

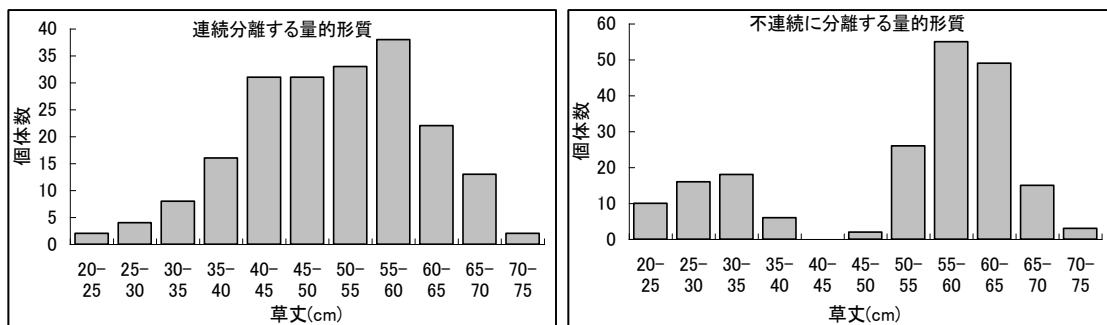
クローニングのための遺伝学(後編)

Akifumi Shimizu

7. 量的形質の解析

7.1 量的形質とは

量的形質(quantitative character)とは、表現型の値が数値で表される形質のことです¹。例えば長さや重さなどの形質の場合、F₂世代での分離は左下図のように連続的になり易いです。そのため、量的形質は質的形質と違い、表現型から遺伝子型を推測することが困難なため、一般的にマッピングが容易ではありません。ただし量的形質でも、作用力の大きな一つの遺伝子座が関与する場合は形質分離が不連続になるので(例えば右下図)、マッピング及びその後のマップベースクローニングが可能です。量的形質に対して単一で大きな効果を示す遺伝子(座)は、人為突然変異処理によって見つかる場合が多く、**macro mutant**²と呼びます。形質の分離の様子はヒストグラムで一覧できます。F₂の200個体について草丈を調査した仮想実験データを下図に示します。左側は形質が連続分離する例です。その場合、草丈の高低をどこで分けてよいか明確な線引きが困難です。一方右図は、草丈40-45cmを境界にして高低が3:1に分離しています(→分離比の検定方法は、課題で説明した χ^2 適合度検定などを使用)。



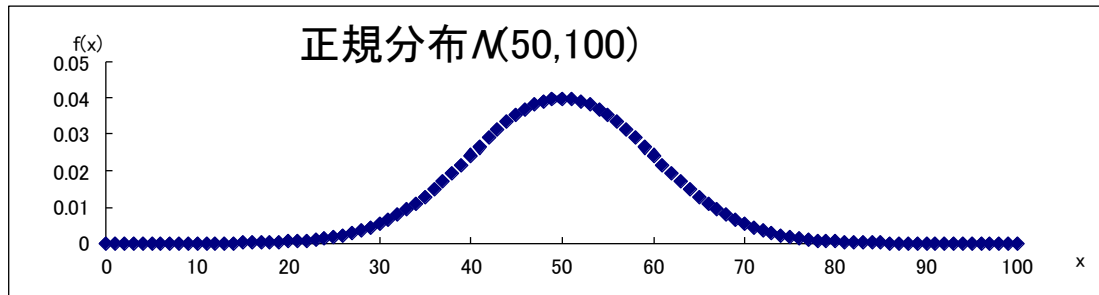
マーカーの持っている遺伝子型情報を上手に利用すると、連続分布する量的形質でも、関係する遺伝子座のおよその位置や効果を推定できます。その一連の手法を **QTL 解析** (quantitative trait loci analysis) といいます。形質が連続分離する理由は以下の 1), 2) で、
1) 量として計測される形質の場合は、計測時の測定誤差や環境変異による誤差など値にバラつきが加わります。無作為な誤差が蓄積すると、その分布は正規分布という連続分布に近づくと考えます。実際に、上図左は実は平均 50 分散 100 の正規分布をもとにした乱数から作成したものです。

¹ 『植物遺伝学 III 生理形質と量的形質』(1976) 裳華房

² Tanksley, S.D. (1993) Mapping Polygenes. Annu. Rev. Genet. 27:205-233

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} \dots \text{正規分布 } \mathcal{N}(\mu, \sigma^2)$$

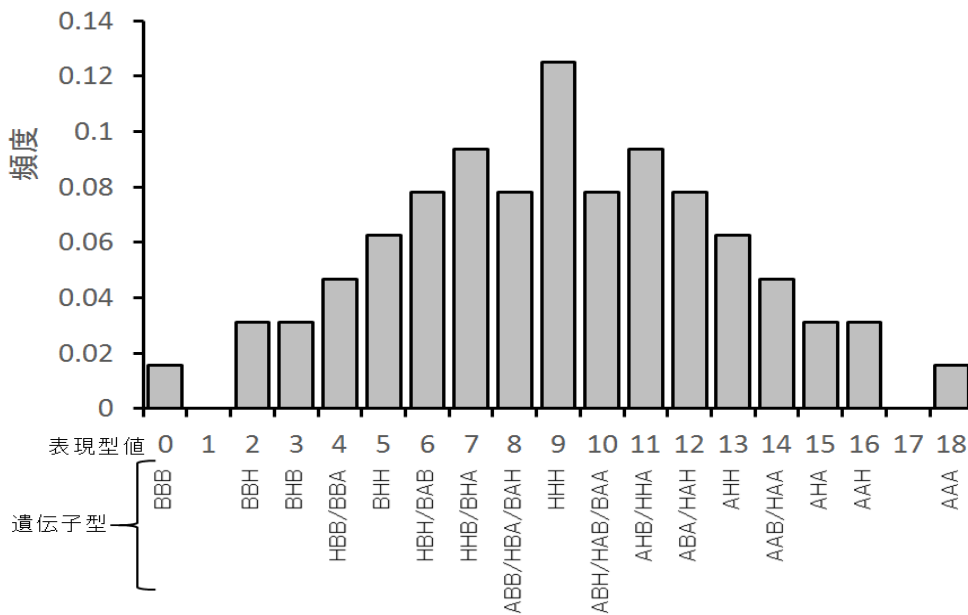
正規分布は、平均 μ と分散 σ^2 の2つの母数(パラメーター)によって形が決まるため、 \mathcal{N} (平均, 分散)と簡略した表記もできます。



正規分布の確率密度関数(上図)において、平均値の頻度が最も高く、裾の広がりには分散を表します。ヒトの身長やテストの結果のヒストグラムなどは正規分布に近い形をとることが多いです。誤差分布と呼ばれることもあり、QTLの効果(μ)が一定の誤差分散(σ^2)をとりうることを表現するときも、正規分布を仮定します。

2) 関係する遺伝子座が複数で、分離の境界があいまいになる場合

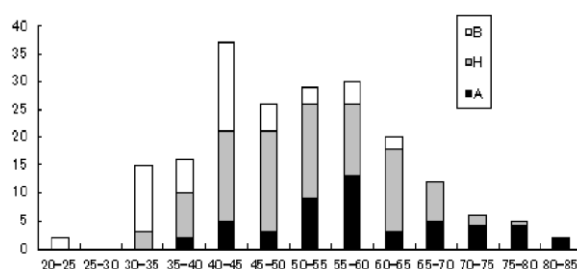
3つの遺伝子座の分離の場合で、座1が(A+8, H+4, B 0)、座2が(A+6, H+3, B 0)、座3が(A+4, H+2, B 0)の効果を持つとするとき、それぞれの効果が離散的な場合でも蓄積した表現型は連続的な分布になります。



実際の量的形質では、複数の座の関与と環境変異などの誤差を複合的に受けるケースが多いでしょう。

7.2 単一マーカーと量的形質の連鎖解析

もし或る量的形質にかかわる遺伝子座(QTL)がちょうどマーカー上にある、あるいはマーカーと密接に連鎖していたら、マーカー遺伝子型によって表現型の分離を上手に説明できるはずですが。例えば、200 個体の F₂ 分離集団で、20-85 までの値をとる量的形質を考えて見ます。その F₂ に有効なマーカーがあつて(A, H, B にジェノタイプングできる)、各遺伝子型が、対象となる量的形質について、A... $N(60,100)$ 、H... $N(50,100)$ 、B... $N(40,100)$ のような効果を持っていたとします。 $N(n,m)$ という表記は、正規分布を表し、 n は平均値、 m は分散(データのばらつきを示す)を意味します。マーカーの遺伝子型そのものが QTL の遺伝子型になる場合、形質の連続分布は下図のように QTL 遺伝子型により説明できることとなります。



実際の QTL 解析では、調査した形質の表現型分離を上手に説明できるマーカーを網羅的に探索します。1 つだけ調べたマーカー遺伝子型が QTL 遺伝子型と偶然一致する確率は、非常に低いです³。しかし、QTL とマーカー遺伝子型との連鎖関係を利用することで、QTL の位置や効果を予測することができます。

表 マーカー遺伝子型クラスによる、組換え価 r で連鎖する QTL 遺伝子型の推定

クラス	遺伝子型		対応するハプロタイプ 組み合わせ	期待頻度
	マーカー	QTL		
1	AA	QQ	$\begin{array}{ c } \hline A & Q \\ \hline A & Q \\ \hline \end{array}$	$(1-r)^2/4$
	AA	Qq	$\begin{array}{ c } \hline A & Q \\ \hline A & q \\ \hline \end{array}$	$2r(1-r)/4$
	AA	qq	$\begin{array}{ c } \hline A & q \\ \hline A & q \\ \hline \end{array}$	$r^2/4$
2	Aa	QQ	$\begin{array}{ c } \hline A & Q \\ \hline a & Q \\ \hline \end{array}$	$2r(1-r)/4$
	Aa	Qq	$\begin{array}{ c } \hline A & Q \\ \hline a & q \\ \hline \end{array}$ or $\begin{array}{ c } \hline A & q \\ \hline a & Q \\ \hline \end{array}$	$2(1-2r+2r^2)/4$
	Aa	qq	$\begin{array}{ c } \hline A & q \\ \hline a & q \\ \hline \end{array}$	$2r(1-r)/4$
3	aa	QQ	$\begin{array}{ c } \hline a & Q \\ \hline a & Q \\ \hline \end{array}$	$r^2/4$
	aa	Qq	$\begin{array}{ c } \hline a & Q \\ \hline a & q \\ \hline \end{array}$	$2r(1-r)/4$
	aa	qq	$\begin{array}{ c } \hline a & q \\ \hline a & q \\ \hline \end{array}$	$(1-r)^2/4$

³ 『クローニングのための遺伝学 (中編)』 p3 を参照

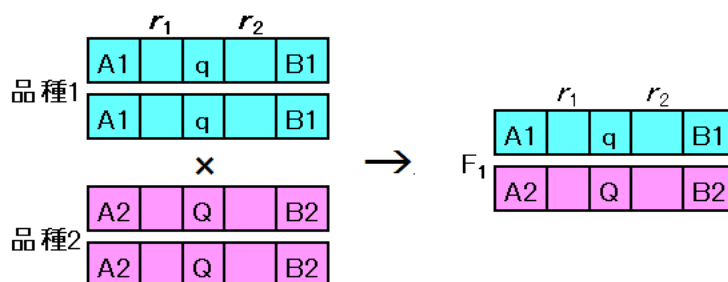
通常、QTL 遺伝子型(QQ or Qq or qq)は未知なので、その推定には QTL と連鎖するマーカー遺伝子型(AA or AB or BB)を用います。QTL とマーカーとの組換え価 r のとき、マーカー遺伝子型クラス別の QTL 遺伝子型の頻度は p3 の表のように推定できます⁴。実際は、マーカー遺伝子型によるクラス 1~3 群の差が、統計的に十分有意なときに、QTL が検出できたと考えます。マーカーと QTL が近いほど、マーカー遺伝子型による QTL 遺伝子型の推定精度があがります (下表)。

クラス	QTL	r			
		0.01	0.1	0.2	0.3
1 (AA)	QQ	98%	81%	64%	49%
	Qa	2%	18%	32%	42%
	aa	0%	1%	4%	9%
2 (Aa)	QQ	1%	9%	16%	21%
	Qa	98%	82%	68%	58%
	aa	1%	9%	16%	21%
3 (aa)	QQ	0%	1%	4%	9%
	Qa	2%	18%	32%	42%
	aa	98%	81%	64%	49%

組換え価 r は 0.1 程度でも連鎖マーカー遺伝子型から QTL 遺伝子型が高確率で推定できます。 r が 0.2 や 0.3 と離れるとマーカー遺伝子型から、QTL 遺伝子型を推定することが難しくなります。マーカー密度が十分であれば、単一マーカー遺伝子型だけを使用しても有意な領域を見つけることができるでしょう(QTL の効果の大きさにもよるが目安としては 10cM 間隔ぐらい?)。

7.3 インターバルマッピング

インターバルマッピング(interval mapping)⁵とは、QTL を挟み込む隣接マーカー遺伝子型⁶を利用した QTL 推定法です。例えば下のような接マーカーとその間に挟みこまれた QTL 遺伝子型を考えて見ましょう。品種 2 は対立遺伝子 Q を、品種 1 は q を持つとすると、両者の F₁ 遺伝子型は次のようになるでしょう。



F₁ から生じる配偶体子の遺伝子型は、隣接マーカーと QTL の組合せを考えると次図の 8 通り(=2³)になります。

⁴ 期待頻度は『クローニングのための遺伝学(前編)』p5 の様に計算できる

⁵ Lander, E.S. and Botstein, D. (1989) Genetics 121:185-199.

⁶ 質的形質の場合でも、隣接マーカー遺伝子型を利用すれば効率的な選抜が行えます (『クローニングのための遺伝学(中編)』)

		配偶子遺伝子型の期待頻度	隣接マーカー遺伝子型	期待頻度
r_1 r_2 	$(1-r_1)(1-r_2)/2$	A1-B1	$(1-r_{1+2})/2$	
	$r_1 r_2 / 2$			
	$(1-r_1)r_2/2$	A1-B2	$r_{1+2}/2$	
	$r_1(1-r_2)/2$			
	$r_1(1-r_2)/2$	A2-B1	$r_{1+2}/2$	
	$(1-r_1)r_2/2$			
	$r_1 r_2 / 2$	A2-B2	$(1-r_{1+2})/2$	
	$(1-r_1)(1-r_2)/2$			

隣接マーカー間の組換え価 r_{1+2} は、 $r_{1+2}=r_1(1-r_2)+r_2(1-r_1)=r_1+r_2-2r_1r_2$ である。これは r_1 と r_2 の組換えが互いに干渉しないとする Haldane モデルに基づいている。

上記の F_1 に品種 1 を戻し交雑した BC_1 (Back cross) では量的形質が分離します。その遺伝子型の分離は、 F_1 配偶子の 8 種類そのままの頻度になります (下図)。観察できる隣接マーカーの遺伝子型は 4 種類で、そのそれぞれについて QTL 遺伝子型は Qq か qq のいずれかになります (それぞれ確率 p_{i1} 、確率 p_{i2} とする)。直接観察できる隣接マーカー遺伝子型の条件の下で、 Qq になるか qq になるかの確率 (条件付き確率) を考えれば、隣接マーカー遺伝子型による QTL 遺伝子型の予測確率を計算できます。条件付き確率は、上図の配偶子の期待頻度を、隣接マーカー遺伝子型の期待頻度で割ると計算できます。

隣接マーカー 遺伝子型によるクラス $i = 1 \sim 4$	隣接マーカー 遺伝子型が i のとき、QTL 遺伝子型が Qq または qq となる条件付き確率	
	p_{i1}	p_{i2}
1: A1A1B1B1	 $r_1 r_2 / (1-r_{1+2})$	 $(1-r_1)(1-r_2) / (1-r_{1+2})$
2: A1A1B1B2	 $r_1(1-r_2) / r_{1+2}$	 $(1-r_1)r_2 / r_{1+2}$
3: A1A2B1B2	 $(1-r_1)(1-r_2) / (1-r_{1+2})$	 $r_1 r_2 / (1-r_{1+2})$
4: A1A2B1B1	 $(1-r_1)r_2 / r_{1+2}$	 $r_1(1-r_2) / r_{1+2}$

仮に、QTL の遺伝子型が判別可能であったとして(BC₁の場合は、Qq か qq の二種類)、遺伝子型と表現型の対応を考えてみます。対立遺伝子 q に対して Q が形質を増加させる効果をもつとし、 μ を親品種間の平均値とした場合、分離集団がとりうる QTL 遺伝子型のそ

1. QQ … $\mu + \alpha$ (相加効果)
2. qq … $\mu - \alpha$ (相加効果)
3. Qq … $\mu + \delta$ (優性効果)

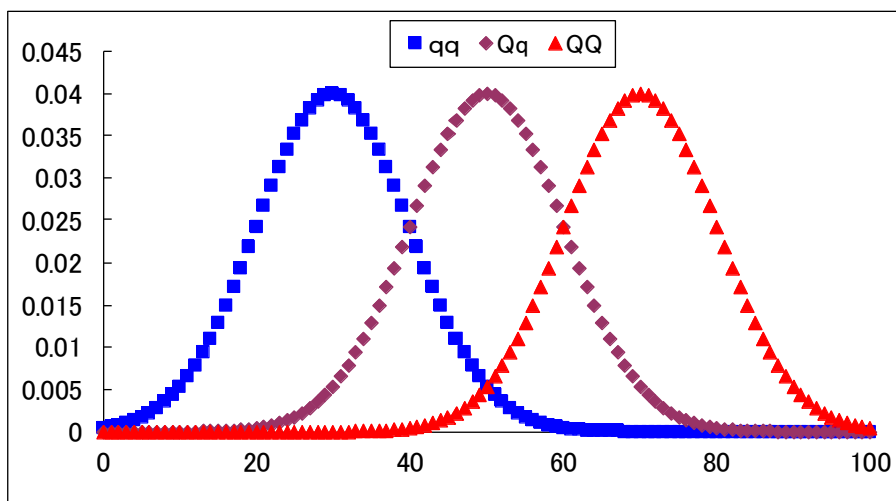
れぞれの平均値を以下のように考えることができます。

どの QTL 遺伝子型に対しても分散(誤差分散)は共通であると仮定します。その場合、或る表現型値 y をとる確率はそれぞれの QTL 遺伝子型に対して 3 種類の正規分布をとるとみなせます。

$$1. \text{ QQ } \cdots \Phi_{\text{QQ}} = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(y-(\mu+\alpha))^2}{2\sigma^2}} \quad \text{つまり、} \mathcal{N}(\mu+\alpha, \sigma^2)$$

$$2. \text{ qq } \cdots \Phi_{\text{qq}} = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(y-(\mu-\alpha))^2}{2\sigma^2}} \quad \text{つまり、} \mathcal{N}(\mu-\alpha, \sigma^2)$$

$$3. \text{ Qq } \cdots \Phi_{\text{Qq}} = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(y-(\mu+\delta))^2}{2\sigma^2}} \quad \text{つまり、} \mathcal{N}(\mu+\delta, \sigma^2)$$



上の図で X 軸は表現型値と対応します。分離集団で 3 つの QTL 遺伝子型は混合して出現するでしょう。ただ、座の効果が大い場合(α が大い場合)は、例えば上図の X 軸で 80 以上の値をとる個体は QQ である確率はほぼ 1 と考えられ、効果が小さいとそのような境は見出しにくくなります。正規分布を仮定することで、QTL 遺伝子型の効果(α と δ 、推定するしかない)と表現型値(観察できる)との間の関係を単純な確率の式に載せることがで

きるということです。

QTL の遺伝子型は現実の解析データ上では不明なままです。調査をして手に入れられる情報は隣接マーカーの遺伝子型のみなので、先の条件付確率を利用します。マーカー遺伝子型が i である (i は 1~4) という条件の下で、或る j 番目の個体の QTL 遺伝子型が Qq または qq である確率 z_{ij1} , z_{ij2} は ($z_{ij1} + z_{ij2} = 1$) は、

$$Qq: \Phi_{ij1} = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(y_{ij} - (\mu + \delta))^2}{2\sigma^2}} \quad qq: \Phi_{ij2} = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(y_{ij} - (\mu - \alpha))^2}{2\sigma^2}} \quad \text{として、}$$

$$\left. \begin{aligned} Qq: Z_{ij1} &= \Phi_{ij1} p_{i1} / (\Phi_{ij1} p_{i1} + \Phi_{ij2} p_{i2}) \\ qq: Z_{ij2} &= \Phi_{ij2} p_{i2} / (\Phi_{ij1} p_{i1} + \Phi_{ij2} p_{i2}) \end{aligned} \right\} \text{式(1)}$$

のように表すことができます。記号が増えて複雑に見えますが、式の意味は単純であることを各自確認しましょう。

4 つの隣接マーカー遺伝子型の別に BC_1 分離集団を仕分けしたとき各分離個体は、

i:隣接マーカー	分離個体	条件付頻度	
		Qq	qq
1: A1A1B1B1	$j = 1, 2, \dots, n_1$	Z_{1j1}	Z_{1j2}
2: A1A1B1B2	$j = 1, 2, \dots, n_2$	Z_{2j1}	Z_{2j2}
3: A1A2B1B2	$j = 1, 2, \dots, n_3$	Z_{3j1}	Z_{3j2}
4: A1A2B1B1	$j = 1, 2, \dots, n_4$	Z_{4j1}	Z_{4j2}
合計	$n_1 + n_2 + n_3 + n_4$		

のようになることを思い出して下さい。隣接マーカークラスの下で QTL 遺伝子型が Qq になる条件付確率 Z_{ij1} , qq になる条件付確率 Z_{ij2} を考えることができます。それぞれの分離個体(合計 $n_1 + n_2 + n_3 + n_4$)は、隣接マーカークラスに応じた条件付頻度で Qq になる確率と qq になる確率を得ます。

個々の分離個体は、観測データである表現型値 y_j を持ちます。QTL 遺伝子型に対する表現型値は正規分布で表せました。隣接マーカーで分類済みの一つの個体について QTL 遺伝子型と表現型に対する尤度は、

$$L(j) \propto (\Phi_{ij1} p_{i1})^{z_{ij1}} (\Phi_{ij2} p_{i2})^{z_{ij2}}$$

と考えられます ($z_{ij1} + z_{ij2} = 1$)。すべての分離個体についての尤度は、個々の尤度の積になるので積和(Π)を利用して、

$$L \propto \prod_{i=1}^4 \prod_{j=1}^{n_i} (\Phi_{ij1} p_{i1})^{z_{ij1}} (\Phi_{ij2} p_{i2})^{z_{ij2}}$$

と書けます。この尤度を最大にするような μ , α , δ , σ^2 の値を求めることで QTL の効果を推定できます。実際の計算は、対数尤度を利用します。

$$\ln(L) = \text{const} + \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} (z_{ij1} \ln p_{i1} + z_{ij2} \ln p_{i2}) - \frac{N}{2} \ln(2\pi\sigma^2) \\ - \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} \left\{ z_{ij1} (y_{ij} - \mu - \delta)^2 / (2\sigma^2) + z_{ij2} (y_{ij} - \mu + \alpha)^2 / (2\sigma^2) \right\}$$

のようになります。各パラメーター(μ , α , δ , σ^2)の偏微分を考えたときそれぞれが0になる値が最尤推定量になります。

$$\frac{\partial \ln(L)}{\partial \mu} = 0, \quad \frac{\partial \ln(L)}{\partial \alpha} = 0, \quad \frac{\partial \ln(L)}{\partial \delta} = 0, \quad \frac{\partial \ln(L)}{\partial \sigma^2} = 0$$

それぞれを書き出すと、

$$\frac{\partial \ln(L)}{\partial \mu} = \frac{1}{\sigma^2} \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} \{ z_{ij1} (y_{ij} - \mu - \delta) + z_{ij2} (y_{ij} - \mu + \alpha) \} \\ = \frac{1}{\sigma^2} \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} \{ (z_{ij1} + z_{ij2}) y_{ij} - (z_{ij1} + z_{ij2}) \mu - z_{ij1} \delta + z_{ij2} \alpha \} \\ N\hat{\mu} + \hat{\delta} \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} z_{ij1} + \hat{\alpha} \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} z_{ij2} = \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} y_{ij}$$

$$\frac{\partial \ln(L)}{\partial \sigma^2} = -\frac{N}{2\sigma^2} - \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} \left\{ z_{ij1} (y_{ij} - \mu - \delta)^2 + z_{ij2} (y_{ij} - \mu + \alpha)^2 \right\} \left(-\frac{1}{2(\sigma^2)^2} \right)$$

$$\hat{\sigma}^2 = -\frac{1}{N} \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} \left\{ z_{ij1} (y_{ij} - \mu - \delta)^2 + z_{ij2} (y_{ij} - \mu + \alpha)^2 \right\} \quad \text{式 2}$$

$$\frac{\partial \ln(L)}{\partial \delta} = \frac{1}{\sigma^2} \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} \{ z_{ij1} (y_{ij} - \mu - \delta) \}$$

$$\hat{\mu} + \hat{\delta} = \left(\sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} z_{ij1} y_{ij} \right) / \left(\sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} z_{ij1} \right) \quad \text{式 3}$$

$$\frac{\partial \ln(L)}{\partial \alpha} = \frac{1}{\sigma^2} \sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} \{ z_{ij2} (y_{ij} - \mu + \alpha) \}$$

$$\hat{\mu} - \hat{\alpha} = \left(\sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} z_{ij2} y_{ij} \right) / \left(\sum_{i=1}^4 \sum_{j=1}^{n_i} z_{ij2} \right) \quad \text{式 4}$$

この際、ある個体の QTL 遺伝子型が Qq なのか qq なのか不明であるため、上の 4 つの等式だけから最適解をみいだすことはできません。そのため、一般的なインターバルマッピングでは EM アルゴリズムという繰り返し計算法によってパラメーターの推定を行います。

EM アルゴリズム (Expectation Step) 最初の推定には、仮の値($\mu + \delta = \mu - \alpha = 0$)を与えます。このとき $\mu^{(0)}$ は分離集団の表現型値 y_i の平均、 $\sigma^{2(0)}$ は y_i の分散になります。

更に $\Phi_{ij1(0)} = \Phi_{ij2(0)} = N(\mu_{(0)}, \sigma^2_{(0)})$ になります。式 1(p7)から $Z_{ij1(0)}, Z_{ij2(0)}$ も計算できます。
(Maximization Step) $Z_{ij1(0)}, Z_{ij2(0)}$ が分かると、式 3,4(p8)から $\mu_{(1)} + \delta_{(1)}$ と $\mu_{(1)} - \alpha_{(1)}$ が計算でき、式 2 から $\sigma^2_{(1)}$ が計算できます。さらに $\Phi_{ij1(1)}, \Phi_{ij2(1)}, Z_{ij1(1)}, Z_{ij2(1)}$ も計算できます。

この二つのステップの反復計算を、 $\mu + \delta, \mu - \alpha, \sigma^2$ の変化が(ほとんど)なくなるまで繰り返します(値が収束するという)。

QTL の検出 EM アルゴリズムで推定したパラメーターの尤度と、QTL が無いと考えるときのパラメーター($\mu + \delta = \mu - \alpha = 0, \mu = \mu_{(0)}, \sigma^2 = \sigma^2_{(0)}$)での尤度の比を LOD スコアとし、LOD スコアが或る閾値を越えたとき QTL が存在するとみなします。

QTL の位置 ところで、隣接マーカーに挟まれた QTL の位置(それが決まると r_1, r_2, r_{1+2} が決まる)は未定でした。インターバルマッピングでは、隣接マーカーの間に QTL があるものとしてパラメーターの推定を行います。つまり、マーカーからマーカーまでをたとえば 2cM ずつに区切り各区切りごとにパラメーターの推定を行うようにすれば、QTL の位置について情報がなくても QTL の検出ができます。

遺伝子型選抜 Selective Genotyping 量的形質は連続分布するため、形質値から遺伝子型を類推するのは困難です。しかし、表現型値の上位個体群と下位個体群の QTL 遺伝子型はそれぞれ上位側対立遺伝子と下位側対立遺伝子に偏る可能性が高いはず(EM アルゴリズムで推定される QTL パラメーターもこの上位個体群および下位個体群の持つ遺伝子型の影響を強く受けます)。既に連鎖地図上の位置付けられている DNA マーカーを使用する場合、表現型値の上位・下位数%の個体のみを選抜して網羅的に DNA マーカー遺伝子型を調査することで、QTL と連鎖するマーカーを効率的に検出できます。

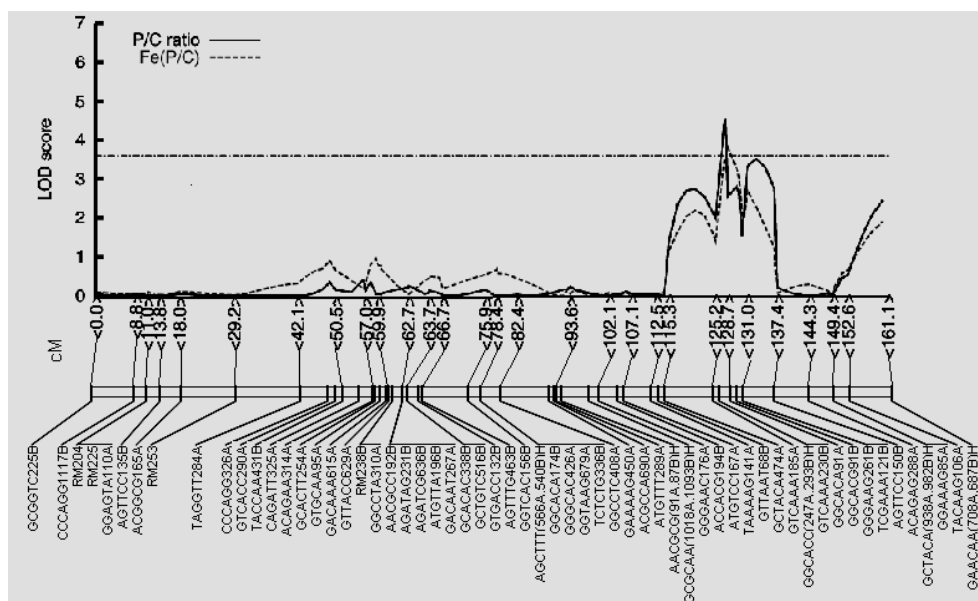
実際の QTL インターバルマッピングが発表されて以降、さまざまな改良や別法が発表されています。計算ソフトウェアとともに発表されている解析方法は便利です。中でもインターバルマッピングを改良した Composite interval mapping⁷は、偏相関によって背景の補正によってより精度の高い解析が可能になっています(QTL Cartographer⁸というソフトを使います)。

次頁の図は QTL 解析例⁹です。X 軸がイネの染色体 6 の連鎖地図を示しています(左端が短腕側で右端が長腕)。Y 軸は LOD スコアです。X 軸と平行な点線は QTL の閾値で、1000 回の permutation テストで計算した LOD スコアの閾値です。つまり点線よりも高い LOD スコアになる領域が、解析対象の形質についての有意な QTL になります。

⁷ Zeng Z. (1994) *Genetics* 196:1457-1468.

⁸ <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/index.php>

⁹ Shimizu et al. (2004) *Theor Appl Genet* 109:1361-1368.



P/C ratio とはリン酸欠乏によって伸長した根の比(P 欠/対照)です。Fe(P/C)は、リン酸欠乏と対照区で育てたイネに過剰鉄処理したあとシュートの鉄含量を測定したその比(P 欠/対照)です。イネの染色体 6 についての QTL スキャンの結果を示しています。

QTL 解析では、形質に関係する遺伝子座を大雑把に把握することしかできないと考えるべきです。LOD スコアのピークが一番 QTL が在りそうな場所を示すわけではありません。というのも、尤度の計算は EM アルゴリズムによるので、隣接マーカーと QTL 推定地点との組換えとの兼ね合いでパラメータを収束させているにすぎないからです。インターバルマッピングの結果をよく見てみると、隣接マーカーのちょうど中間位置が LOD ピークになることが多くあります。これはそれぞれの隣接マーカーから一番遠くに離れているので、EM アルゴリズムにより推定されるパラメータのとりうる値が増えるからです。QTL 解析で絞りこめる範囲は、せいぜい 10cM 程度であると考えの方がよいようです。より精度の高い密な連鎖を調べるためには、該当領域以外の遺伝的背景をそろえて(別の座による)余分な効果を除いた材料をもとに分離集団による連鎖解析をするべきです。

8. 量的形質のクローニング

例えば、日本晴とカサラスの交雑集団の QTL 解析で明らかになった一つの QTL(カサラスの対立遺伝子が優性効果を持つとする)について、その該当領域だけカサラスの遺伝子型を持たせ、それ以外を日本晴の遺伝的背景にそろえた材料をつくったとします。その日本晴カサラス部分置換系統と日本晴を交配した場合、部分置換領域のみの分離集団をつくることができます。この部分的な分離集団を使えば、質的形質の場合と同様の手順でマップベースクローニングが可能ならずです。