TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

クロマグロにおける全ゲノム情報を用いた連鎖地図の作成と優良形質のQTL解析に関する研究

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2016-07-04
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 内野, 翼
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/1287

［課程博士］
Doctoral Course

博士学位論文内容要旨
Abstract

専　攻 Major	応用生命科学専攻	氏　名 Name	内野　翼
論文題目 Title	クロマグロにおける全ゲノム情報を用いた連鎖地図の作成と優良形質の QTL 解析に関する研究		

太平洋クロマグロ（*Thunnus orientalis*）は、スズキ目サバ科マグロ族マグロ属に属し、市場価値の非常に高い水産物である。しかしながら、その天然資源状況は悪化している。近年、本種の完全養殖が達成され、人工種苗が養殖生産に用いられ始めている。そのため、耐病性や高成長などの優良形質を有する人工種苗の作出が注目されている。人工種苗を遺伝的に改良するためには、優良遺伝形質と連鎖する遺伝マーカーを用いたマーカーアシスト選抜（Marker Assisted Selection: MAS）育種法が有用であると考えられている。MAS 育種法を実践するためには、優良遺伝形質と連鎖する遺伝マーカーを開発する必要がある。優良遺伝形質と連鎖する遺伝マーカーを開発するための QTL（量的形質遺伝子座）解析を効率良く行なうためには、遺伝マーカーを多数配置した連鎖地図が必要となる。近年、クロマグロの全ゲノム解読が行われ（Nakamura *et al*., 2013）、ゲノム情報を用いた遺伝育種学的解析が可能となった。本研究では、このゲノム情報を活用し、クロマグロの連鎖地図作成と優良形質の QTL 解析に関する研究を行った。

第 1 章では、全ゲノム解読により得られたゲノム配列断片（スキャフォルド）情報から開発した遺伝マーカーを用いた連鎖解析によって、スキャフォルドの染色体上の位置を明らかにし、連鎖地図を作成した。クロマグロ全スキャフォルド（約 17,000 本）で上位 2,000 番以内の配列長のスキャフォルドを選抜した。選抜したスキャフォルド内にある計 606 座位のマイクロサテライト（MS）領域近傍に PCR プライマーを設計し、同胞 93 個体を解析した。連鎖解析の結果、多型性が検出された多くの MS マーカー座位間（470/473）で連鎖関係が見出された。雄連鎖地図は 374 マーカー座位、雌連鎖地図は 366 マーカー座位から構成され、ともにクロマグロ染色体数（24 対）に一致する 24 の連鎖群が得られた。連鎖地図上の MS マーカーの配置から、スキャフォルド総延長の 20.8 %に相当する 154 Mbp の配列の位置情報が明らかとなった。クロマグロおよび 4 魚種（イトヨ、トラフグ、ミドリフグ、メダカ）に共通したオルソログ遺伝子である 6,445 遺伝子を抽出したところ、その中で 1,381 遺伝子が連鎖地図上に配置されていた。このオルソログ遺伝子において、他魚種の各染色体に対する遺伝子数の分布を調べた結果、染色体構成はメダカに最も近いことが示唆された。連鎖地図に位置づけられた配列相同領域の比較からは、クロマグロ-メダカ間では進化上の分岐後に同一染色体内で複数回の逆位が起こっている可能性が示された。

第 2 章では、クロマグロ連鎖地図情報を用いて、クロマグロ仔魚の成長に関わる QTL の探索を行った。クロマグロ連鎖地図作成に用いた 18 日齢仔魚 93 個体の標準長は平均 8.3 mm であった。全長データのヒストグラムおよび正規性の検定から、標準長データは正規分布に従っていた。仔魚 93 個体の標準長と、連鎖地図上 MS マーカー470 座位のマーカー型・遺伝距離を元に、R-QTL による Composite interval mapping を行った。その結果、雌親に由来する連鎖群 10 の 25 cM 付近において、ゲノムワイド有意水準以上の LOD スコア 3.3 を示す QTL が検出された。

第 3 章では、マダイイリドウイルス耐性遺伝子座の探索を行った。クロマグロ養殖の現場では夏季にマダイイリドウイルスを原因とするイリドウイルス病が蔓延し、深刻な被害をもたらしている。遺伝的に本

疾病に対して耐病性を保持する人工種苗を MAS 育種により作出できれば、感染被害を低減できると考える。まず、複数の天然親魚群に由来する F1 稚魚 836 個体を用いて人為感染試験が実施された。次に死亡日 8 日目から 17 日目の計 264 個体について家系判別を行い、同胞関係にある 130 個体が抽出された。リアルタイム PCR により 130 個体の DNA に含まれるウイルス量を定量した結果、RSIV 10^{10} ～ 10^{13} コピー / mg DNA と高いウイルス量が検出された。これらの同胞 130 個体と親魚 2 個体を、既存の連鎖地図から選択した 190 座位の MS マーカーを用いて解析した。マーカー間遺伝距離の再計算を行った後、R-QTL による Composite interval mapping を行った。その結果、雌親に由来する連鎖群 1 の 35 cM 付近において、LOD スコア 2.2 を示す QTL の存在が示唆された。

本研究によって構築された連鎖地図は、クロマグロにおけるより高密度な連鎖地図の作成や完全ゲノム配列の解読、また優良形質に関与する遺伝マーカーの探索に有用なリソースとなり得る。また、初期成長やイリドウイルス耐性についての QTL 解析結果は、今後の優良遺伝形質に着目した解析に役立つものと考えられる。本研究により得られた知見は、ゲノム情報を用いたクロマグロ育種の基盤になると期待される。