交配で数千尾の個体からなる解析用家系を作出し、表現型を解析できる長所がある。我々は、この様な魚類の長所を生かしてヒラメ及びブリ類を対象に詳細な遺伝子地図の作成やゲノム解析を行い、その情報を利用してヒラメのレンサ球菌抵抗性の選抜育種やブリのハダムシ抵抗性についての研究を行ってきた。

ヒラメの研究では、兵庫県水産試験場から譲渡されたエドワジエラ症抵抗性のヒラメの家系よりレンサ球菌感染抵抗性を解析する F1 家系を作出し、人為感染実験の結果をもとに約 1,300 のマイクロサテライト（MS）マーカーからなる連鎖地図上の MS マーカーを用いて連鎖解析を行い、第 7、10、15、17 連鎖群にレンサ球菌感染抵抗性と連鎖する遺伝子座領域が存在することが分かった。この 4 連鎖領域内にある MS マーカーをもとに残りの F1 家系から親魚を選抜し、F2 家系を作出した。選抜 F2 家系の個体は選抜育種する前のヒラメと比べて約 40%レンサ球菌感染に対して抵抗性が高くなった。この家系の感染後の血球の観察から抵抗性の家系ではレンサ球菌感染後 48 時間目から急激に単球や顆粒球が増加すること、RNAseq 解析から感染後特異的に発現が増加する遺伝子がいくつかあることが分かった。そこで、ラディエーションハイブリッド（RH）パネルを利用した詳細な物理地図を作成し、発現が増加する遺伝子のマッピングを行い、それをもとに BWA ソフトを用いてゲノム配列と SNP の情報のマッピングを行い、レンサ球菌抵抗性と連鎖する SNP の探索を行った。Toll like receptor 2 が連鎖群 15 番にマッピングされ、TNEF が連鎖群 10 番にマッピングされること、Toll like receptor 2 のゲノム遺伝子内に抵抗性個体特異的な SNP が 2 か所存在することが分かった。

また、1 尾のブリの全組織の EST 解析で得られた配列に、500 尾の稚魚の EST 解析で得た配列をマッピングして、25%以上のアレル頻度で多型を示す 9,359 個の SNP を同定した。この内約 1,500 個の SNP について RH パネルを利用して物理地図にマッピングした。このブリの物理地図を用いて、その後のゲノムの de novo 解析で得たスキャホールドの配列の整列化や SNP のマッピングが簡単にできることを合わせて紹介したい。

マウスの成長形質関連遺伝子の探索

石川　明
（国立大学法人　名古屋大学大学院生命農学研究科）

今までに、ヒト、実験動物や産業家畜などにおいて、様々な量的形質に関わる膨大な数の量的形質遺伝子座(QTLs)が報告されている。しかし、次世代シークエンサーにより全ゲノムが解読できるようになった近年おいても、比較的表現型効果の小さい、いわゆる典型的な QTL の責任遺伝子（量的形質遺伝子(QTG)と呼ぶ）を同定することは容易ではない。また、責任 DNA 変異（量的形質ヌクレオチド(QTN)と呼ぶ）を同定することはさらに難しい。これは、QTN がアミノ酸翻訳領域に存在することは少なく、転写調節領域、イントロンや遺伝子間などの非翻訳領域に存在することが多いためである。

成長形質は、ヒトの生活習慣病の発症に関連するとともに、産業家畜の経済形質として重要である。我々は、これまでに、フィリピンで捕獲された野生マウス(Mus musculus castaneus)と C57BL/6JJcl (B6)近交系マウスとの交雑群におけるゲノムワイド QTL 解析により、24 個の体重と成長関連形質に関わる QTLs を 13 本の染色体上に位置づけた。その結果、体重は、主効果 QTLs、時期特異的・性特異的 QTLs とエピスタシス QTLs が複雑に絡み合い、時空間ネットワークを形成して統御されていることを明らかにした。検出した QTLs の中で最も大きな表現型効果（寄与率約 12%）をもつ第 2 染色体上の QTL（Pbwg1 と命名）を B6 マウスに導入したコンジェニック系統(B6.Cg-Pbwg1)を樹立し、ファインマッピングを行った。その結果、44 Mb という限られたコンジェニック領域内に成長関連形質に関与する 9 個の QTLs がクラスターとして存在していることを明らかにした。特に、互いに密接に連鎖し全く正反対の表現型効果をもつ体重 QTLs、雑種強勢を引き起こす超優性の体重 QTL および普通食・高脂肪食下で肥満抵抗性を示す QTL（Pbwg1.5）の発見は、野生動物の遺伝資源を用いることの重要性を示唆した。

近年、B6.Cg-Pbwg1 由来のサブコンジェニックマウス系統解析により Pbwg1.5 を 2.1 Mb 領域内に絞り込み、エクソーム解析とバイオインフォマティックス解析により Pbwg1.5 の候補 QTG として 2 個の遺伝子をリストアップした。サブコンジェニックと B6 系統間の F_2 分離集団におけるトランスクリプトーム解析と因果推論テストにより、候補 QTG を 1 つの遺伝子に絞り込むことができた。この候補 QTG に存在する何らかの QTNs が候補 QTG の発現量の差異を引き起こし、その発現量の差異が白色脂肪組織重量の差異を引き起こしたものと解釈することができた。現在、この候補 QTG が Pbwg1.5 の本当の責任 QTG であることを立証するために、様々な解析を進めている。本講演では、この Pbwg1.5 に関する QTG 研究の一端を紹介する。