クローン牛を用いた実験計画の評価

広 岡 博 之

龍谷大学経済学部, 京都市 612

(1991. 6. 11 受付)

Key words: Cattle, Clone, Experimental design

双子牛を利用した研究は、遺伝的な差異を取り除くことができ、通常の牛を用いるより実験効率が高いという点で古くから注目されてきた^{2,3,6-8)}。しかしながら、双子牛を集めることは容易ではなく、1卵性か2卵性かの判別が不確かであるなどの困難さから、それほど広範に用いられていない。

ところが最近、胚分割と受精卵移植の技術が急速に発展し、1卵性双子やそれ以上の胚分割牛（クローン牛）を人工的に生産できるようになり、さまざまな実験への応用が可能になりつつある（本研究では、以後、胚分割から生産された牛をクローン牛と総称することにした）。しかし、今までクローン牛を用いた実験の計画と分析の方法に関する論議はほとんど行われていない。

そこで本研究では、クローン牛を利用した実験計画とその効率を評価することを目的とした。

クローン牛のデータには、自然の双子データに対するものと同じ分散分析のモデル¹⁾を適用できると考えられる。

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij} \quad (1)$$

ただし、 Y_{ij} は対象とする形質の測定値、 μ は全平均、 α_i は*i*番目のクローングループの効果、 e_{ij} は残差である。

クローングループ間とクローングループ内の分散の期待値 (σ_B^2 および σ_W^2) は、平均平方 (MS_B および MS_W) とクローングループ内の個体数（胚分割の数：*k*）によって次のように計算される。

$$\sigma_B^2 = (MS_B - MS_W)/k \quad (2)$$

$$\sigma_W^2 = MS_W \quad (3)$$

そして級内相関 (*H*) は

$$H = \sigma_B^2 / (\sigma_B^2 + \sigma_W^2) \quad (4)$$

となる。この級内相関はクローンの級内相関と考えられ、また広義の遺伝率と見なすことができる¹⁾。

本研究では、処理区の数 *t*、クローングループの数（ブロック数）を *b*、クローングループ内の個体数を *k* として、その実験計画を (*t*, *k*, *b*) と表す。

まず処理区はないものと仮定する。そうすることにより、クローングループ間とクローングループ内の分散に限って問題を検討することが可能になる。

クローングループ間の偏差平方和 (SS_B) は

$$SS_B = (b-1) MS_B \quad (5)$$

クローングループ内の偏差平方和 (SS_W) は

$$SS_W = b(k-1) MS_W \quad (6)$$

となる。

クローン牛を用いない場合（すなわち無作為に選ばれた牛を用いる完全な無作為計画の場合）には、実験誤差の分散の期待値 (σ_1^2) は、式(5)と(6)の和をその自由度 $bk-1$ で除したもののなので、

$$\sigma_1^2 = \{(b-1) MS_B + b(k-1) MS_W\} / (bk-1) \quad (7)$$

と求められる⁵⁾。一方、クローン牛を用いる場合の実験計画においては、実験誤差の分散の期待値 (σ_2^2) は MS_W に等しい⁵⁾。

$$\sigma_2^2 = MS_W \quad (8)$$

ゆえに、クローン牛を用いない計画に対するクローン牛を用いる計画の相対的な効率 (*E*) は、

$$E = \sigma_1^2 / \sigma_2^2 = \{(b-1) MS_B + b(k-1) MS_W\} / \{(bk-1) MS_W\} \quad (9)$$

Evaluation of the Experimental Design with Clones of Cattle: Hiroyuki HIROOKA (Faculty of Economics, Ryukoku University, Fusimi-ku, Kyoto-shi 612)

となる⁵⁾。式(9)はさらに

$$E = \{(b-1)/(kb-1)\} (MS_B/MS_W) + b(k-1)/(kb-1) \quad (10)$$

と変形できる。

式(10)の (MS_B/MS_W) は、式(2), (3), (4)を用いて、次のようにクローンの級内相関(H)とクローングループ内の個体数(k)で表すことができる。

$$\begin{aligned} MS_B/MS_W &= (k\sigma_B^2 + \sigma_W^2)/\sigma_W^2 \\ &= k(\sigma_B^2/\sigma_W^2) + 1 \\ &= kH/(1-H) + 1 \end{aligned} \quad (11)$$

したがって、式(11)を式(10)に代入すると

$$E = \{(b-1)/(kb-1)\} \{kH/(1-H) + 1\} + b(k-1)/(kb-1) \quad (12)$$

となる。

次に処理区の効果を検討する。処理の数とクローングループ内の個体数が等しい時(すなわち $t=k$)には、完全な乱塊法になるが、処理の数がクローングループ内の個体数より大きい時(すなわち $t>k$)、不完備型計画法を用いなければならない。特に、現在の胚分割の技術水準ではクローングループ内の個体数はせいぜい2あるいは4程度なので、不完備型計画はいまだ重要であると思われる。

不完備型計画を用いると、同一のブロックにすべての処理が含まれていないので、処理間の差とブロック間の差は交絡しており、実験の効率は低くなる。その程度は効率係数(e)を用いて表される⁴⁾。

$$e = (1-1/k)/(1-1/t) \quad (13)$$

なお $k=t$ の時、つまり $e=1$ においては、その計画は完全な乱塊法となる。

以上のことから、クローン牛を用いた計画を完全な無

作為計画で代用しようとする場合に必要な個体の数(N)は

$$\begin{aligned} N &= kbEe \\ &= kb \{ \{(b-1)/(kb-1)\} \{kH/(1-H) + 1\} + b(k-1)/(kb-1) \} \\ &\quad (1-1/k)/(1-1/t) \} \end{aligned} \quad (14)$$

と求められる。

表1は、2分割クローン牛(一卵性双子)および4分割クローン牛を想定した時(すなわち $k=2$ および $k=4$ の時)の釣合い不完備型計画(B. I. B.)と同程度の実験効率を期待する場合に必要な通常の牛の個体数(N)とクローンの級内相関(H)の関係を示したものである。ちなみにこのような条件では、必ずしも釣合い型を仮定する必要はないが、不釣合い型では実験効率が低下し、一般的に受け入れられにくいのでここでは釣合い型の場合に限って考えることにした。

この表によれば、通常の牛の個体数(N)がクローン牛の個体数($b \times k$)より大きい時にクローン牛を実験に用いる価値があると考えられる。例えば、($t=5, k=2, b=10$)の実験計画においてはクローン牛の頭数は20頭なので、クローン牛を用いる価値が生じるのは、対象とする形質の級内相関(H)が0.4を越える時である。さらに、クローンの級内相関が0.6の形質を対象にした場合、この20頭のクローン牛と同じ実験効率を得るには通常の牛が30頭必要であるとわかる。

一般的に言えば、飼養試験などで環境的な要因の効果を目明らかにするためには、その測定形質に関する遺伝的な要因の影響が大きいほど(すなわちHが大きいほど)クローン牛を用いる価値が高まると考えられる。

なお釣合い不完備型計画におけるブロックの割り付け

Table 1. The relationship between intra-clone correlations (H) and number of unrelated animals (N) collected at random to give an equivalent efficiency of balanced incomplete experimental design (B.I.B.) with clones

Intra-clone correlation (H)	Experimental design							
	t	4	5	6	7	5	6	7
	k	2	2	2	2	4	4	4
	b	6	10	15	21	5	15	7
0		8	12	18	24	18	54	24
0.2		9	15	22	30	22	66	29
0.4		12	20	29	40	29	88	39
0.6		18	30	44	60	42	130	57
0.8		37	59	87	120	81	259	111
Number of clones ($b \times k$)		12	20	30	42	20	60	28

や統計分析は廣崎¹¹⁾や吉田⁹⁾に詳しく述べられている。

最後に、自然の双子牛と比べて人工的に生産されたクローン牛を用いる利点として次の点が挙げられる。

- (1) 両親を特定できる
- (2) 双子の種類を判定する必要がある
- (3) 出生時期の揃った牛を利用できる
- (4) 出生後のみならず出生前から研究に供することができる
- (5) 必要な頭数を容易に確保できる
- (6) フリーマーチンの心配がない

以上のようにクローン牛の利用は有利な点が多いが、クローングループ内の個体数が胚分割の技術水準に依存しているという問題点がある。すなわち、胚分割が2分割しかできないならばクローングループ内の個体数は2で自然の1卵性双子の場合と同一である。したがって、クローングループ内の個体数が小さいような条件では、実験計画を工夫して実験の効率を高めることは非常に重要であると推察される。

文 献

- 1) BECKER, W.A., Manual of Quantitative Genetics, 4th ed. 29-36. Academic Enterprises Pullman, Washington. 1984.
- 2) BONNIER, G. and A. HANSSON, Identical twin genetics in cattle. *Heredity*, **2**: 1-27. 1948.
- 3) DICK, I.D. and P. WHIPPLE, Contributions to the statistical design of identical twin experiments. *N. Z. J. Sci. Technol.* **33 B**: 145-172. 1951.
- 4) 廣崎昭太, 応用統計ハンドブック(奥野忠一編). 214-219. 養賢堂. 東京. 1984.
- 5) KEMPTHORNE, O., Design and Analysis of Experiments. 180-183. Wiley. New York. 1952.
- 6) KRESS, D.D., E.R. HAUSER and A.B. CHAPMAN, Genetic-environmental interactions in identical and fraternal twin beef cattle. I. Growth from 7 to 24 months of age. *J. Anim. Sci.*, **33**: 1177-1185. 1971.
- 7) LONGMUIR, J. and B.L. RAKTOE, The design and analysis of twin animal experiments. *Biol. J.*, **21**: 303-331. 1979.
- 8) TAYLOR, ST. C.S., J.H. WATSON and G.B. YOUNG, Variation in efficiency of food utilization in twin calves. I. Individual variation and age trends in efficiency. *J. Agric. Sci.*, **59**: 287-293. 1962.
- 9) 吉田 実, 畜産を中心とする実験計画法. 232-233. 養賢堂. 東京. 1983.