

DNA情報を利用した飛騨牛の育種改良手法の確立に関する 研究(3)

誌名	岐阜県畜産研究所研究報告
ISSN	13469711
著者	小林, 直彦 平野, 貴 加藤, 誠二 星野, 洋一郎 傍島, 英雄 林, 登 大谷, 健 杉本, 喜憲
巻/号	6号
掲載ページ	p. 1-9
発行年月	2006年7月

DNA 情報を利用した飛驒牛の育種改良手法の 確立に関する研究(第3報)

小林 直彦・平野 貴¹⁾・加藤 誠二・星野 洋一郎・傍島 英雄・林 登・大谷 健・杉本喜憲¹⁾

岐阜県畜産研究所 飛驒牛研究部 岐阜県高山市清見町牧ヶ洞 4393-1

¹⁾ 社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所 福島県西白河郡西郷村大字小田倉字小田倉原 1

我々は、黒毛和種の経済形質、特に脂肪交雑に代表される肉質形質を支配する QTL 領域を明らかにするために、岐阜県保有のエリート種雄牛飛驒白清の産子である肥育牛で父方半きょうだい家系を構築、QTL 解析を行った。脂肪交雑に関して 4 箇所の QTL 候補領域を検出した。これらの QTL 候補領域の飛驒白清由来の優良ハプロタイプ Q の保有が脂肪交雑に及ぼす効果について検討した。飛驒白清の産子である肥育牛 353 頭について、種雄牛でヘテロであったマイクロサテライトマーカー(MS)を中心に 254 個のマーカーを全染色体に配置した。それぞれについて DNA 型判定を行い、枝肉形質との QTL 解析を行った。その結果、Chromosome-wise 5%有意水準で検出された 4 箇所の脂肪交雑に関する QTL 候補領域に、さらに飛驒白清でヘテロな MS を配置し、解析頭数を 524 頭に増やして 2 次スクリーニングを行った。4 箇所の QTL 候補領域の父由来ハプロタイプが確定した個体(369 頭)について、これら 4 箇所のハプロタイプの種類と脂肪交雑(BMS No.)について比較した。QTL 候補領域 4 箇所の 2 番染色体(BTA2)と、7 番染色体(BTA7)、20 番染色体(BTA20)、24 番染色体(BTA24)の脂肪交雑に効果のあるハプロタイプ Q を各々 Q_2 、 Q_7 、 Q_{20} 、 Q_{24} とし、効果のないハプロタイプを q_2 、 q_7 、 q_{20} 、 q_{24} とした。効果のあるハプロタイプ Q を全て保有する個体($Q_2Q_7Q_{20}Q_{24}$)は 21 頭でその BMS No. 平均値、標準偏差は 7.24 ± 2.45 、 $Q_2Q_7Q_{20}q_{24}$ が 24 頭で 6.75 ± 2.311 、 $Q_2Q_7q_{20}Q_{24}$ が 21 頭で 6.81 ± 2.23 、 $Q_2Q_7q_{20}q_{24}$ が 24 頭で 6.50 ± 1.96 、 $Q_2q_7Q_{20}Q_{24}$ が 22 頭で 7.12 ± 1.80 、 $Q_2q_7q_{20}q_{24}$ が 25 頭で 7.00 ± 2.37 、 $Q_2q_7q_{20}Q_{24}$ が 28 頭で 6.79 ± 2.13 、 $Q_2q_7q_{20}q_{24}$ が 21 頭で 5.90 ± 2.33 、 $q_2Q_7Q_{20}Q_{24}$ が 18 頭で 7.00 ± 2.23 、 $q_2Q_7q_{20}q_{24}$ が 22 頭で 6.45 ± 2.30 、 $q_2Q_7q_{20}Q_{24}$ が 21 頭で 6.47 ± 1.65 、 $q_2Q_7q_{20}q_{24}$ が 24 頭で 7.00 ± 1.97 、 $q_2q_7Q_{20}Q_{24}$ が 16 頭で 6.88 ± 1.77 、 $q_2q_7Q_{20}q_{24}$ が 29 頭で 5.86 ± 1.83 、 $q_2q_7q_{20}Q_{24}$ が 24 頭で 5.63 ± 2.00 、 $q_2q_7q_{20}q_{24}$ が 29 頭で 5.52 ± 1.75 であった。各タイプの BMS No. 平均値の分散分析を行い、差の検定を F 検定で行った。各タイプの BMS No. 平均値には、 $Q_2Q_7Q_{20}Q_{24}$ と $q_2q_7q_{20}q_{24}$ に有意差 ($p < 0.01$) がみられた。以上の結果から、脂肪交雑に効果のある 4 箇所の QTL 候補領域のハプロタイプ Q は、相加的効果を持つことが示唆された。これら 4 箇所の QTL 候補領域の優良ハプロタイプによりウシの選抜を行えば、効率的な脂肪交雑能力の改良が期待できる。今後これらの QTL 候補領域の効果検証を実施する予定である。

キーワード(脂肪交雑、DNA 情報、マイクロサテライトマーカー、QTL 解析)

緒言

黒毛和種の経済形質(特に枝肉形質)は、表現型値が連続的に分布することから、多数の遺伝子座が関与すると同時に、環境の影響を強く受けるために、量的形質の発現制御の解明は、単一遺伝子座に支配されている質的形質(遺伝性疾患など)に比べ、多くの困難を伴っている。量的形質の発現を制御する多数の遺伝子座を量的遺伝形質座(QTL)と呼び、異なる大きさの効果を持つ複数の QTL が、単独で、または相互作用を持ちながら、量的形質に関与していると考えられている²⁴⁾。

これらの QTL を検出し、染色体上の位置や、表現型値に及ぼす効果、その遺伝様式及びエピスタシ効果等を明らかにすることが、量的遺伝形質の遺伝的解剖であり、QTL の責任遺伝子解明に繋がるものと考えられている²⁴⁾。

家畜の QTL は、統計遺伝学や集団遺伝学の手法により、大きな成果を上げてきた。特に肥育牛のフィールドデータの蓄積による育種価評価システムは、黒毛和種や褐毛和種の改良に大きく貢献してきた²⁵⁾。しかし、育種改良の指標となる表現型値の測定には、多大なコストや時間を要し、さらに表現

型値の測定が困難な形質では、従来の統計学的手法での育種改良が難しいことが指摘されている²⁴⁾。多様な育種改良目標に対応するための新たな育種改良手法の確立が求められている。近年のゲノム研究の進展により、ウシにおいても、DNA多型マーカーによる連鎖地図が充実し^{1,11,12)}、DNAマーカーと経済形質に関する染色体領域や遺伝子座(量的遺伝形質座:QTL)との連鎖解析が可能となった。Landerら¹⁶⁾は、染色体上の位置の判明したマーカーに挟まれた領域において、形質に関する遺伝子の存在の有無を判定する方法としてインターバルマッピング法を提示した。これらのDNA情報を利用した育種改良手法、DNA育種手法により、育種改良目標に合致した優良遺伝子を保有する個体の選抜が可能となりつつある。

乳用牛においては、連鎖解析の手法から、乳脂肪含量と関連するQTL領域を特定し⁵⁾、その領域から、ポジショナルクローニング法により責任遺伝子が同定された⁶⁾。肉用牛においては、肉質についてのQTLマッピング報告があり^{4,7,17,28)}、特に黒毛和種では、脂肪交雑、枝肉重量についての報告がある^{1,8,10,13,14,15,18,19,20,21,22,23,26,27)}。

我々は、黒毛和種の経済形質を支配するQTL領域を明らかにするために、岐阜県保有のエリート種雄牛産子で父方半きょうだい家系を構築し、QTL解析を行っている^{13,14,15)}。エリート種雄牛家系(飛驒白清)で、脂肪交雑に関して4箇所のQTL候補領域が検出された。これらのQTL候補領域の飛驒白清由来の優良染色体領域:ハプロタイプ(Q)の有無が、脂肪交雑に及ぼす効果について検討した。

方法

岐阜県有種雄牛である、エリート種雄牛 飛驒白清の産子である肥育牛について(1次スクリーニング:353頭、2次スクリーニング:524頭)、と畜時に血液または腎臓周囲脂肪を採取し、DNAサンプルとした。DNA抽出は、血液からはNucleo Spin Blood(MN)を、腎臓周囲脂肪からはNucleo Spin Food(MN)を用いて調整した。飛驒白清でヘテロであったMSを中心に254個のMSを全染色体に配置し、飛驒白清の産子353頭で1次スクリーニングを行った。それぞれのMSについてDNA型判定を行い⁹⁾、DNAシーケンサー(ABI 377XL)を用いて電気泳動を行い、GENESCAN672(ABI)とGENOTYPER(ABI)によりMSの型判定を実施した。QTL解析は、日本格付協会による枝肉格付成績とMSの多型とを、子個体が染色体上の任意の点において、種雄牛の染色体Qを伝達された確率を表現型値に対し線形回帰を行うことでQTLの有無を検定した(QTL解析ソフトは社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所作成:未発表)。その結果、脂肪交雑に関してChromosome-wise

5%有意水準でQTL候補領域として検出されたBTA2、BTA7、BTA20、BTA24の4箇所とのQTL候補領域に、さらに89個のマイクロサテライトマーカーを配置し、解析頭数を524頭に増やして2次スクリーニングを行い、QTL解析を行った。さらに、4箇所のQTL候補領域のハプロタイプ保有状況により、16タイプに分類し、それぞれのBMS No.の平均の分散分析を行い、BMS No.平均値の差の検定をF検定で行った。

結果及び考察

エリート種雄牛飛驒白清家系の枝肉形質に関する、QTL解析(1次スクリーニング)により、Chromosome-wise 5%レベルで、BTA2、BTA7、BTA20とBTA24の4箇所の染色体領域にQTL候補領域を同定した(図1)。

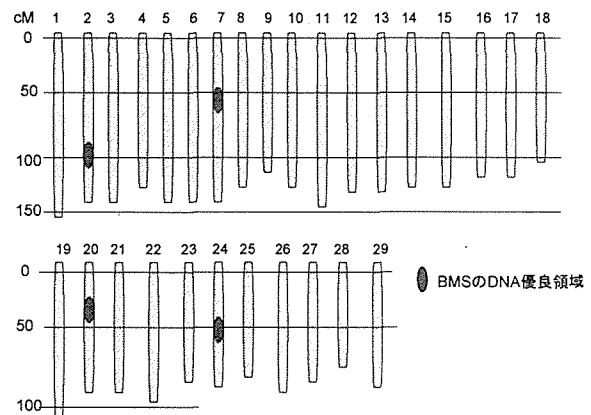


図1 飛驒白清家系で検出された脂肪交雑に関するQTL候補領域(1次スクリーニング)

1次スクリーニングのQTL解析により、BTA2の92cM付近にChromosome-wise 1%有意水準で、F値11.89、BMS No.に対するハプロタイプ置換効果が0.81のQTL候補領域を、BTA7の94cM付近にChromosome-wise 5%有意水準で、F値9.19、BMS No.に対するハプロタイプ置換効果が0.86のQTL候補領域を、BTA20の28cM付近にChromosome-wise 5%有意水準で、F値6.59、BMS No.に対するハプロタイプ置換効果が0.67のQTL候補領域を、BTA24の22cM付近にChromosome-wise 5%有意水準で、F値5.60、BMS No.に対するハプロタイプ置換効果が0.59のQTL候補領域を検出した。

1次スクリーニングのQTL解析結果より、脂肪交雑のQTL候補領域を検出した領域について、BTA2で32個、BTA7で25個、BTA20で19個、BTA24で13個のMSを用いて、解析頭数を524頭に増やし、2次スクリーニングのQTL解析を行った結果を図2、3、4、5に示した。

Takasuga¹²⁾らは、黒毛和種の半きょうだい家系で発育や枝肉形質のQTL解析により、多くのQTL領域をマッピングしている。脂肪交雑に影響するQTL領域を7箇所報告している。我々もChromosome-wise 5%水準で4箇所の脂肪交

雑に影響する QTL 候補領域を検出した。

我々が QTL 領域として検出した BTA2 は、Grosz ら⁷⁾も発育に関する QTL として報告している。さらに BTA20 では、Blott ら⁷⁾は乳牛の牛乳生産性の QTL として報告しており、その領域に存在する成長ホルモンレセプター遺伝子を責任遺伝子の候補として報告している。我々がマップした QTL 領域から経済形質に関する責任遺伝子がクローニングされる可能性があり、責任遺伝子の多型と経済形質との相関を明らかにすることで、さらに精度の高い DNA 情報による育種手法の確立が可能となる。

表 1 飛騨白清家系 2次スクリーニング QTL 解析結果

BTA	頭数	マーカー数	IC	cM	F 値	効果	寄与率	有意水準
2	524	32	0.96	96	11.81	0.58	0.020	0.01
7	524	25	0.88	74	9.13	0.60	0.015	0.05
20	524	19	0.85	32	7.75	0.55	0.013	0.05
24	524	13	0.81	78	6.71	0.35	0.011	0.05

BTA2 の 2 次スクリーニング QTL 解析結果を表 1 に示した。BTA2 の 96cM に Chromosome-wise 1%有意水準で、IC (Information Contents)0.96、F 値 11.89、BMS No.に対するハプロタイプ効果が 0.58、寄与率(解析の対象とした集団の全分散に対する寄与率)は 0.020 であった。

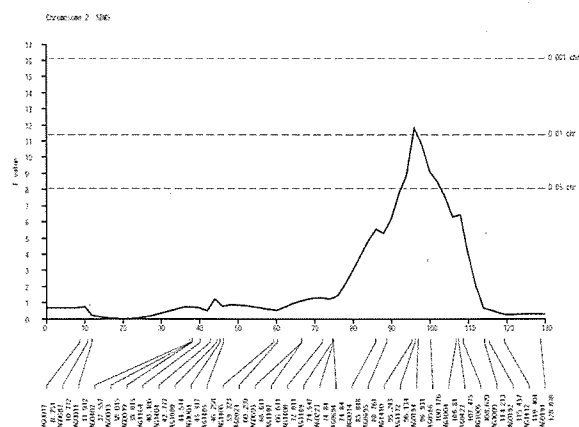


図 2 BTA2 に検出された脂肪交雑に関連する QTL 候補領域(2次スクリーニング)

BTA7 の 2 次スクリーニング QTL 解析結果は、BTA7 の 74cM に Chromosome-wise 5%有意水準で、IC 0.88、F 値 9.13、

BMS No.に対するハプロタイプ効果が 0.60、寄与率 0.015 であった。

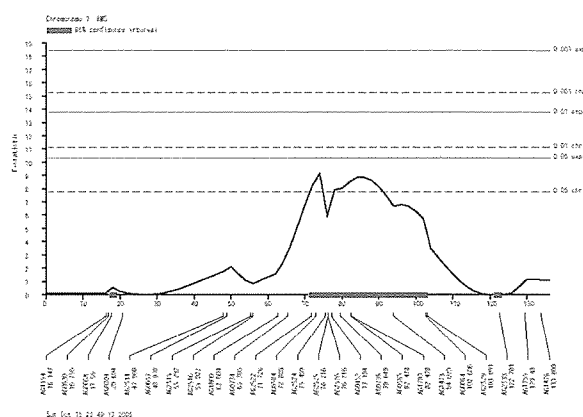


図 3 BTA7 に検出された脂肪交雑に関連する QTL 候補領域(2次スクリーニング)

BTA20 の 2 次スクリーニング QTL 解析結果は、BTA20 の 32cM に Chromosome-wise 5%有意水準で、IC 0.85、F 値 7.75、BMS No.に対するハプロタイプ効果が 0.55、寄与率 0.013 であった。

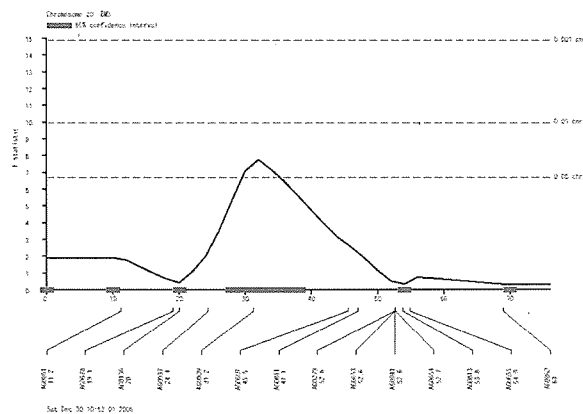


図 4 BTA20 に検出された脂肪交雑に関連する QTL 候補領域(2次スクリーニング)

BTA24 の 2 次スクリーニング QTL 解析結果は、BTA24 の 78cM に Chromosome-wise 5%有意水準で、IC 0.81、F 値 6.71、BMS No.に対するハプロタイプ効果が 0.35、寄与率 0.011 で

あった。

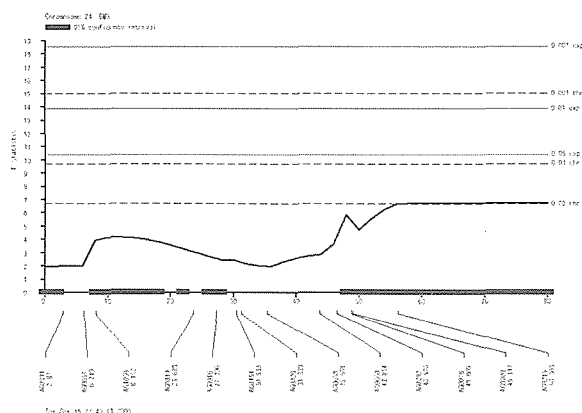


図 5 BTA24 に検出された脂肪交雑に関連する QTL 候補領域(2次クリーニング)

2次スクリーニングの QTL 解析結果から推定された4箇所の脂肪交雑の QTL 候補領域において、F 値が最も高い領域(2cM)の、種雄牛飛驒白清が保有する優良ハプロタイプ(Q)と一方のハプロタイプ(q)について、産子へ受け継がれたハプロタイプ毎の BMS No.の平均を表 2 に示した。

表 2 ハプロタイプ別の BMS No.

BTA	ハプロタイプ	頭数	BMS No.
2	Q	250	6.82 ± 2.23 a
	q	264	6.25 ± 2.03 b
7	Q	266	6.79 ± 2.09 c
	q	256	6.14 ± 2.14 d
20	Q	227	6.79 ± 2.19 e
	q	261	6.28 ± 2.08 f
24	Q	222	6.83 ± 2.16 g
	q	284	6.29 ± 2.12 h

a-b, c-d, e-f, g-h p < 0.01

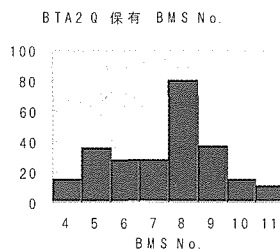


図 6 BTA2 の Q ハプロタイプ保有牛 BMS No.の分布

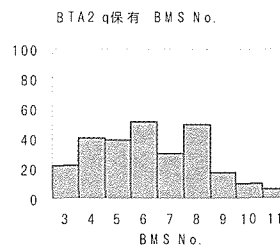


図 7 BTA2 の q ハプロタイプ保有牛 BMS No.の分布

BTA2 の Q 保有牛(250 頭)の平均 BMS No.は 6.82 ± 2.23、q 保有牛(264 頭)では 6.25 ± 2.03、Q は BMS No.を 0.57 有意に上昇させる効果が見られた (p < 0.01)。

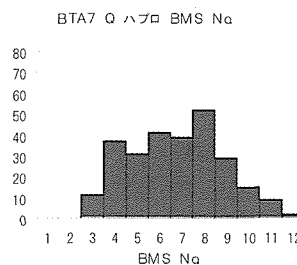


図 8 BTA7 の Q ハプロタイプ保有牛 BMS No.の分布

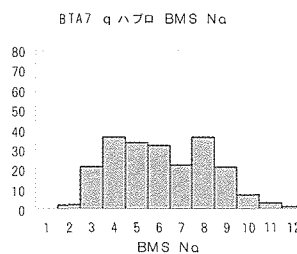


図 9 BTA7 の q ハプロタイプ保有牛 BMS No.の分布

BTA7 の Q 保有牛(266 頭)の平均 BMS No.は 6.78 ± 2.09、q 保有牛(214 頭)では 6.14 ± 2.14、Q は BMS No.を 0.64 有意に上昇させる効果が見られた (p < 0.01)。

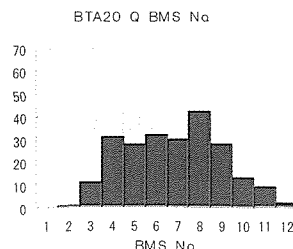


図 10 BTA20 の Q ハプロタイプ保有牛 BMS No.の分布

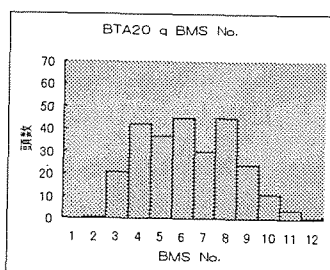


図 1-1 BTA20 の q ハプロタイプ保有牛 BMS No. の分布

BTA20 の Q 保有牛(227 頭)の平均 BMS No. は 6.79 ± 2.19 、q 保有牛(261 頭)では 6.28 ± 2.08 、Q は BMS No. を 0.51 有意に上昇させる効果が見られた ($p < 0.01$)。

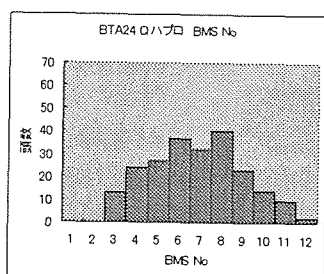


図 1-2 BTA24 の Q ハプロタイプ保有牛 BMS No. の分布

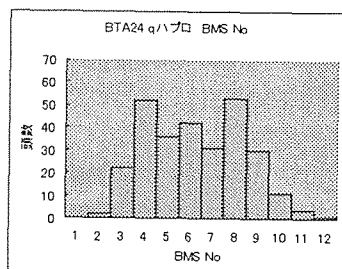


図 1-3 BTA24 の q ハプロタイプ保有牛 BMS No. の分布

BTA24 の Q 保有牛(222 頭)の平均 BMS No. は 6.83 ± 2.16 、q 保有牛(284 頭)では 6.29 ± 2.12 、Q は BMS No. を 0.54 有意に上昇させる効果が見られた ($p < 0.01$)。

BTA2, BTA7, BTA20, BTA24 の優良ハプロタイプ Q は、BMS No. をそれぞれ、0.58、0.640、0.51、0.54 有意に上昇させる効果があった。Takasuga ら²⁶⁾、Mizoguchi ら¹²⁾、Mizochita ら¹²⁾、溝下ら^{11,12)}、原田ら¹²⁾、古川ら¹²⁾、安部ら¹²⁾ は、黒毛和種の特定の父方半きょうだい家系において、脂肪交雑や、枝肉重量に効果を持つ QTL 領域をマッピングしている。溝下ら^{11,12)}、原田ら¹²⁾、安部ら¹²⁾ は、脂肪交雑や枝肉重量の QTL 領域を BTA14 にマッピングしている。これらの QTL は同一かどうかの検討は行われていないが、今後この領域から QTL の責任遺伝子がクローニングされるかもしれない。

Takasuga ら²⁶⁾ は黒毛和種の大規模家系の QTL 解析で 40 カ所の QTL 領域を報告しており、黒毛和種の品種内には多数の QTL 領域が存在するものと考えられる。

さらに量的形質は、複数の QTL により支配されている形質と考えられている。今回推定された 4 箇所の QTL 候補領域の相互作用について検討した。種雄牛飛騨白清由来の優良ハプロタイプ Q の組み合わせで、16 通りにタイプ分けした。それぞれのタイプの BMS No. について、平均値及び標準偏差を示し、分散分析を行い、各タイプの平均値の差の検定を F 検定で行った。

表 3 各ハプロタイプ保有状況と脂肪交雑との関連

タイプ	頭数	BMS No.
a : $Q_2 Q_7 Q_{20} Q_{24}$	21	7.24 ± 2.45
b : $Q_2 Q_7 Q_{20} q_{24}$	24	6.75 ± 2.31
c : $Q_2 Q_7 q_{20} Q_{24}$	21	6.81 ± 2.23
d : $Q_2 Q_7 q_{20} q_{24}$	24	6.50 ± 1.96
e : $Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$	22	7.18 ± 1.80
f : $Q_2 q_7 Q_{20} q_{24}$	25	6.92 ± 2.38
g : $Q_2 q_7 q_{20} Q_{24}$	28	6.79 ± 2.13
h : $Q_2 q_7 q_{20} q_{24}$	21	5.90 ± 2.33
i : $q_2 Q_7 Q_{20} Q_{24}$	18	7.00 ± 2.23
j : $q_2 Q_7 Q_{20} q_{24}$	22	6.45 ± 2.30
k : $q_2 Q_7 q_{20} q_{24}$	21	6.48 ± 1.65
l : $q_2 Q_7 q_{20} Q_{24}$	23	7.00 ± 1.98
m : $q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$	16	6.88 ± 1.77
n : $q_2 q_7 Q_{20} q_{24}$	29	5.86 ± 1.83
o : $q_2 q_7 q_{20} Q_{24}$	24	5.63 ± 2.00
p : $q_2 q_7 q_{20} q_{24}$	29	5.52 ± 1.75

4 箇所の QTL 候補領域の父由来ハプロタイプが確定した個体(369 頭)について、これら 2 カ所のハプロタイプの種類と BMS No. について比較した。効果のあるハプロタイプ Q を全て保有する個体 a タイプ ($Q_2 Q_7 Q_{20} Q_{24}$) は 21 頭でその BMS No. 平均値、標準偏差は 7.24 ± 2.45 、b タイプ ($Q_2 Q_7 Q_{20} q_{24}$) が 24 頭で 6.75 ± 2.31 、c タイプ: $Q_2 Q_7 q_{20} Q_{24}$ が 21 頭で 6.81 ± 2.23 、d タイプ: $Q_2 Q_7 q_{20} q_{24}$ が 24 頭で 6.50 ± 1.96 、e タイプ: $Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$ が 22 頭で 7.12 ± 1.80 、f タイプ: $Q_2 q_7 Q_{20} q_{24}$ が 25 頭で 7.00 ± 2.37 、g タイプ: $Q_2 q_7 q_{20} Q_{24}$ が 28 頭で 6.79 ± 2.13 、h タイプ: $Q_2 q_7 q_{20} q_{24}$ が 21 頭で 5.90 ± 2.33 、i タイプ:

$q_2Q_7Q_{20}Q_{24}$ が18頭で 7.00 ± 2.23 、jタイプ: $q_2Q_7Q_{20}Q_{24}$ が22頭で 6.45 ± 2.30 、kタイプ: $q_2Q_7q_{20}Q_{24}$ が21頭で 6.47 ± 1.65 、lタイプ: $q_2Q_7q_{20}q_{24}$ が24頭で 7.00 ± 1.97 、mタイプ: $q_2q_7Q_{20}Q_{24}$ が16頭で 6.88 ± 1.77 、nタイプ: $q_2q_7Q_{20}q_{24}$ が29頭で 5.86 ± 1.83 、oタイプ: $q_2q_7q_{20}Q_{24}$ が24頭で 5.63 ± 2.00 、pタイプ: $q_2q_7q_{20}q_{24}$ が29頭で 5.52 ± 1.75 であった。各タイプのBMS No.平均値の分散分析を行い、差の検定をF検定で行った。

表4 各タイプ間の平均値の差検定成績

危険率	平均値に有意差が見られたタイプ間
$p < 0.01$	a-p, e-o, e-p, l-p
$p < 0.05$	a-n, a-o, b-p, c-p, e-n, f-o, f-p, g-o, g-p i-o, i-p, l-n, l-o, m-o, m-p

各タイプのBMS No.平均値には、a-とpタイプ、eとoタイプ、eとpタイプ、lとpタイプに有意差($p < 0.01$)がみられた。以上の結果から、脂肪交雑に効果のある4箇所(QTL候補領域)のハプロタイプQは、相加的効果を持つことが示唆された。安部ら¹⁾、溝下ら^{19,20)}、原田ら⁸⁾、溝口ら¹⁸⁾は、黒毛和種の経済形質の複数のQTL領域に、相加的な相互効

作用があることを報告している。我々が推定したQTL候補領域にも、これらの報告と同様な相互作用が観察された。量的形質を支配する複数のQTLは、それぞれの効果の大きさが異なり、また相互作用を持ちながら、量的形質に複雑に影響していると考えられている²⁴⁾。量的形質に関係する全てのQTLを検出し、それらの相互作用を明らかにすることは現時点では困難であるが、本研究のように、父方半きょうだい家系を構築し、DNAマーカーと表現型値のQTL解析法により、効果の大きなQTLを検出し、QTL間の相互作用解明の可能性が示唆された。

脂肪交雑能力は、黒毛和種の重要な経済形質であり、脂肪交雑の遺伝的能力の高い種畜の選抜が重要である。今後は、DNA情報を利用した育種改良手法確立のために、本研究で明らかになった、脂肪交雑のQTL候補領域のDNAマーカーによる、マーカーアシスト選抜を行うとともに、このQTL候補領域の更なるファインマッピングのために、解析頭数や型判定するDNAマーカー数を増やすとともに、詳細な連鎖地図の作成や、表現型値の補正を含めた、QTL解析法の検討が必要である。

最終的には、QTL領域から責任遺伝子をクローニングし、表現型値のバラツキに關与する責任遺伝子の変異を明らかにすることで、正確で簡便なDNA情報を利用した育種改良手法が確立するものと考えられる。

文 献

- 1) 安部 亜津子、渡邊 敏夫、杉本 喜憲、長谷川 清寿、佐々木 恵美、高仁 敏光 (2005). 黒毛和種幹種雄牛における脂肪交雑に関するQTL領域の検索. 島根県立畜産試験場研究報告. **38**, 9-13.
- 2) Barendse W., Vaiman D., Kemp S.J., Sugimoto Y., Armitage S.M., Williams J.L., Sun H.S., Eggen A., Agaba M., Aleyasin S.A., Band M., Bishop M.D., Buitkamp K., Byrne K., Collins F., Copper L., Coppettiers W., Denys B., Drinkwater R.D., Easterday K., Elduque C., Ennis S., Erhardt G., Ferretti L., Flavin N., Gao Q., Georges M., Gurung R., Harlizius B., Hawkins G., Hetzel J., Hirano T., Hulme D., Jorgense C., Kessler M., Kirkpatrick B.W., Konfortov B., Kostia S., Kuhn C., Lenstra J.A., Leveziel H., Lewin H.A., Leyhe B., Lil L., Martin Burriel I., McGraw R.A., Miller J.R., Moody D.E., Moore S.S., Nakane S., Nijman I.J., Olsaker I., Pomp D., Rando A., Ron A., Shalom A., Teale A.J., Thieven U., Urquhart B.G.D., Vage D.I., Van de Weghe A., Varvio S., Velmala R., Vilkki J., Weikard R., Woodside C., Womack J.E., Zanotti M., Zaragoza P., (1997) A medium-density genetic linkage map of the bovine genome. *Mammalian Genome*. **8**, 21-28.
- 3) Blott S., Kim J.J., Moisio S., Schmidt-Kuntzel A., Cornet A., Berzi P., Cambisano N., Ford C., Grisart B., Johnson D., Karim L., Simon P., Snell R., Spelman R., Wong J., Vilkki J., Georges M., Farnir F., Coppieters W. (2002). Molecular Dissection of a Quantitative Trait Locus : A Phenylalanine-to-Tyrosine Substitution in the Transmembrane Domain of the Bovine Growth Hormone Receptor Is Associated with a Major Effect on Milk Yield and Composition. *Genetics*, **163**, 253-266.
- 4) Casas E., Keele J.W., Shackelford S.D., Koohmaraie M., Stone R.T. (2003) Identification of quantitative trait loci for growth and

- carcass composition in cattle. *Animal Genetics*. **35**,2-6.
- 5) Farnir J., Grisart B., Coppieters W., Riquet J., Berzi P., Cambisano N., Karim L., Mni M., Simon P., Wagenaar D., et al. (2002) Simultaneous mining of linkage and LD to fine-map QTL in outbred half-sib pedigrees: Revisiting the location of a QTL with major effect on milk production on bovine chromosome 14. *Genetics*. **161**, 275-287.
 - 6) Grisart B., Coppieters W., Farnir F., Karim L., Ford C., Berzi P., Cambisano N., Mni M., Reid S., Simon P., Spelman R., Georges M., Snell R. (2001) Positional Candidate Cloning of a QTL in Dairy Cattle: Identification of a Missense Mutation in the Bovine *DGAT1* Gene with Major Effect on Milk Yield and Composition. *Genome Research*. **12**, 222-231.
 - 7) Grosz M.D., MacNeil M.D. (2001) Putative quantitative trait locus affecting birth weight on bovine chromosome 2. *Journal of Animal Science*. **79**, 68-72.
 - 8) 原田佳積、井原 尚也、原 一夫、田澤 直子、今井 昭、松重 忠美、奥田稔、杉本 喜憲。(2000) 広島牛における脂肪交雑形質遺伝子座領域について。日本畜産学会第 98 回大会講演要旨 :81.
 - 9) Hirano T., Nakane S., Mizoshita K., Yamakuchi H., Inoue-Murayama M., Watanabe T., Barendse W., Sugimoto Y. (1996) Characterization of 42 highly polymorphic bovine microsatellite markers. *Animal Genetics*. **27**, 365-368.
 - 10) 平野貴、井上和也、原好宏、原一夫、竹内真弓、児玉州男、中原高士、浜口定男、杉本喜憲。(2002) 黒毛和種の QTL 解析。日本畜産学会第 100 回大会講演要旨:107.
 - 11) Ihara N., Takasuga A., Mizoshita K., Takeda H., Sugimoto M., Mizoguchi Y., Hirano T., Itoh T., Watanabe T., Reed K.M., Snelling W.M., Kappes S.K., Beattie C.W., Bennett G.L., Sugimoto Y. (2004) A comprehensive genetic map of the cattle genome based on 3,802 microsatellites. *Genome Research*. **14**,1987-1998.
 - 12) Kappes S.M., Keel J.W., Stone R.T., McGraw R.A., Sonstegard T.S., Smith T.P.L., Lopez-Corrales N.L., Beattie C.W. (1997) A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Research*. **7**, 235-249.
 - 13) 小林直彦、平野貴、杉本喜憲。(2003) 黒毛和種の父方半きょうだい家系における QTL 解析。日本畜産学会第 101 回大会講演要旨:194.
 - 14) 小林直彦、平野貴、加藤誠二、傍島英雄、林登、平尾一平、大谷健、杉本喜憲。(2003) DNA 情報を利用した飛驒牛の育種改良手法の確立に関する研究(第 1 報)。岐阜県畜産研究所研究報告. **43**, 22-26.
 - 15) 小林直彦、平野貴、加藤誠二、傍島英雄、林登、平尾一平、大谷健、杉本喜憲。(2004) DNA 情報を利用した飛驒牛の育種改良手法の確立に関する研究(第 2 報)。岐阜県畜産研究所研究報告. **4**, 19-24.
 - 16) Lander E.S., Boststein D. (1989). Mapping mendelian factor underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*. **121**, 185-199.
 - 17) MacNeil MD., and Grsz MD. (2002) Genome-wide scans for QTL affecting carcass traits in Hereford × composite double backcross populations. *Journal of Animal Science*, **80**, 2316-2324.

- 18) 溝口康、岩本英治、杉本喜憲. (2003) 黒毛和種における脂肪交雑連鎖領域の BAC コンテグの作成. 日本畜産学会第 101 回大会講演要旨:113.
- 19) 溝下和則、西浩二、林史弘、窪田力、山口浩、杉本喜憲、轟木淳一. (2002) 牛の発育及び肉質に関する遺伝子の探索 (第 4 報)、鹿児島県肉用牛改良研究所報告. 7, 23-25.
- 20) 溝下和則、西浩二、林史弘、窪田力、山口浩、杉本喜憲、轟木淳一. (2003) 牛の発育及び肉質に関する遺伝子の探索 (第 5 報)、鹿児島県肉用牛改良研究所報告. 8, 9-11.
- 21) Mizoshita K., Watanabe T., Hayashi H., Kubota C., Yamakuchi H., Todoroki J., Sugimoto Y. (2004) Quantitative loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle. *Journal of Animal Science*. 82, 3415-3420.
- 22) Mizoshita K., Takano A., Watanabe T., Takasuga A., Sugimoto Y. (2005) Identification of a 1.1-Mb region for a carcass weight QTL on bovine Chromosome 14. *Mammalian genome*. 16, 532-537.
- 23) 小邦朋子、成田暁、井原尚也、松本道夫、杉本喜憲、佐々木義之. (2003) ハーフシブデザイン家系を用いた QTL 解析における環境要因補正の効果. 日本畜産学会第 101 回大会講演要旨 :112.
- 24) 佐々木義之. (2000) 家畜ゲノム解析と新たな家畜育種戦略. 動物遺伝育種シンポジウム組織委員会(編). 社団法人畜産技術協会. 東京.
- 25) Sasaki Y., Miyake T., Gaillard C., Oguni T., Matsumoto M., Ito M., Kurahara T., Sasae Y., Fujinaka K., Ohtagaki S., Dougo T. (2006) Comparison of genetic gains per year for carcass traits among breeding program the Japanese Brown and the Japanese Black cattle. *Journal of Animal Science*. 84,317-323.
- 26) Takasuga A., Watanabe T., Mizoguchi Y., Hirano T., Ihara N., Takano A., Yokouchi K., Fujikawa A., Chiba K., Kobayashi N., Tatsuda K., Oe T., Furukawa-Kuroiwa M., Nishimura-Abe A., Fujita T., Inoue K., Mizoshita K., Ogino A., Sugimoto Y. Identification of bovine QTL for growth and carcass traits in Japanese Black cattle by replication and identical-by-descent mapping. (in press)
- 27) 古川 恵、平本 圭二 (2004) DNA マーカーを指標とした牛の育種手法の開発に関する研究(第 1 報). 岡山県総合畜産センター研究報告 15, 34-38.
- 28) Taylor JF., Coutinho LL., Herring KL., Gallagher DS., Brenneman RA., Burney N., Sanders JO., Turner JW., Smith SB., Miller RK., Savell JW., Davis SK. (1998) Candidate gene analysis of *GHI* for effect on growth and carcass composition of cattle. *Genetics*. 29, 194-201.

Improvement of Japanese Black cattle, Hida-gyu, using DNA information (3rd. reports)

Naohiko KOBAYASHI•Takashi HIRANO¹⁾•Seiji KATOH•Yoichiro Hoshino•Hideo SOBAJIMA•
Noboru HAYASHI•Tsuyoshi OHTANI•Yoshikazu SUGIMOTO¹⁾

Gifu Prefectural Livestock Research Institute Hida Beef Cattle Department, Kiyomi, Gifu, Japan.

1) Shirakawa Institute of Animal Genetics, Nishigo, Fukushima, Japan.

The object of this study was to detect QTL affecting economic traits, especially meat quality which is defined of marbling, in purebred Wagyu population. We performed a genome-wide scan with 254 markers covering autosomes across 353 offspring of a paternal half-sib family of an elite bull. Hidasirakiyo. As a result, a significant QTL for marbling was detected on BTA 2, BTA7, BTA20, and BTA24 (Chromosome-wise: $P < 0.05$). To determine QTL for marbling, 524 offspring were genotyped for 52 microsatellite markers flanking the significant QTL regions on BTA 2, 7, 20 and 24. The locus (Chromosome-wise: $P < 0.05$) was found to be located at 96 cM on BTA 2, at 74 cM on BTA7, at 32 cM on BTA20, and at 50 cM on BTA24. 369 offspring, had been haplotypes for the four QTL for marbling on BTA2, BTA7, BTA20 and 24, and had expressed them as $Q_2 Q_7 Q_{20} Q_{24}$ and Q_{24} for stronger ones and $q_2 q_7 q_{20} q_{24}$ and q_{24} for the others, were divided into 16 different haplotypes. Average marbling score (\pm S.D.) were $7.24 \pm 2.45 (Q_2 Q_7 Q_{20} Q_{24})$, $6.75 \pm 2.31 (Q_2 Q_7 Q_{20} q_{24})$, $6.81 \pm 2.23 (Q_2 Q_7 q_{20} Q_{24})$, $6.50 \pm 1.96 (Q_2 Q_7 q_{20} q_{24})$, $7.18 \pm 1.80 (Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24})$, $6.92 \pm 2.38 (Q_2 q_7 Q_{20} q_{24})$, $6.79 \pm 2.13 (Q_2 q_7 q_{20} Q_{24})$, $5.90 \pm 2.33 (Q_2 q_7 q_{20} q_{24})$, $7.00 \pm 2.23 (q_2 Q_7 Q_{20} Q_{24})$, $6.45 \pm 2.30 (q_2 Q_7 Q_{20} q_{24})$, $6.48 \pm 1.65 (q_2 q_7 Q_{20} q_{24})$, $7.00 \pm 1.98 (q_2 Q_7 q_{20} q_{24})$, $6.88 \pm 1.77 (q_2 q_7 Q_{20} Q_{24})$, $5.86 \pm 1.83 (q_2 q_7 Q_{20} q_{24})$, $5.63 \pm 2.00 (q_2 q_7 q_{20} Q_{24})$, $5.52 \pm 1.75 (q_2 q_7 q_{20} q_{24})$, respectively. Significant differences ($P < 0.01$) were detected between $Q_2 Q_7 Q_{20} Q_{24}$ and $q_2 q_7 q_{20} q_{24}$, $Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$ and $q_2 q_7 q_{20} Q_{24}$, $Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$ and $q_2 q_7 q_{20} q_{24}$, $Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$ and $q_2 q_7 q_{20} q_{24}$, $Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$ and $q_2 q_7 q_{20} q_{24}$, $Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$ and $q_2 q_7 q_{20} q_{24}$, $Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$ and $q_2 q_7 q_{20} q_{24}$, $Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$ and $q_2 q_7 q_{20} q_{24}$, $Q_2 q_7 Q_{20} Q_{24}$ and $q_2 q_7 q_{20} q_{24}$. These results suggest that the four QTL may have additive effect on marbling, and provide a foothold for development of marker-assisted selection system for marbling in Hida-gyu population.