

日本短角種における 遺伝的マーカーを利用した育種方法に関する研究

佐藤 洋一*1

緒 論

日本短角種の改良経過

日本短角種は和牛の一品種であり、岩手県を中心に、主に北東北および北海道で飼養されている肉用牛である。日本短角種の改良は 1970 年から独立淘汰水準法による産肉能力検定直接法が導入され、選抜指数式の導入や給与飼料などの検定方法の見直しが適宜行われながら、現在まで実施されている。さらに、実際に後代産子を得てその枝肉成績から評価する産肉能力検定間接法（ステーション方式）は 1974 年から直接検定上位牛に対して実施され²³⁾、2005 年からは一般肥育農場の肥育牛のデータを用いた現場後代検定法（フィールド方式）に移行している。このような検定制度のもとで日本短角種の改良目標は(1)増体速度、(2)枝肉歩留、(3)脂肪交雑、の改良に重点が置かれてきた⁴⁷⁾。しかし、近年は(1)屠畜月齢が若い個体のしまりの悪化、(2)歩留等級の低下を防ぐための皮下脂肪を薄くする改良と枝肉重量の確保の両立が困難、(3)脂肪交雑表型値が低位で安定、などの改良の問題点が顕在化している。そこで、岩手県では 2005 年から種雄牛や繁殖雌牛の育種価を推定し、直接検定牛の選定指標として利用することで、より正確な選抜を行うおうとしている。

日本短角種の特徴

日本短角種は東北地方の在来牛である南部牛に外国品種を交雑して改良された経緯があり、肉用ショートホーン種の影響が強いと推測されている^{39,71)}。南部牛の祖先はロシアから導入したという説や西日本から導入したという説があり、その由来は明確ではないが、江戸時代に南部藩領で荷役用に供されていた牛が夏山冬里のマキ牛生産に適応して成立したと考えられている⁴⁶⁾。このように、東北北部の厳しい自然環境に由来する粗放な飼養環境の下で自然的に選択淘汰されてきた背景から、日本短角種は粗飼料利用能力に優れ、放牧適性が高く、中山間地を有効利用できる長所がある³¹⁾。しかし、肉質は黒毛和種とは異なり格付規格の脂肪交雑が少なく、輸入牛肉や交雑品種との明確な差別化が困難であり枝肉取引価格が安いこと、牛肉の輸入自由化以降、生産量が激減した。岩手県内の日本短角種繁殖雌牛の飼養頭

数は、1990 年は 10,654 頭であったが、2009 年には 2,500 頭にまで落ち込んでおり、飼養戸数は 1990 年には 2,398 戸であったが 2009 年には 437 戸に減少した^{50,67)}。

近年、食糧自給率の低迷、食品の安全安心を求める風潮、消費者のヘルシー志向などの背景により、国産飼料で肥育が可能、放牧による飼養形態の安心イメージ、脂肪交雑は少ないが良質な赤味主体の肉であるなどの特徴から日本短角種を見直す動きが一部にあるものの、生産頭数の減少に歯止めがかかっていない。しかし、国内では脂肪交雑重視の黒毛和種牛肉消費構造が今後も継続的かどうかは疑問である。また、日本短角種と同様に赤肉主体で放牧生産が行われている褐毛和種生産では、褐毛和種に適した格付基準を作成し評価するなどの取り組みも行われていることから、日本短角種の品種、肉質特性を再評価し、今後の改良を進めていく必要があると考えられる。

ゲノム情報の育種改良への活用の取り組みとその 利用の可能性

分子生物学的手法を家畜育種に応用する取り組みが 1990 年代から開始され、黒毛和種では 1990 年代にはマイクロサテライト多型の解析に基づいた、個体の識別方法の開発^{21,22)}や親子判定技術の開発⁷⁰⁾などの成果が報告されている。また、質的形質である遺伝性疾患に関しては、2000 年代初頭のCHEDIAK-HIGASHI 症候群⁶⁹⁾やクローデイン 16 欠損症¹⁶⁾等の原因遺伝子変異の特定をはじめとし、現在まで多くの遺伝性疾患の原因究明に関する成果が報告されている。さらに、2000 年代中頃には多数のマーカーが開発されたことにより¹⁹⁾、黒毛和種の量的形質遺伝子座 (Quantitative Trait Loci) に関する解析 (QTL 解析) によって枝肉形質に関する QTL が報告され³⁸⁾、近年では多数の成長性や枝肉形質に関する QTL が報告されている⁶⁴⁾。黒毛和種の種雄牛を造成する機関のいくつかでは QTL 解析を行い、その結果に基づいて種雄牛のマーカーアシスト選抜が試行されている³³⁾。しかし、国内の肉用牛のゲノム研究の対象は専ら黒毛和種であり、日本短角種では、筋肉肥大 (Double muscling) 形質の原因遺伝子の報告⁶³⁾があるものの、ゲノム研究やその育種への応用に関する報告は極めて少ない。肉質などを評価するためには屠畜する必要があるが、こうした形質に関しては、

*1 畜産研究所家畜育種研究室(現 岩手県立農業大学校)

本論文は東北大学大学院農学研究科審査学位論文(平成 25 年 3 月)を基に編集・加筆したものである。

生まれた時点で能力が判定できるゲノム情報を従来の統計遺伝学的手法に取り込むことにより改良効率を高めることが可能であり¹⁰⁾、改良の遅れている日本短角種への応用が期待されている。

本研究の目的

本研究の目的は、岩手、秋田、青森、北海道の地域で飼養と改良が行われてきたが、近年、減少が著しい日本短角種の改良の状況について、過去 14 年間に岩手県内で肥育出荷された枝肉情報を取り纏め、遺伝的趨勢を分析することにより従来の改良の効果と今後の課題を検証する。次に、成長性および枝肉形質への関連の可能性が示唆されるゲノム情報と産肉、肉質形質との関連を候補遺伝子解析により分析する。さらに、新たな改良形質としての牛肉中の脂肪酸組成の関連遺伝子型多型の頻度と効果について分析し、消費者ニーズに合致した日本短角種牛肉生産のための今後の改良方針と遺伝子型情報を取り入れた改良方法について検討することである。そのため、第一章では、日本短角種の近年のデータに基づき遺伝的パラメータを推定して遺伝的趨勢を把握し、しまりなどの肉質の高位安定化をはじめとした消費者ニーズに合致した日本短角種牛肉生産のために、従来の改良方法の効果を検証し、今後の改良方針を検討した。次に、今後の日本短角種の改良を効率的に進める上で、ゲノム情報の利用可能性について検討した。第二章では、成長性との関連が示唆される成長ホルモン分泌促進受容体 1A (*GHSR1a*) 遺伝子において、3 塩基の欠失により 242 番目のアミノ酸であるアルギニンが欠損した変異 (*DelR242*) が確認されており、日本短角種でのそのアリル頻度は他の品種に比べて高いことが報告されているため、日本短角種の選抜に有用な形質との関連が示唆された。*DelR242* アリルの枝肉形質や成長性、体型測尺値との関連が明らかになれば改良マーカーとして活用できる可能性があると考え、その高い頻度の理由を明らかにすることとした。さらに、第三章では、枝

肉重量の確保のための効率的な改良方法を検討するために、枝肉重量の候補遺伝子解析を行った。黒毛和種の QTL 解析による枝肉重量に関する候補遺伝子の報告から、日本短角種でその多型の頻度と効果を分析し、枝肉形質の改良マーカーとしての可能性を検討することを目的に研究を行った。最後に、第四章では、新たな評価・改良形質として注目されている牛肉中の脂肪酸組成に関して、日本短角種における改良の可能性を検討した。脂肪酸組成は黒毛和種では遺伝率が高い形質であることや、いくつかの関連する遺伝子が報告されているが、日本短角種での知見は皆無である。そこで、候補遺伝子の多型頻度と遺伝的効果を確認し、遺伝子多型をマーカーとした効果的な改良方法を検討した。本研究全体を通じて、従来日本短角種については研究が進められてこなかったゲノム情報を考慮した育種改良方法の検討を行うことを目的とした。

第一章 日本短角種における枝肉形質の遺伝的趨勢

諸 言

岩手県における日本短角種の改良は、1970 年から独立淘汰水準法による産肉能力検定直接法(直接検定)が導入され、指数式の導入や給与飼料などの検定方法の見直しが適宜行われながら、現在まで直接検定が実施されている。さらに、実際に産子を得てその枝肉成績から評価する産肉能力検定間接法は 1974 年から直接検定上位牛に対して実施されている²³⁾。そして、1990 年代後半からは BLUP 法による育種価評価が改良の参考指標に取り入れられ、2005 年には育種価をデータベース化し、直接検定牛の選定指標としての利用が定着した。しかし、黒毛和種と比べ日本短角種では、枝肉形質の遺伝的パラメータや遺伝的趨勢に関する報告は少なく近年では皆無であり、改良効果の検証が十分に行わ

Table 1 Fundamental Statistics for Carcass Traits (No.=11087)

Trait	Abbrev ¹	Mean	SD ¹	Min.	Max.
Slaughter Age (month)		24.61 ± 3.80		15.5	36.0
Carcass Weight (kg)	CW	417.98 ± 40.90		290	587
Longissimus Muscle Area (cm ²)	LMA	47.72 ± 5.82		24	78
Rib Thickness (cm)	RT	6.66 ± 0.77		3.8	10.5
Subcutaneous Fat Thickness (cm)	SFT	2.73 ± 0.85		0.7	7.0
Beef Marbling Standard Number ²	BMS	2.07 ± 0.29		1	6
Firmness ³		2.00 ± 0.31		1	4
Texture ³		2.42 ± 0.51		1	4

¹Abbrev=Abbreviations; SD=Standard deviation

²BMS was scored from 1 to 12

³Firmness and Texture were scored from 1 to 5

れていない。

そこで、日本短角種の近年のデータに基づき、遺伝的パラメータを推定して遺伝的趨勢を把握し、しまりなどの肉質の高位安定化をはじめとした消費者ニーズに合致した日本短角種牛肉生産のために、従来の改良方法の効果を検証し、今後の改良方針を検討することを目的とし研究を行った。

第一節 材料および方法

日本短角種の枝肉成績の記録は、岩手県農業研究センター畜産研究所が集積している 1997 から 2010 年の記録のうち、異常値を除いた枝肉重量が 250kg 以上、出荷月齢が 36 カ月未満である 11,087 頭の肥育牛のデータを用いた(表 1)。血統は 1950 年代まで可能な限り遡り 86,999 頭の記録を利用した。これらは岩手県内で飼養された肥育牛と繁殖牛のデータである。分析対象形質は枝肉重量(CW)、ロース芯面積(LMA)、バラの厚さ(RT)、皮下脂肪厚(SFT)、脂肪交雑基準(BMS No.)、しまり(Firmness)、きめ(Texture)の 7 形質とし、(社)日本食肉格付協会による記録を用いた。多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。用いたモデルは以下の通りである。

$$y = Xb + Za + e$$

ここで、 y は観測値、 b は母数効果および共変量、 a は相加的遺伝効果、 e は残差、 X および Z は正規行列を示す。母数効果には性(2 水準)、出荷年(14 水準)、出荷月(12 水準)、肥育農家(48 水準)を含んだ。屠畜月齢は 1 次の回帰として考慮した。分散成分および育種価の推定にはプログラム MTDFREML を用いた⁴⁾。また、遺伝率および遺伝相関の標準誤差(SE)はプログラム VCE6¹³⁾により算出した。

遺伝的趨勢および年当り遺伝的改良量の分析は Blair と Pollak³⁾、Sasaki ら⁵⁷⁾の解析方法を参考として行った。すなわち、遺伝的趨勢は同じ生まれ年の繁殖雌牛の育種価平均値により推定した。年当り遺伝的改良量は繁殖雌牛の生まれ年

により、1969 年以前、1970 年代、1980 年代、1990 年代、2000 年以降の 5 期に分類し、それぞれの期間において、生れ年の平均育種価の回帰直線の傾きにより推定した。

第二節 結果

遺伝的パラメータの推定

推定された遺伝的パラメータを表 2 に示す。遺伝率は SFT が 0.50 で最も高く、次いで LMA が 0.38 であった。BMS No.の遺伝率は 0.14 と低く、肉質関連形質が低い遺伝率であった。遺伝率の標準誤差は 0.011 から 0.017、遺伝相関の標準誤差は 0.018 から 0.046 の値であった。LMA、SFT の遺伝率は長嶺ら⁴²⁾の報告と同程度であったが、長嶺ら⁴³⁾、口田ら³²⁾の報告よりも低い値であった。

Firmness と Texture は BMS No.との遺伝相関が高く(0.798:0.987)、脂肪交雑と肉質形質の改良が関連することが示唆された。しかし、他の枝肉形質は BMS No.との遺伝相関、表型相関は低かった。CW は RT と正のやや高い 0.5 以上の表型相関と遺伝相関が推定され、CW が重い個体が RT が厚くなるという好ましい関係が示唆された。CW と SFT の表型相関は 0.42、遺伝相関は 0.29 と正の相関であり、CW の改良に伴い SFT が厚くなることが示唆された。LMA と SFT の関係は弱い負の遺伝相関であり、改良方向としては好ましい傾向である。一方、Firmness と Texture は LMA と表型相関はほとんど認められないが、遺伝相関は負の関係であった。

遺伝的趨勢

各形質の遺伝的趨勢を図 1 に示す。CW は 1980 年代後半まで停滞していたが、2000 年以降は概ね上昇傾向だった。LMA は 1980 年までは微弱な下降傾向であったものの、1980 年代から 1990 年代は上昇傾向にあった。しかし、2000 年代は上昇傾向が停滞していた。RT は 1980 年代までは

Table 2 Phenotypic and genetic parameters on seven carcass traits

	CW ¹	LMA ¹	RT ¹	SFT ¹	BMS ¹	Firmness	Texture
CW	0.305	0.358	0.526	0.294	0.000	0.058	-0.047
LMA	0.351	0.384	0.290	-0.224	0.005	-0.581	-0.116
RT	0.546	0.331	0.246	0.356	0.212	0.340	0.326
SFT	0.420	-0.004	0.366	0.500	0.164	0.177	0.006
BMS	0.055	0.053	0.128	0.052	0.140	0.798	0.891
Firmness	0.085	0.047	0.156	0.109	0.460	0.183	0.942
Texture	0.118	0.000	0.198	0.111	0.297	0.365	0.204

Phenotypic correlations are below and genetic correlations are above the diagonal.

Heritabilities are on the diagonal.

Standard error (SE) of heritabilities are 0.011-0.017. SE of Genetic correlations are 0.018-0.046.

¹ CW = carcass weight; LMA = longissimus muscle area; RT = rib thickness; SFT = subcutaneous fat thickness;

BMS = beef marbling standard number

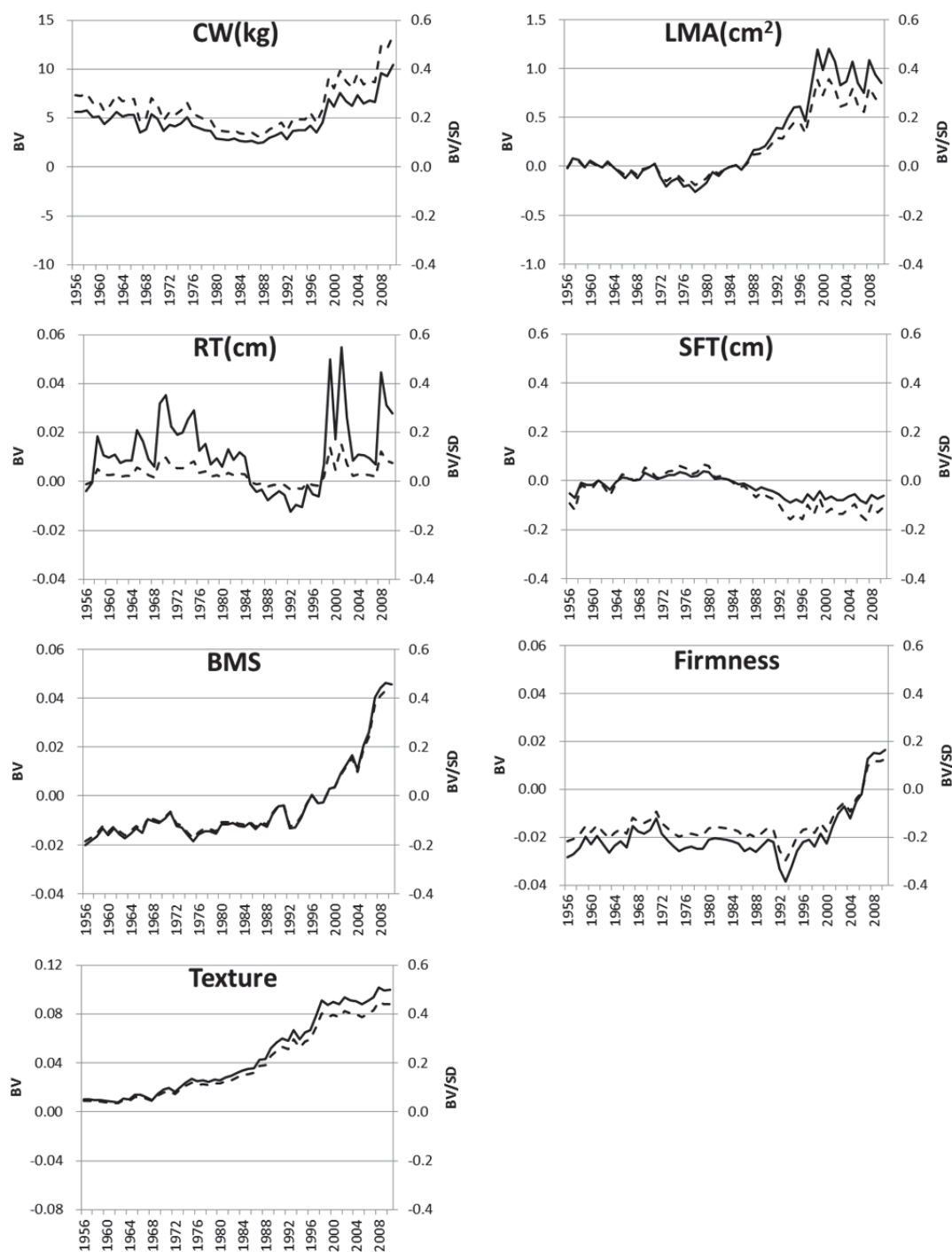


Figure 1 Genetic trends expressed per additive genetic standard deviation of the breeding values of dams born the same year for seven carcass traits

Solid line ; Mean of the breeding values of dams born in the same year for seven carcass traits

Broken line ; Breeding values per additive genetic standard deviation

BV=breeding value; SD= genetic standard deviation

LMA と同様に弱い下降傾向であった。1990 年代からは下降に歯止めがかかっているものの、その傾向は安定していなかった。SFT は 1980 年頃まで緩やかな上昇傾向であったが 1980 年代には上昇に歯止めがかかり、1990 年代半ば以降は横ばいの状態である。この原因として SFT は厚いものは枝肉格付け上好ましくなく、薄くする改良方向であることが考えられた。BMS No.は 1990 年代から上昇傾向が明確であった。

遺伝相関の値からも BMS No.と Firmness の傾向は強く関連していることが推測され、趨勢は明らかに上昇傾向であることが判明した。両形質ともに 1990 年前半に落ち込みがあるものの 1990 年代からの上昇が明確であった。2004 年の下落などその他の時期の趨勢も非常に類似した動きをしている。また、Texture は全年代において上昇傾向が認められた。遺伝標準偏差単位では CW, BMS, Texture で近年 0.4 程度

の値の増加となっているが、RT, SFT, Firmness では変動が概ね±0.2 以内と小さい値であり、明確な趨勢が表れていなかった。

年当り遺伝的改良量

5 期に区分した年当り遺伝的改良量を表 3 に示す。CW の年当り遺伝的改良量は 1980 年代までは負の改良であったものの、1990 年代以降は順調に増加傾向である。LMA および RT は 1990 年代で、SFT は 1980 年代で負の改良量のピークとなり、LMA, RT, SFT では 2000 年以降は明確な改良傾向が認められなかった。BMS No.と Firmness においては、1980 年代以後、年当り遺伝的改良量が順調に増大している。しかし、Texture は 1990 年代がピークであり 2000 年以降では改良量の増大が認められなかった。

第三節 考察

岩手県における日本短角種の改良は、増体性の確保による肉量の改良を第一の目標として直接検定が重視されてき

たが、牛肉の輸入自由化以降、輸入牛肉との差別化のために肉質の改良にも関心が高まり、BMS No., Firmness などの肉質形質の改善、および枝肉格付けの低下を防ぐために SFT を薄くすることも目標とされるようになった。1980 年代以降に CW と LMA のトレンドの改善が認められるのは、このような肉量を確保する従前からの改良方針の影響によると考えられる。また、一方で RT の改良が CW や LMA ほど明確に現れていないのは、間接検定が開始された 1974 年には RT は改良の指標に取り入れられておらず²³⁾、LMA に比べ遅れて検定の評価形質となったことが一因と推察できる。また、RT は CW や LMA との遺伝相関も認められるものの SFT との相関も 0.36 であり、薄くする改良方向である SFT と改善の両立が困難であった可能性がある。1980 年以降には SFT の上昇には歯止めがかかっているものの、年当り遺伝的改良量は 2000 年代以降には明確な傾向が認められなかった。SFT は LMA との相関は相互に好ましい負の遺伝相関だが、枝肉重量とは正の遺伝相関であることが影響していると考えられる。

Table 3 Genetic gains per year estimated as the regression coefficient of average breeding values of dams born in the same year for seven carcass traits

Trait	Period	No. of dams	Genetic gain ±SE ¹	P-Value
CW ¹ (kg/year)	before 1969	684	-0.0816 ±0.0409	0.07
	1970-1979	3327	-0.0671 ±0.0521	0.23
	1980-1989	19280	-0.0269 ±0.0189	0.19
	1990-1999	10349	0.2789 ±0.0902	<0.05
	after 2000	9477	0.3377 ±0.0993	<0.01
LMA ¹ (cm ² /year)	before 1969	684	-0.0109 ±0.0031	<0.01
	1970-1979	3327	-0.0256 ±0.0060	<0.01
	1980-1989	19280	0.0328 ±0.0048	<0.01
	1990-1999	10349	0.0834 ±0.0162	<0.01
	after 2000	9477	-0.0165 ±0.0129	0.23
RT ¹ (cm/year)	before 1969	684	0.0012 ±0.0005	<0.05
	1970-1979	3327	-0.0023 ±0.0006	<0.01
	1980-1989	19280	-0.0022 ±0.0005	<0.01
	1990-1999	10349	0.0038 ±0.0017	0.05
	after 2000	9477	0.0001 ±0.0016	0.96
SFT ¹ (cm/year)	before 1969	684	0.0051 ±0.0011	<0.01
	1970-1979	3327	0.0018 ±0.0009	0.10
	1980-1989	19280	-0.0068 ±0.0008	<0.01
	1990-1999	10349	-0.0020 ±0.0023	0.40
	after 2000	9477	0.0006 ±0.0011	0.63
BMS ¹ (score/year)	before 1969	684	0.0006 ±0.0001	<0.01
	1970-1979	3327	-0.0008 ±0.0003	<0.05
	1980-1989	19280	0.0002 ±0.0002	0.41
	1990-1999	10349	0.0010 ±0.0005	0.07
	after 2000	9477	0.0046 ±0.0005	<0.01
Firmness (score/year)	before 1969	684	0.0006 ±0.0002	<0.01
	1970-1979	3327	-0.0012 ±0.0003	<0.01
	1980-1989	19280	-0.0006 ±0.0001	<0.01
	1990-1999	10349	0.0008 ±0.0007	0.32
	after 2000	9477	0.0040 ±0.0004	<0.01
Texture (score/year)	before 1969	684	0.0003 ±0.0001	<0.05
	1970-1979	3327	0.0010 ±0.0002	<0.01
	1980-1989	19280	0.0025 ±0.0003	<0.01
	1990-1999	10349	0.0037 ±0.0007	<0.01
	after 2000	9477	0.0012 ±0.0003	<0.01

¹ SE=standard error; CW = carcass weight; LMA = longissimus muscle area; RT = rib thickness; SFT = subcutaneous fat thickness; BMS = beef marbling standard number

日本短角種の牛肉は赤肉主体であり BMS No. のバラツキが少なく、低位で安定している。しかし、脂肪交雑が現在の牛肉格付や取引価格に大きく影響していること、Firmness や Texture などの肉質形質との相関が高いことから BMS No. の改良も必要であると考えられている。BMS No. は遺伝率が 0.14 と低いものの 1980 年代から正の遺伝的趨勢であり、年当り遺伝的改良量も 1970 年代以降、増加を続け、2000 年代での伸びは他の年代に比べ著しい。Firmness と Texture は BMS No. との遺伝相関がそれぞれ 0.80, 0.89 と高いことから BMS No. と相互に関連して上昇していることが推察される。Firmness のトレンドが BMS No. のトレンドと酷似していることも高い相関が要因であると推察できる。BMS No. の遺伝率は 0.14 と低く推定されたが、長嶺ら^{43,44)}、口田ら³²⁾の報告では、脂肪交雑の評価方法が異なるものの脂肪交雑評価値の遺伝率がそれぞれ 0.95, 0.63, 0.86 と高く報告されている。また、Kimura ら²⁶⁾は間接検定牛のデータにより推定した BMS No. の遺伝率を 0.50 と報告している。さらに、Pariacote ら⁵⁵⁾は American Shorthorn における Marbling Score の遺伝率を 0.88 と報告している。近年の日本短角種では、改良の時間経過と集団規模の縮小により遺伝分散が小さくなっている可能性が考えられる。

年当り遺伝的改良量と改良方法の変遷から、2000 年代以降の枝肉重量や BMS No. の年当り遺伝的改良量の伸びは BLUP 法の導入効果と思われる。また、岩手県では本研究に準じた方法で育種価を推定していたが、近年は屠畜月齢が長期化している傾向があるため、評価モデルにおける共変量としての屠畜月齢を 1 次関数として考慮すべきか 2 次関数とすべきか等や、その他の考慮すべき効果など、育種価算出方法も今後検討が必要であると考ええる。

日本短角種の牛肉は黒毛和種に比べ脂肪交雑の他、Firmness, Texture が劣るためその改善が課題となっている⁴⁵⁾。BMS No. や Firmness, Texture は順調な改良のトレンドであると言えるが、その改良量は小さい値である。これらの形質は遺伝率が小さいことの他、スコアによる評価でありバラツキが少ないことから、差が明確に現れにくいことが要因であると考えられる。BLUP 法の導入により改良が進みつつあるが、さらに、改良量の増加のためには繁殖牛の更新による世代間隔の短縮と、評価方法の改善が有効であると思われる。また、近年、画像解析により牛肉を評価する方法が試みられ客観的な評価が可能となっている¹⁵⁾。Firmness や Texture の評価に画像解析を取り入れ、能力の高い牛を正確に把握することで、効果的な選抜がなされることが期待できる。一方で枝肉肉質は、LMA は Firmness, Texture と負の遺伝相関を示し、負の方向に改良したい SFT が CW, RT と正の遺伝相関を示すなど複雑な関係であるため、各形質のバランスを重視

した改良が必要である。具体的には、血縁肥育牛のデータから育種価を推定し、育種価の標準偏差と形質の重要度で重み付けして合計の総合育種価を計算し、この値に基づき直接検定牛を選定することも一案として考えられる。さらに、改良目標を明確化し、現場後代検定終了時に再度、直接検定牛を評価することで、改良の到達程度を確認しながら進めていくことが重要であると思われる。

第二章 日本短角種における *GHSR1a* 遺伝子多型と生産性の関係

諸 言

近年、分子生物学的研究の発展により、産肉能力や肉質形質などの量的形質を支配する遺伝子を染色体上に位置付け、さらにその効果を判定する方法が確立されている (QTL 解析)。ウシでは、マイクロサテライトマーカーによる QTL 解析で、第 1 染色体 (BTA1) 上の広い領域で、黒毛和種の体型測尺値³⁵⁾と交雑種の飼料摂取性⁴⁹⁾の有意な関連が報告され、この QTL の候補遺伝子の 1 つとして成長ホルモン分泌促進受容体 1A (*GHSR1a*) が考えられている。

GHSR1a は、7 回膜貫通ドメインを持つ典型的な G タンパク質共役受容体 (GPCR) であり、*GHSR1a* の mRNA は視床下部や下垂体前葉で強く発現する²³⁾。*GHSR1a* と *GHSR1a* の内因性リガンドであるグレリンは、成長ホルモン (GH) 分泌、食物摂取、および、他のいくつかの重要な機能に関与している。グレリンは *GHSR1a* に作用し、ホスホリパーゼ C を活性化し、イノシトール三リン酸 (IP3) とジアシルグリセロール (DAG) を生成により細胞内 Ca^{2+} の増加をもたらす、このカルシウムイオン濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 増加は、*GHSR1a* は $\text{G}\alpha_q$ (G タンパク α_q) サブユニットに結合していることを示すとされている^{9,27)}。*GHSR1a* の第 2, 第 3 の細胞内ループ (ICL2 & ICL3) とカルボキシル末端部は $\text{G}\alpha_q$ サブユニットとの相互作用に関与している¹⁴⁾。近年、ウシ *GHSR1a* 遺伝子の塩基多型と転写、遺伝子発現パターンが、牛の成長と枝肉形質に遺伝的に関連していることが報告されている^{28,29,30)}。ウシ *GHSR1a* 遺伝子の塩基多型の研究では、*GHSR1a* タンパク質の細胞内第 3 ループ (ICL3) の、*DelR242* アリル、つまり、欠損により 3 アルギニン残基 (3R) であるタイプ (通常タイプは 4 アルギニン残基 (4R)) の頻度が、日本短角種雄牛で高く (0.43)、ホルスタイン種で小さく (0.09)、さらに、このアリルは黒毛和種と三島牛には存在しないことが明らかとなっている。*DelR242* はマウス、ラット、ハムスターでは *GHSR1a* の通常型である (accession numbers NM_177330, NM_032075, and XM_003499792, respectively)。また、ヒトでは、*GHSR1a* タンパク質の ICL3 の 4R 領域に隣接する 2 つの非同義置換

(*p.R237W* と *p.D246A*) が³, 家系性低身長でも報告されている^{20,54}。これら *GHSR1a* の遺伝子変異は, *GHSR1a* 受容体の部分的な構成的活性の低下をもたらす可能性がある。

一方ウシでは, Lindholm-Perry ら³⁴)は, GWAS 研究のためのオリジナル交雑肉牛集団⁶¹)において, *GHSR1a* の *DelR242* アリルと平均日増体重, 1 日平均飼料摂取量の間に有意な関連は無いと報告している。しかし, その報告では, これらの形質に *DelR242* の優性効果を推定しなかった。そこで, 日本短角種の *DelR242* 遺伝子座における成長性, 枝肉, 飼料摂取, 体型測尺値への効果を解析し, 他の品種に比べて日本短角種の *GHSR1a* 遺伝子の *DelR242* アリルの頻度が高い理由を明らかにすることを目的に研究を行った。

第一節 材料および方法

種雄牛と繁殖雌牛のアリル頻度の比較

GHSR1a 遺伝子の *DelR242* アリルの解析は, 既報のとおりに行った⁴⁵。 *DelR242* の対立遺伝子頻度の種雄牛と繁殖雌牛との比較は, 635 頭のゲノム DNA を用い(種雄牛 95 頭, 繁殖雌牛 540 頭), カイ二乗検定により行った。

枝肉形質との関連

枝肉形質との関連解析は, 17 頭の種雄牛の半きょうだい産子である 532 頭(雌 207 頭, 去勢 325 頭)の肥育牛を用いた(24.2 ± 2.9 ; 月齢平均値 $\pm$ SD)。これらの肥育牛は岩手県内で 2002 年, 2003 年, 2004 年の 2 月から 5 月の分娩シーズンに生まれた牛であり, 肥育された後に屠畜場に出荷された。屠畜後には, 枝肉は第 6-7 肋骨間の切断面で日本食肉格付協会の格付員により評価された²⁴。測定された形質は枝肉重量(CW), ロース芯面積(LMA), バラの厚さ(RT), 皮下脂肪厚(SFT), 枝肉歩留(YE), BMS ナンバー(BMS No.)である。BMS No.は脂肪交雑基準により 1~12 にスコアされた。統計解析は, *DelR242* 座位の遺伝子型と形質の関連を SAS の GLM プロシージャ⁵⁸)により解析した。統計モデルは *DelR242* 遺伝子型(3 水準), 出荷年(3 水準), 出荷月(12 水準), 種雄牛(17 水準), 性別(2 水準), 出生地(5 水準)の固定効果と, 一次の共変量として出荷時の月齢を考慮し, 相加効果と優性効果について, 遺伝子型を相加効果は 0,1,2, 優性効果は 0,1,0 とし, 表現型へ回帰させるモデルにより取り入れた。

成長性・飼料摂取性との関連

成長性と飼料摂取性との関連解析は, 1994 年から 2009 年(1997 年を除く)に産肉能力直接検定を実施した 121 頭の検定牛を対象とした。これらの直接検定牛は, それぞれの

農家の牛舎で 2 月から 5 月の間に生まれ, 5 月から 9 月にかけて放牧された後, 4-5 カ月齢時には, 体型と期待育種価により選抜された雄牛である。選抜された牛は 6-7 カ月齢時に岩手県農業研究センター畜産研究所の検定ステーションに運ばれ産肉能力直接検定を実施した。検定開始時から終了時までの日常管理として, 隔週毎に体重の測定, 濃厚飼料と粗飼料の毎日の摂取量の測定を行った。解析対象形質として, 直接検定期間の平均日増体重(DG,kg), 8 カ所の皮下脂肪厚合計値(T8SFT,mm), 粗飼料摂取率(ROUGH,%), 1kg 増体あたり濃厚飼料摂取量(CONC_1,kg)および粗飼料摂取量(ROU_1,kg), 検定開始時(平均 246 日齢)の体重(BW_S,kg), 体高(WH_S,cm), 体長(BL_S,cm), 胸深(CD_S,cm), 胸幅(CW_S,cm), 尻長(RL_S,cm), 腰角幅(HW_S,cm), かん幅(TW_S,cm), 坐骨幅(PBW_S,cm), 胸囲(CG_S,cm), 管囲(CC_S,cm), 検定終了時(平均 386 日齢)の体重(BW_E,kg), 体高(WH_E,cm), 体長(BL_E,cm), 胸深(CD_E,cm), 胸幅(CW_E,cm), 尻長(RL_E,cm), 腰角幅(HW_E,cm), かん幅(TW_E,cm), 坐骨幅(PBW_E,cm), 胸囲(CG_E,cm), 管囲(CC_E,cm), さらに, 開始時と終了時の体重の線形回帰式から推定した 180 日齢補正体重(BW_180,kg)と 365 日齢補正体重(BW_365,kg)を用いた。統計解析は, 家系構造を考慮するために混合モデルを用いて遺伝子型の効果を評価した。 *DelR242* 座位の遺伝子型の効果は Qxpak⁵⁶)の snp_ad オプションにより解析した。 *DelR242* 遺伝子型は SNP とみなして解析した。モデル式は次の(1)のとおりである。

$$y_{ijk} = year_i + erea_j + bx_{ijk} + DelR242 + u_{ijk} + e_{ijk} \quad (1)$$

y_{ijk} は個体 ijk の表型値, $year_i$ は検定年次 i の母数効果(14 水準), $erea_j$ は肥育地域 j の母数効果(5 水準), b は検定開始時日齢(AGE) x_{ijk} の回帰係数, u_{ijk} は個体 ijk のポリジーン効果として $N(0, A\sigma_u^2)$ (A は分子血縁行列)に従う変量効果, e_{ijk} は残差である。DG, BW_180, BW_365 は共変量の日齢を除外したモデルを用いた。 *DelR242* は *DelR242* 座位の遺伝子型の相加的効果(a)および優性効果(d)である。A行列を作成するために, 4 世代遡及した血統情報として 917 頭を用いた。尤度比検定は, モデル内の *DelR242* 座位の遺伝子型の効果を除いたものを帰無仮説として行い, P 値はカイ二乗分布(自由度 2)により得た。相加的遺伝分散に占める *DelR242* 座位の遺伝子型の効果の割合は次式のとおりに算出した。

$$\text{variance percentage} = [2pq(a+d(q-p))^2]/V_A$$

p と q は SNP のアリル頻度, V_A はモデル(1)の SNP 効果を除いたモデルから得られた相加的遺伝分散である¹²⁾。

Table 4 Allele frequencies of the *GHSR1a-DeIR242* loci in sires and dams in Japanese Shorthorn cattle

Allele	Sires	Dams	Frequency difference		
	(95) ¹	(540) ¹	χ^2	d.f. ²	P-value
<i>AGG</i>	0.595	0.686	5.2	[1]	< 0.05
<i>DeIR242</i>	0.405	0.314			

¹ Number of animals. ² Degree of freedom.**Table 5** Nominal P-values, least squares means, and SE (in parentheses) for the effects of *DeIR242* genotype for carcass traits in 532 heads of half-sibs sired by 17 bulls by GLM procedure of SAS.

Genotype	No. ¹	d.f. ¹	CW ¹ (kg)	LMA ¹ (cm ²)	RT ¹ (cm)	SFT ¹ (cm)	YE ¹ (%)	BMS No. ¹
P-value		[2]	0.47	0.71	0.34	0.63	0.60	0.97
<i>AGG/AGG</i>	148		407.0 (3.8)	48.6 (0.6)	6.42 (0.07)	2.61 (0.07)	72.6 (0.1)	2.10 (0.04)
<i>AGG/DeIR242</i>	279		404.3 (3.1)	48.5 (0.5)	6.41 (0.06)	2.55 (0.05)	72.7 (0.1)	2.10 (0.03)
<i>DeIR242/DeIR242</i>	105		408.7 (4.1)	49.0 (0.6)	6.52 (0.08)	2.58 (0.08)	72.7 (0.1)	2.10 (0.04)

¹No.=Number of animals; d.f.=Degree of freedom; CW=carcass weight; LMA= Longissimus muscle area; RT=rib thickness; SFT=Subcutaneous fat thickness; YE= carcass yield estimate; BMS No.=beef marbling score number
 Number of dams, 207; Number of steers, 325. Average shipping age was 24.2 ±2.9 month-old (mean±SD) (range: 17.8-37.1 month-old).

Table 6 Fundamental statistics, additive genetic variance and heritability on carcass traits

Traits	Abbrev ¹	Recorders	Mean	SD ¹	V _A ¹	h ² ¹
Age, day	AGE	121	245.1 ± 20.6	—	—	—
Dairy gain, kg	DG	121	1.3 ± 0.1	0.01	0.37	
180-day old adjusted body weight, kg	BW_180	121	242.2 ± 30.8	289.90	0.47	
365-day old adjusted body weight, kg	BW_365	121	480.6 ± 37.7	543.05	0.51	
Total thickness of eight points of subcutaneous fat, mm	T8SFT	121	79.9 ± 15.7	50.04	0.52	
Roughage intake, %	ROUGH	121	45.0 ± 2.3	1.29	0.44	
Concentration weights per 1kg body weight gain, kg	CONC_1	121	4.6 ± 0.5	0.07	0.36	
Roughage weights per 1kg body weight gain, kg	ROU_1	121	3.8 ± 0.5	0.06	0.31	
Body weight at the start, kg	BW_S	121	326.2 ± 32.6	294.71	0.42	
Withers height at the start, cm	WH_S	121	115.2 ± 3.5	4.33	0.59	
Body length at the start, cm	BL_S	94	127.3 ± 5.4	11.18	0.54	
Chest depth at the start, cm	CD_S	94	56.7 ± 2.4	1.71	0.46	
Chest width at the start, cm	CW_S	94	38.6 ± 3.7	3.80	0.51	
Rump length at the start, cm	RL_S	94	42.5 ± 2.3	1.97	0.66	
Hip width at the start, cm	HW_S	94	37.9 ± 1.7	1.09	0.60	
Thurl width at the start, cm	TW_S	94	38.6 ± 2.0	1.54	0.44	
Pin bone width at the start, cm	PBW_S	94	24.8 ± 1.8	1.15	0.55	
Chest girth at the start, cm	CG_S	94	155.2 ± 7.7	22.43	0.56	
Cannon circumference at the start, cm	CC_S	94	17.7 ± 0.8	0.23	0.39	
Body weight at the end, kg	BW_E	121	505.5 ± 38.6	567.65	0.48	
Withers height at the end, cm	WH_E	121	127.1 ± 3.3	4.18	0.56	
Body length at the end, cm	BL_E	94	148.2 ± 5.8	12.73	0.50	
Chest depth at the end, cm	CD_E	94	65.1 ± 2.5	2.39	0.53	
Chest width at the end, cm	CW_E	94	46.8 ± 2.9	3.22	0.49	
Rump length at the end, cm	RL_E	94	48.9 ± 2.2	1.00	0.34	
Hip width at the end, cm	HW_E	94	44.8 ± 2.2	1.98	0.56	
Thurl width at the end, cm	TW_E	94	45.0 ± 2.0	1.61	0.46	
Pin bone width at the end, cm	PBW_E	94	31.5 ± 19.6	3.41	0.65	
Chest girth at the end, cm	CG_E	94	184.4 ± 4.9	9.79	0.57	
Cannon circumference at the end, cm	CC_E	94	19.8 ± 0.7	0.21	0.49	

¹Abbrev=abbreviation; SD=standard deviation; V_A=additive genetic variance; h²=heritability

第二節 結果

種雄牛と繁殖雌牛のアリル頻度の比較

DelR242 座位の対立遺伝子頻度を 95 頭の種雄牛と 540 頭の繁殖雌牛で比較した。*DelR242* アリルの頻度は種雄牛で 0.41, 繁殖雌牛で 0.31 であり, 種雄牛が繁殖雌牛よりも有意に ($P<0.05$) 高かった (表 4)。

枝肉形質との関連

表 5 は 532 頭の肥育牛における *DelR242* 遺伝子型別の CW, LMA, RT, SFT, YE, BMS No. の 6 つの枝肉形質値の最小二乗平均値を示している。*DelR242* アリルと 6 つの枝肉形質との関連は有意ではなかった。

成長性・飼料摂取性との関連

直接検定牛において成長性・飼料摂取性との関連解析の対象形質とした形質の基本統計量と Qxpak ソフトウェアで推定された相加的遺伝分散と遺伝率を表 6 に示す。最も低い遺伝率は ROU_1 の 0.31, 最も高い遺伝率は検定開始時尻長 (RL_S) の 0.66 であり, 各形質とも一定の遺伝的影響が認められた。遺伝子型の効果は, DG, BW_365, ROUGH, CONC_1, ROU_1, 検定開始時の RL と CC で有意であった (表 7)。ROUGH は *DelR242* アリルのマイナスの相加効果が大きかったものの, COUN_1, ROU_1 はともにマイナスの優性効果が大きく, DG, BW_365 は *DelR242* アリルのプラスの優性効果が大きかった。開始時の RL は *DelR242* アリルのプラスの相加効果が大きかったが, 開始時の CC は *DelR242* アリルのプラスの優性効果が相加効果よりも大きかった。RL と CC に対する *DelR242* 座位の遺伝子型の効果は検定終了時には有意ではなかった。ROUGH の遺伝分散に対し *DelR242* アリルが説明できる割合は 21% と非常に高かったが, ROU_1, CONC_1 ではそれぞれ 2.8%, 5.9% であった。

第三節 考察

表 4 に示した繁殖雌牛と種雄牛のアリル頻度の違いから, *DelR242* アリルは望ましい効果を持っているため選択的に日本短角種の種雄牛集団に蓄積されてきたと推測していたが, 枝肉形質との関連は明確ではなかった。一方, 成長形質と体型測尺値の *DelR242* 座位の遺伝子型の関連は, 飼料摂取性と DG, 検定開始時の RL と CC の測尺値において有意な効果が認められた。このことから, 日本短角種の優れた粗飼料利用能力は他の品種に比べ *DelR242* アリルの頻度が高いことと関係することが示唆された。特に ROU_1, CONC_1 で *DelR242* アリルのマイナスの優性効果が大きいことから, ヘテロ型の個体は飼料利用効率に優れることが考えられた。さらに, 日本短角種の種雄牛集団において, 繁殖雌牛集団

に比べ *DelR242* アリルの頻度が高い理由として, *DelR242* アリルの RL と CC との関連が影響している可能性が示唆された。

日本短角種の種雄牛の選定方法は, 放牧地で雄子牛を予備選抜し, それらの子牛について産肉能力検定直接法を行った後に, 検定成績が優秀な牛を中心に種雄牛として供用される。放牧地での予備選抜の際には, 父牛と母牛の能力から推定した期待育種価と本牛の体型, 体格を指標に選定される。期待育種価が高い雄子牛であっても, 体型, 体格が劣るとみなされた牛は産肉性, 強健性の能力が不安視され選定されないことが多い。このように体型などの外貌を重視するために, 検定開始時の RL, CC に影響する *DelR242* アリルの頻度が種雄牛で高く保存されている可能性が考えられた。しかし, *DelR242* アリルと枝肉形質との関連は明確ではなかったことから, 種雄牛選抜時に望ましいと考えられた体型形質が必ずしも枝肉形質に結びつかない可能性が考えられた。さらに, *DelR242* 遺伝子型の効果は, 直接検定開始時には RL と CC で明確な影響が認められながら, 検定終了時には関連が明確ではなかったことから, 若齢期の体型が成長後の体型を必ずしも反映していない可能性もあると思われた。このことから, 直接検定開始時の体型測尺値と産肉能力との関連について解析し, 産肉能力と関連する体型形質を見出すことが必要であると考えられた。一方で, *DelR242* 座位の遺伝子型によりヘテロ接合型を早熟型, 両ホモ接合型を晩成型と判断できる可能性もあると思われた。*DelR242* 座位の遺伝子型が直接検定開始時には体型に影響するが, 検定終了時の体型や枝肉形質には影響しないという結果から, 種雄牛の予備選抜時に *DelR242* 遺伝子型を調査し, 遺伝子型により早熟型, 晩成型を見分けることで, 若齢期の体型に過度に偏重せずに, より遺伝能力本位の選定が可能になると考えられた。

第三章 枝肉重量候補遺伝子の日本短角種と黒毛和種における多型頻度と枝肉形質への影響

諸 言

近年, 和牛の枝肉形質に関する QTL (Quantitative Trait Loci) 解析によって, 多くの遺伝子座がマッピングされている。黒毛和種では種雄牛の半きょうだい家系を材料として, 多くの家系の解析が行われており, いくつかの家系では共通する染色体領域に QTL が検出されている。枝肉重量に関しては第 6 番染色体, 第 14 番染色体に有力な QTL がマッピングされ, それぞれ *CW-2*, *CW-1* と呼ばれている⁸⁰⁾。さらに *CW-2*, *CW-1* に関しては既に候補変異が報告され, それぞ

Table 7 Single gene effects on body weight, body conformation and feed intake traits during direct-testing

Traits	LRT ¹	P-value	a ¹	±SE ¹	d ¹	±SE ¹	%V _A ¹ due to marker
DG ²	12.55	<0.01	-0.01	±0.02	0.08	±0.02	1.55
BW_180 ²	0.21	0.90	1.15		1.99		
BW_365 ²	7.03	0.03	0.72	±4.82	16.40	±6.11	8.50E-04
TSSFT ²	1.26	0.53	1.62		0.58		
ROUGH ²	10.27	0.01	-0.77	±0.25	-0.48	±0.32	21.31
CONC_1 ²	6.51	0.04	0.05	±0.06	-0.21	±0.09	2.90
ROU_1 ²	10.45	0.01	-0.10	±0.06	-0.25	±0.08	5.93
BW_S ²	0.60	0.74	3.06		5.07		
WH_S ²	3.57	0.17	0.37		0.95		
BL_S ²	1.16	0.56	0.05		-1.10		
CD_S ²	0.78	0.68	0.25		0.13		
CW_S ²	4.36	0.11	0.77		-0.78		
RL_S ²	6.07	0.05	0.64	±0.27	0.30	±0.37	10.01
HW_S ²	2.80	0.25	-0.28		-0.33		
TW_S ²	4.33	0.12	0.01		-0.48		
PBW_S ²	1.03	0.60	0.24		-0.02		
CG_S ²	0.86	0.65	0.95		0.17		
CC_S ²	9.67	<0.01	0.20	±0.12	0.47	±0.17	6.45
BW_E ²	5.17	0.08	1.83	±5.12	15.23	±6.62	0.10
WH_E ²	1.74	0.42	0.04		0.70		
BL_E ²	0.70	0.71	-0.19		0.92		
CD_E ²	0.79	0.37	0.12		-0.39		
CW_E ²	0.08	0.96	-0.08		-0.13		
RL_E ²	0.08	0.96	0.10		0.16		
HW_E ²	0.19	0.91	-0.09		0.14		
TW_E ²	1.09	0.58	0.09		0.43		
PBW_E ²	0.71	0.70	-0.22		-0.33		
CG_E ²	3.08	0.22	0.91		1.03		
CC_E ²	5.28	0.07	0.20	±0.10	0.21	±0.15	8.20

¹ LRT = likelihood ratio test; a = additive effect; SE = standard error; d = dominance effect; %VA = proportion of additive genetic variance

² See table 6 for the list of abbreviations.

SE was shown when P-value is less than 0.10

れ, *non-SMC condensin I complex subunit G (NCAPG)*^{11,60)}, *PLAG1*^{25,48)}が候補遺伝子と考えられている。また, *Growth hormon (GH)*遺伝子は 1990 年代から多型と枝肉形質の関連について研究が行われており, 黒毛和種では 2 カ所の変異が報告され^{5,6)}, 枝肉形質との関連が報告されている^{37,61)}。

一方, 和牛の一品種である日本短角種は, 飼養頭数が少ないため, 遺伝子多型に関する研究はほとんど行われておらず, 知見が極めて少ないのが実態である。また, 黒毛和種は最も主要な和牛品種であるが, 明治時代以降, 都道府県単位で改良が行われており地域により集団の遺伝的背景が異なるため⁷³⁾, 枝肉形質への影響が報告されている遺伝子多型に関して, 地域が異なる別の集団で効果を検証することは重要であると考えられる。そこで, 枝肉重量への影響が報告されている *CW-1*, *CW-2*, *GH* の各 SNP に関して, 岩手県内の黒毛和種と日本短角種における遺伝子頻度と枝肉形質

へ及ぼす影響を調査し, 両品種集団の特徴を比較することで日本短角種の特徴を明らかにし, さらに改良マーカーとしての活用可能性を検討することを目的に研究を行った。

第一節 材料および方法

黒毛和種と日本短角種の材料は, 岩手県内の各地の一般農場で肥育され, 県内の一カ所の屠畜場に出荷された黒毛和種 480 頭と日本短角種 942 頭の肥育牛を用いた。黒毛和種は 4 回の共励会出品牛であり, 日本短角種は一般肥育牛である。材料は血液または枝肉組織から DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) を用い付属のプロトコールに従い DNA を抽出した。そして, *CW-1* と密接な連鎖が報告されている SNP である FJX_25087948), *CW-2* の候補遺伝子である *non-SMC condensin I complex subunit G (NCAPG)* の *I442M* の SNP⁶⁰⁾, *GH* の *L127V*, *T172M* の 2

カ所の SNP^{5,6)}を判定した。CW-1 の遺伝子型の判定は、SNaPshot Multiplex kit (Life Technologies Japan Ltd, Tokyo, Japan)を用いた一塩基伸長法により行い、方法は附属のプロトコールに従った。すなわち、対象 SNP を含む領域の増幅には primer 3 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>)を用いて設計したプライマー（フォワード； 5' - GCTGACACAGCGTGAGAAAA -3'，リバーズ； 5' - CAAAACACACTGTCTTCCAGT-3'）を用いて PCR 反応を行い、その PCR 生成物を鋳型として、対象 SNP の直前の配列に基づき設計したプライマー（5' - CCTCCTGGATCTCAGTAGGCTGGAAGCAACTTGGGT-3'）により一塩基伸長反応を行った。その後、3130xl Genetic Analyzer (Life Technologies Japan Ltd, Tokyo, Japan) と GeneMapper V4.0 (Life Technologies Japan Ltd, Tokyo, Japan)により SNP を判定した。NCAPG と GH の SNP はそれぞれ、Eberlein ら¹¹⁾と Chikuni ら⁷⁾の報告に従い判定した。

枝肉形質は公益社団法人日本食肉格付協会による基準²⁴⁾で格付された枝肉重量 (carcass weight; CW)，ロース芯面積 (longissimus muscle area; LMA)，バラの厚さ (Rib thickness; RT)，皮下脂肪厚 (Subcutaneous fat thickness; SFT)，BMS ナンバー (beef marbling standard; BMS) の記録を用いた。各遺伝子の効果は、家系構造を考慮するために混合モデルを用いて評価した。各 SNP 効果は品種別に Qxpak⁵⁶⁾の snp_ad オプションにより解析した。黒毛和種で用いたモデル式は次の(1)のとおりである。

$$y_{ijk} = \text{sex}_i + \text{contest}_j + bx_{ijk} + \text{SNP} + u_{ijk} + e_{ijk} \quad (1)$$

y_{ijk} は個体 ijk の表型値、 sex_i は性 i の母数効果 (2 水準)、 contest_j は枝肉共励会 j の母数効果 (3 水準)、 b は屠畜月齢 x_{ijk} の回帰係数、 u_{ijk} は個体 ijk のポリジーン効果として $N(0, A\sigma_u^2)$ (A は分子血縁行列) に従う変量効果、 e_{ijk} は残差である。SNP は各遺伝子座の SNP の相加的効果(a)および優性効果(d)である。日本短角種で用いたモデル式は次の(2)のとおりである。

$$y_{ijklm} = \text{sex}_i + \text{year}_j + \text{month}_k + \text{erea}_l + bx_{ijklm} + \text{SNP} + u_{ijklm} + e_{ijklm} \quad (2)$$

y_{ijklm} は個体 $ijklm$ の表型値、 sex_i は性 i の母数効果 (2 水準)、 year_j は屠畜年 j の母数効果 (6 水準)、 month_k は屠畜月 k の母数効果 (12 水準)、 erea_l は肥育地域 l の母数効果 (4 水準)、 b は屠畜月齢 x_{ijklm} の回帰係数、 u_{ijklm} は個体 $ijklm$ のポリジーン効果として $N(0, A\sigma_u^2)$ (A は分子血縁行列) に従う変量効果、 e_{ijklm} は残差である。SNP は各遺伝子座の SNP の相加的効果(a)および優性効果(d)である。A 行列を作成するために、3 世代遡及した血統情報として黒毛和

種では 3085 頭、日本短角種では 2320 頭を用いた。尤度比検定は、それぞれモデル内の SNP 遺伝子型の効果を除いたものを帰無仮説として行い、P 値はカイ二乗分布 (自由度 2) により得た。相加的遺伝分散に占める単一遺伝子座の SNP 遺伝子型の効果の割合は次式のとおり算出した。

$$\text{variance percentage} = [2pq(a+d(q-p))^2]/V_A$$

p と q は SNP のアレル頻度、 V_A はモデル (1) の SNP 効果を除いたモデルから得られた相加的遺伝分散である¹²⁾。

第二節 結果

用いた 2 品種の基本統計量を表 8 に示す。屠畜月齢は日本短角種が早く、産肉量に関連する枝肉重量、ロース芯面積、バラの厚さも黒毛和種よりも日本短角種の方が小さい。皮下脂肪厚も日本短角種の方がやや小さい。1~12 のスコアで評価される BMS ナンバーは黒毛和種の平均値 ± 標準偏差は 6.9 ± 2.2 であるのに対し、日本短角種は 2.1 ± 0.3 と低位で安定している。また、黒毛和種では枝肉重量、ロース芯面積、バラの厚さの形質の平均値において性の差が顕著であるのに対し、日本短角種では性による違いが黒毛和種ほど明確ではなかった。表 9 に Qxpak ソフトウェアで算出された 2 品種の遺伝分散と遺伝率を示す。黒毛和種では枝肉重量の遺伝率が 0.61 と最も高かったが、日本短角種では 0.31 と最も低い遺伝率を示した。

表 10 に品種別の各遺伝子型頻度とアレル頻度を示す。 GH^{L127V} の多型は黒毛和種では V アレルの頻度が 0.71 と高いのに対し、日本短角種では L アレルの頻度が 0.85 と高かった。 GH^{T172M} の多型は黒毛和種では T アレル頻度が 0.61 であったが、日本短角種では多型が認められず、完全に T アレルに固定されていた。CW-2 の候補変異である NCAPG の SNP は、両品種ともに枝肉重量の増加効果が報告されている M アレルの頻度は小さく、日本短角種では MM 型の遺伝子型頻度は 0.001 と極めて小さかった。さらに、CW-1 に連鎖する SNP の変異も、両品種ともに枝肉重量の増加効果が報告されている C (Q) アレルの頻度が高く、日本短角種では C アレルの頻度が 0.99 以上とほぼ C (Q) アレルに固定されていた。

黒毛和種の遺伝子型別の枝肉形質の表型値平均を表 11 に、日本短角種の遺伝子型別の表型値平均を表 12 に示す。さらに、両品種別に枝肉形質における各遺伝子の効果を表 13 に示す。黒毛和種では、CW において NCAPG、CW-1 の遺伝子型で平均値の差が大きく、混合モデルでの遺伝子型の効果解析結果も有意であった。相加効果は CW-1 が NCAPG よりも大きかったが、相加的遺伝分散に占める遺伝子型の効果の割合 (% V_A due to maker) は NCAPG が大きかった。LMA では NCAPG、CW-1 それぞれ MM 型、qq 型

の頭数が少ないため平均値の傾向は一貫していないものの、*NCAPG* よりも大きかった。RT では *NCAPG* の遺伝子型の効果認められた。SFT では $P < 0.10$ であるが、*NCAPG* の CW 分散に占める遺伝子型の効果の割合ともに *CW-I* が への効果とは逆の傾向が認められた。BMS ナンバーでは

Table 8 Fundamental statistics on carcass traits

Trait	Abbrev ¹	Recorders	Mean	SD ¹
Japanese Black				
Slaughter age, month	Age	480	29.52	1.43
female	f	203	29.20	1.41
male	m	277	29.76	1.40
Carcass weight, kg	CW	480	456.14	56.11
female	f	203	411.75	38.85
male	m	277	488.67	42.99
Longissimus muscle area, cm ²	LMA	480	61.35	7.86
female	f	203	59.83	6.87
male	m	277	62.47	8.35
Rib thickness, cm	RT	480	8.20	0.97
female	f	203	7.99	0.84
male	m	277	8.36	1.04
Subcutaneous fat thickness, cm	SFT	480	2.69	0.74
female	f	203	2.86	0.74
male	m	277	2.57	0.72
Beef marbling standard ²	BMS	480	6.95	2.21
female	f	203	6.78	2.27
male	m	277	7.07	2.16
Japanese Shorthorn				
Slaughter age, month	Age	942	24.54	3.44
female	f	378	25.65	3.31
male	m	564	23.80	3.32
Carcass weight, kg	CW	942	408.06	40.37
female	f	378	399.43	41.23
male	m	564	413.84	38.76
Longissimus muscle area, cm ²	LMA	942	48.23	5.21
female	f	378	48.25	4.99
male	m	564	48.22	5.35
Rib thickness, cm	RT	942	6.36	0.65
female	f	378	6.48	0.67
male	m	564	6.28	0.62
Subcutaneous fat thickness, cm	SFT	942	2.42	0.72
female	f	378	2.68	0.75
male	m	564	2.24	0.64
Beef marbling standard ²	BMS	942	2.10	0.34
female	f	378	2.14	0.40
male	m	564	2.08	0.29

¹Abbrev=abbreviation; SD=standard deviation; ²BMS was scored from 1 to 12

Table 9 Additive genetic variance and heritability on carcass traits

Trait	Japanese Black		Japanese Shorthorn	
	V _A ¹	h ² ¹	V _A ¹	h ² ¹
CW ²	1095.83	0.61	332.10	0.31
LMA ²	24.66	0.40	10.84	0.44
RT ²	0.38	0.40	0.17	0.41
SFT ²	0.22	0.41	0.21	0.46
BMS ²	1.97	0.40	0.05	0.42

¹ V_A = additive genetic variance; h² = heritability.

² See table 8 for the list of abbreviations

Table 10 Genotypic and allelic frequencies of markers

Marker	Records	Genotypic frequencies						Allelic frequencies			
		pp		pq		qq		p		q	
Japanese Black											
<i>GH-L127V</i>	477	LL	0.080	LV	0.423	VV	0.497	L	0.291	V	0.709
<i>GH-T172M</i>	477	TT	0.270	TM	0.683	MM	0.046	T	0.612	M	0.388
<i>NCAPG (CW-2)</i>	480	II	0.477	IM	0.506	MM	0.017	I	0.730	M	0.270
<i>CW-1</i>	480	CC	0.719	CG	0.275	GG	0.006	C	0.856	G	0.144
Japanese Shorthorn											
<i>GH-L127V</i>	942	LL	0.747	LV	0.217	VV	0.036	L	0.856	V	0.144
<i>GH-T172M</i>	942	TT	1.000	TM	0.000	MM	0.000	T	1.000	M	0.000
<i>NCAPG (CW-2)</i>	929	II	0.892	IM	0.107	MM	0.001	I	0.946	M	0.054
<i>CW-1</i>	942	CC	0.996	CG	0.004	GG	0.000	C	0.998	G	0.002

Table 12 Phenotype average for each genotype of markers in Japanese Shorthorn

	<i>GH-L127V</i>						<i>NCAPG (CW-2)</i>					<i>CW-1</i>					
	LL		LV		VV		II		IM		MM	CC (QQ)		CG (Qq)		GG (qq)	
Recorders	700		201		33		829		104		1	930		4		0	
f ¹	288		74		10		334		38		0	370		2		0	
m ¹	412		127		23		495		66		1	560		2		0	
	Mean	± SD ²	Mean	± SD ²	Mean	± SD ²	Mean	± SD ²	Mean	± SD ²	Mean	Mean	± SD ²	Mean	± SD ²	Mean	± SD ²
Age ¹	24.64	± 3.44	24.20	± 3.22	24.73	± 3.85	24.70	± 3.42	23.36	± 3.10	19.66	24.55	± 3.41	23.66	± 4.94		
f ¹	25.76	± 3.33	25.02	± 3.05	26.86	± 3.26	25.76	± 3.30	24.64	± 2.98		25.65	± 3.27	24.94	± 6.95		
m ¹	23.73	± 3.23	23.80	± 3.78	25.76	± 3.33	23.99	± 3.32	22.62	± 2.94	19.66	23.82	± 3.30	22.39	± 4.28		
CW ¹	408.74	± 40.39	406.88	± 40.43	405.18	± 39.95	408.36	± 40.45	407.23	± 39.89	394.00	408.26	± 40.36	397.00	± 41.61		
f ¹	398.89	± 41.69	402.34	± 39.55	397.40	± 41.31	399.37	± 41.37	400.97	± 39.97		399.68	± 41.15	373.00	± 53.74		
m ¹	415.63	± 38.02	409.52	± 40.86	408.57	± 39.8	414.42	± 38.70	410.83	± 39.70	394.00	413.94	± 38.85	421.00	± 1.41		
LMA ¹	48.35	± 4.96	47.93	± 5.92	47.42	± 5.80	48.23	± 5.12	48.13	± 5.92	51.00	48.22	± 5.22	48.50	± 3.51		
f ¹	48.22	± 4.90	48.04	± 5.28	49.00	± 5.85	48.11	± 4.96	49.05	± 5.29		48.19	± 5.00	51.50	± 0.71		
m ¹	48.43	± 5.00	47.87	± 6.29	46.74	± 5.78	48.32	± 5.24	47.59	± 6.23	51.00	48.24	± 5.36	45.50	± 0.71		
RT ¹	6.37	± 0.64	6.34	± 0.68	6.24	± 0.59	6.37	± 0.65	6.29	± 0.63	6.20	6.36	± 0.65	6.40	± 0.48		
f ¹	6.47	± 0.66	6.54	± 0.67	6.36	± 0.70	6.49	± 0.67	6.38	± 0.64		6.48	± 0.67	6.15	± 0.21		
m ¹	6.31	± 0.62	6.23	± 0.66	6.18	± 0.55	6.29	± 0.63	6.25	± 0.62	6.20	6.28	± 0.62	6.65	± 0.64		
SFT ¹	2.41	± 0.71	2.44	± 0.76	2.33	± 0.61	2.44	± 0.72	2.23	± 0.65	2.20	2.41	± 0.72	2.45	± 0.58		
f ¹	2.65	± 0.71	2.82	± 0.82	2.54	± 0.82	2.70	± 0.75	2.49	± 0.58		2.69	± 0.74	2.15	± 0.49		
m ¹	2.24	± 0.66	2.22	± 0.63	2.24	± 0.49	2.26	± 0.64	2.08	± 0.64	2.20	2.23	± 0.64	2.75	± 0.64		
BMS ¹	2.11	± 0.35	2.09	± 0.31	2.03	± 0.17	2.10	± 0.33	2.15	± 0.41	2.00	2.10	± 0.34	2.50	± 0.58		
f ¹	2.15	± 0.42	2.12	± 0.33	2.10	± 0.32	2.13	± 0.40	2.21	± 0.41		2.14	± 0.40	2.50	± 0.71		
m ¹	2.08	± 0.30	2.08	± 0.30	2.00	± 0.00	2.07	± 0.27	2.12	± 0.41	2.00	2.08	± 0.29	2.50	± 0.71		

¹ See table 8 for the list of abbreviations² SD = standard deviation

CW-1 の効果が認められ, *CW* と同様に *C(Q)* アレルの存在で増加傾向であった. *GH* では *GH^{L127V}* の SNP の L アレルで枝肉重量が大きくなる効果が報告されているが, LL 型の平均値は LV 型, VV 型よりも 15kg 程度大きかったものの, 今回用いた集団では有意な効果は認められなかった. 一方, 日本短角種では遺伝子頻度が極端だったこともあり, ほとんどの形質, 遺伝子で関連は見いだせなかったが, 唯一, *NCAPG* で SFT に対する効果が認められた. しかし, 表型値では M アレルの存在で SFT が小さくなる傾向であるものの, 混合モデルでは黒毛和種の SFT と遺伝子型の傾向と逆の効果であった.

Table 11 Phenotype average for each genotype of markers in Japanese Black

	<i>GH-L127V</i>				<i>GH-T172M</i>				<i>NAPc (CW-2)</i>				<i>CW-1</i>			
	LL	LV	VV	TT	TM	MM	MM	MM	II	IM	MM	MM	CC (Q0)	CG (Q0)	CG (Q0)	GG (qq)
Recorders	38	202	237	129	326	22	22	22	229	240	8	8	342	132	132	3
f ¹	16	92	94	57	139	6	6	6	101	98	3	3	152	49	49	1
m ¹	22	110	143	72	187	16	16	16	128	142	5	5	190	83	83	2
	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²	Mean ±SD ²
Age ¹	29.40 ±1.58	29.45 ±1.42	29.61 ±1.42	29.41 ±1.38	29.56 ±1.44	29.63 ±1.59	29.63 ±1.59	29.63 ±1.59	29.64 ±1.47	29.43 ±1.39	29.29 ±1.21	29.46 ±1.41	29.46 ±1.41	29.71 ±1.44	29.40 ±2.60	29.40 ±2.60
f ¹	29.46 ±1.36	29.17 ±1.43	29.18 ±1.42	29.13 ±1.33	29.21 ±1.40	29.42 ±2.61	29.42 ±2.61	29.42 ±2.61	29.15 ±1.45	29.26 ±1.37	28.81 ±2.10	29.19 ±1.42	29.19 ±1.42	29.25 ±1.40	27.77 ±0.00	27.77 ±0.00
m ¹	29.36 ±1.75	29.69 ±1.37	29.89 ±1.35	29.64 ±1.40	29.83 ±1.42	29.70 ±1.11	29.70 ±1.11	29.70 ±1.11	30.02 ±1.38	29.55 ±1.40	29.58 ±0.31	29.67 ±1.37	29.67 ±1.37	29.98 ±1.40	30.22 ±3.09	30.22 ±3.09
CW ¹	469.82 ±54.34	455.00 ±52.81	454.62 ±58.85	461.23 ±58.67	453.93 ±55.72	455.82 ±43.92	455.82 ±43.92	455.82 ±43.92	438.28 ±54.60	471.74 ±52.43	490.63 ±50.17	458.08 ±57.07	458.08 ±57.07	451.17 ±53.64	430.00 ±23.64	430.00 ±23.64
f ¹	423.19 ±33.54	417.33 ±39.92	404.52 ±37.81	415.05 ±42.65	410.19 ±37.02	419.17 ±49.82	419.17 ±49.82	419.17 ±49.82	393.97 ±34.73	429.30 ±35.04	442.67 ±2.08	414.10 ±39.07	414.10 ±39.07	404.98 ±38.48	403.00 ±0.00	403.00 ±0.00
m ¹	503.73 ±39.22	486.52 ±40.16	487.55 ±45.46	497.79 ±41.27	486.44 ±43.78	469.56 ±33.69	469.56 ±33.69	469.56 ±33.69	473.24 ±40.11	501.03 ±41.21	519.40 ±40.52	493.27 ±43.08	493.27 ±43.08	478.43 ±41.26	443.50 ±4.95	443.50 ±4.95
LMA ¹	61.21 ±7.47	61.50 ±8.07	61.28 ±7.78	61.29 ±8.35	61.36 ±7.85	61.86 ±4.83	61.86 ±4.83	61.86 ±4.83	60.29 ±7.46	62.42 ±8.16	60.63 ±6.48	61.88 ±8.08	61.88 ±8.08	60.16 ±7.19	56.00 ±3.61	56.00 ±3.61
f ¹	60.38 ±4.19	60.12 ±7.01	59.55 ±7.11	60.00 ±5.74	59.92 ±7.39	57.67 ±2.94	57.67 ±2.94	57.67 ±2.94	58.76 ±7.17	61.06 ±6.41	58.67 ±4.93	60.34 ±7.11	60.34 ±7.11	58.47 ±5.92	59.00 ±0.00	59.00 ±0.00
m ¹	61.82 ±9.22	62.65 ±8.72	62.41 ±8.01	62.32 ±9.86	62.43 ±8.03	63.44 ±4.49	63.44 ±4.49	63.44 ±4.49	61.50 ±7.49	63.35 ±9.08	61.80 ±7.53	63.12 ±8.60	63.12 ±8.60	61.16 ±7.71	54.50 ±3.54	54.50 ±3.54
RT ¹	8.35 ±0.87	8.31 ±0.94	8.09 ±1.01	8.09 ±1.07	8.27 ±0.94	7.95 ±0.84	7.95 ±0.84	7.95 ±0.84	8.07 ±0.93	8.34 ±1.01	8.15 ±0.45	8.16 ±0.96	8.16 ±0.96	8.31 ±1.03	8.20 ±0.52	8.20 ±0.52
f ¹	7.94 ±0.70	8.13 ±0.83	7.87 ±0.84	7.90 ±0.86	8.05 ±0.82	7.47 ±0.69	7.47 ±0.69	7.47 ±0.69	7.85 ±0.81	8.14 ±0.85	7.83 ±0.35	7.99 ±0.81	7.99 ±0.81	7.98 ±0.93	8.50 ±0.00	8.50 ±0.00
m ¹	8.65 ±0.87	8.46 ±0.99	8.24 ±1.09	8.24 ±1.20	8.43 ±0.99	8.13 ±0.83	8.13 ±0.83	8.13 ±0.83	8.24 ±0.99	8.47 ±1.09	8.34 ±0.42	8.30 ±1.04	8.30 ±1.04	8.51 ±1.04	8.05 ±0.64	8.05 ±0.64
SFT ¹	2.68 ±0.87	2.70 ±0.71	2.68 ±0.75	2.76 ±0.84	2.67 ±0.70	2.57 ±0.74	2.57 ±0.74	2.57 ±0.74	2.72 ±0.72	2.68 ±0.76	2.24 ±0.54	2.68 ±0.76	2.68 ±0.76	2.73 ±0.71	2.63 ±0.64	2.63 ±0.64
f ¹	2.93 ±0.78	2.89 ±0.71	2.83 ±0.76	2.97 ±0.83	2.84 ±0.69	2.32 ±0.56	2.32 ±0.56	2.32 ±0.56	2.90 ±0.68	2.86 ±0.78	1.97 ±0.25	2.86 ±0.75	2.86 ±0.75	2.88 ±0.69	3.00 ±0.00	3.00 ±0.00
m ¹	2.50 ±0.91	2.55 ±0.67	2.59 ±0.74	2.60 ±0.81	2.54 ±0.68	2.66 ±0.80	2.66 ±0.80	2.66 ±0.80	2.59 ±0.73	2.55 ±0.73	2.40 ±0.62	2.54 ±0.73	2.54 ±0.73	2.64 ±0.70	2.45 ±0.78	2.45 ±0.78
BMS ¹	6.87 ±2.32	6.81 ±2.17	7.08 ±2.24	6.95 ±2.36	6.92 ±2.15	7.36 ±2.36	7.36 ±2.36	7.36 ±2.36	6.90 ±2.11	7.02 ±2.31	6.50 ±2.73	7.13 ±2.21	7.13 ±2.21	6.51 ±2.19	5.67 ±2.08	5.67 ±2.08
f ¹	6.56 ±2.13	6.58 ±2.10	7.01 ±2.46	6.65 ±2.20	6.79 ±2.31	7.67 ±2.42	7.67 ±2.42	7.67 ±2.42	6.84 ±2.28	6.77 ±2.27	5.00 ±2.65	6.99 ±2.32	6.99 ±2.32	6.14 ±2.05	5.00 ±0.00	5.00 ±0.00
m ¹	7.09 ±2.47	7.01 ±2.22	7.13 ±2.09	7.19 ±2.47	7.02 ±2.03	7.25 ±2.41	7.25 ±2.41	7.25 ±2.41	6.95 ±1.97	7.19 ±2.33	7.40 ±2.61	7.25 ±2.11	7.25 ±2.11	6.72 ±2.26	6.00 ±2.83	6.00 ±2.83

¹ See table 8 for the list of abbreviations² SD = standard deviation

Table 13 Single gene effects on fatty acid composition and carcass traits

Trait	Marker	LRT ¹	P-value	a ¹	± SD	d ¹	± SD	%VA ¹ due to Marker
Japanese Black								
CW ²	<i>GH-L127V</i>	2.88	2.37E-01					
	<i>GH-T172M</i>	1.24	5.39E-01					
	<i>NCAPG (CW-2)</i>	65.56	5.77E-15	-21.72	± 6.58	7.54	± 6.94	22.82
	<i>CW-1</i>	16.40	2.74E-04	24.44	± 11.12	9.25	± 11.56	7.16
LMA ²	<i>GH-L127V</i>	0.42	8.09E-01					
	<i>GH-T172M</i>	1.75	4.18E-01					
	<i>NCAPG (CW-2)</i>	14.90	5.83E-04	-0.42	± 1.33	2.37	± 1.40	3.66
	<i>CW-1</i>	12.65	1.79E-03	3.80	± 2.14	1.20	± 2.23	8.66
RT ²	<i>GH-L127V</i>	3.13	2.09E-01					
	<i>GH-T172M</i>	3.92	1.41E-01					
	<i>NCAPG (CW-2)</i>	6.99	3.04E-02	-0.03	± 0.18	0.20	± 0.18	1.70
	<i>CW-1</i>	0.52	7.70E-01					
SFT ²	<i>GH-L127V</i>	0.12	9.40E-01					
	<i>GH-T172M</i>	0.63	7.31E-01					
	<i>NCAPG (CW-2)</i>	4.66	9.74E-02	0.25	± 0.13	0.16	± 0.13	5.29
	<i>CW-1</i>	0.34	8.44E-01					
BMS ²	<i>GH-L127V</i>	1.32	5.18E-01					
	<i>GH-T172M</i>	1.29	5.25E-01					
	<i>NCAPG (CW-2)</i>	0.74	6.92E-01					
	<i>CW-1</i>	7.87	1.96E-02	0.47	± 0.61	-0.15	± 0.63	4.23
Japanese Shorthorn								
CW ²	<i>GH-L127V</i>	0.90	6.37E-01					
	<i>NCAPG (CW-2)</i>	0.88	6.43E-01					
	<i>CW-1</i>	0.21	6.50E-01					
LMA ²	<i>GH-L127V</i>	3.50	1.74E-01					
	<i>NCAPG (CW-2)</i>	1.87	3.92E-01					
	<i>CW-1</i>	0.00	9.45E-01					
RT ²	<i>GH-L127V</i>	1.88	3.91E-01					
	<i>NCAPG (CW-2)</i>	0.63	7.29E-01					
	<i>CW-1</i>	0.15	6.94E-01					
SFT ²	<i>GH-L127V</i>	1.60	4.48E-01					
	<i>NCAPG (CW-2)</i>	7.31	2.59E-02	-0.02	± 0.32	-0.21	± 0.32	1.43
	<i>CW-1</i>	0.12	7.30E-01					
BMS ²	<i>GH-L127V</i>	1.57	4.55E-01					
	<i>NCAPG (CW-2)</i>	1.35	5.09E-01					
	<i>CW-1</i>	2.50	1.14E-01					

¹ LRT = likelihood ratio test; a = additive effect; d = dominance effect; %VA = proportion of additive genetic variance

² See table 8 for the list of abbreviations

第三節 考察

黒毛和種と日本短角種の両品種間で外貌や枝肉形質の BMS ナンバー等の表現型が大きく異なるように、本研究で対象とした SNP の頻度においても黒毛和種と日本短角種では大きく異なり、塩基多型レベルでもそれぞれの特徴が明らかである。*GH-T172M* の多型は、他の報告^{7,48,82)}にもあるように黒毛和種では確認できたものの、日本短角種では存在しなかった。さらに、*NCAPG*、*CW-1* は両品種ともにメジャーアليلは同じであるものの、日本短角種ではそれぞれの遺伝子頻度が極端に偏っていた。黒毛和種は日本在来牛に明治時代

の 10 年間あまり、シンメンタル、デボン、ショートホーン、ブラウンスイス等の外国品種と交雑されたが、和牛の美点とされた資質が不良となったため、在来牛の美点を維持する方針でその後の交雑は行われずに改良されており、見島牛や口之島牛に近い在来牛が基礎となっていると考えられている⁴⁰⁾。一方、日本短角種は、東北地方の在来牛である南部牛に明治以降、昭和の初期まで外国品種を交雑して改良された経緯があり、ショートホーン種の影響が強いとされている^{39,46,71)}。このような黒毛和種と日本短角種の遺伝的背景の違いから、遺伝子多型頻度の違いが表れていると思われた。

遺伝子型の効果に関しては、黒毛和種では *NCAPG* と *CW-1* で報告されているような枝肉重量の効果が本研究で用いた集団でも認められたほか、*NCAPG* でバラの厚さ、*CW-1* で BMS ナンバーへの効果が認められたことが集団の特徴である。さらに、*NCAPG* の *CW* の遺伝分散に占める遺伝子型の効果の割合が 23%と非常に高く、表型分散に対しても 14%の効果を持ち、QTL として非常に大きい効果を集団に対して持つことが確認された。*NCAPG* と *CW-1* の 2 つの SNP で遺伝分散に占める効果の割合が約 30%と非常に大きい寄与率であった。Nishimura ら⁴⁸⁾はこの 2 つの SNP を含む 3 つのマーカーの寄与率は遺伝分散の 1/3 に匹敵すると報告しており、本研究で用いた集団において示された高い寄与率は不自然ではないと考えられた。黒毛和種において、*NCAPG* は枝肉重量の増加効果のある M アリルの頻度が低く、M アリルを保有する個体の血統から近年活用されるようになった特定種雄牛から由来している可能性が考えられた。そのため、*NCAPG* を改良マーカーとして利用するためには、急激な近交係数の上昇を招かないように交配に注意する必要がある。また一方で、日本短角種では M アリル保有個体の血統の特徴が明確ではなかった。M アリルの効果と不都合な形質との連鎖の有無を確認するため、材料を蓄積してさらなる解析を行う必要性が考えられた。さらに、黒毛和種では *CW-1* の多型において、*CW* や *LMA*、さらに BMS へ C アリルのプラス効果が認められたものの、C アリルの頻度が高く寄与率は限定的であった。しかし、集団への影響の大きい種雄牛に関して C アリルを持つことを確認するなどの利用意義はあると思われた。*GH* に関しては今回用いた両品種とも多型と枝肉形質との関連は認められなかった。Tatsuda ら⁶⁶⁾は *GH*^{L127M} と枝肉重量との関連を報告していたが、Matsuhashi ら³⁷⁾は枝肉重量との関連は認められず、皮下脂肪厚に関連すると報告した。さらに Tatsuda ら⁶⁶⁾は *GH*^{T127M} と BMS との関連を報告したが、Matsuhashi ら³⁷⁾は BMS ではなく、*CW*、*RT*、*SFT* との関連を報告していた。これらの報告からも *GH* の多型と枝肉形質との関連は集団によって影響が大きく異なる可能性が考えられた。

黒毛和種において形質への有意な効果が認められたマーカーは、日本短角種ではその極端な頻度の影響もあるが、効果が明確ではなかった。日本短角種は黒毛和種に比べ屠畜月齢が若く、その標準偏差が大きい。黒毛和種では、一定の月齢を出荷時期の目処とするが、日本短角種では雌雄ともに体重 600kg を出荷時期の目処とし⁴⁶⁾、さらに、まき牛による繁殖方法の特性から子牛の出生時期が偏るため肥育期間により出荷時期や流通量の調整が行われているのが実態であり、枝肉形質の性の差が小さいことからその傾向は推定できる。このため、日本短角種では産肉能力に関して遺伝

的潜在能力を十分に発揮していない可能性が考えられる。このことは、正確な遺伝的能力評価が困難になることが推測できる。枝肉形質の表型値に対して考慮すべき効果が適切に取り入れられていれば問題はないが、理想の月齢に出荷できたか、すなわち、出荷時期の調整のために増体性を調整する飼養管理を行ったか、または、さらなる体重の増加の可能性が残る若い月齢で出荷したか、を考慮するべきと考えられるが、そのような要因情報の正確な収集・整理は現時点では困難である。そのため、今後材料を蓄積し遺伝子型の多様性に富むサンプル集団を確保できた場合には、一定の DG 以上、一定の屠畜月齢範囲内の材料を対象とするなどのサンプル抽出方法の確立が必要であると考えられた。適正にサンプルが抽出できれば、誤差分散が小さくなり、相対的に遺伝子の効果が明確になる可能性があると思われた。

調査した遺伝子多型について、日本短角種では明確な効果が認められなかったが、研究方法の課題が浮かび上がった。また、黒毛和種では、*NCAPG* と *CW-1* の効果が認められたことから、岩手県の黒毛和種集団において、*NCAPG*、*CW-1* の遺伝子多型が枝肉重量等の枝肉形質の改良マーカーとして活用できると考えられた。

第四章 脂肪酸組成候補遺伝子の日本短角種における多型頻度と牛肉中の脂肪酸組成および枝肉形質への影響

諸 言

現在の牛肉の評価は脂肪交雑に重点が置かれているが、脂肪酸組成が食味に影響するとの報告⁶⁸⁾や牛肉の食味には脂肪の影響が強いとの報告⁵⁹⁾などにより、近年は脂肪交雑の程度やきめ細かさだけでなく、脂肪の質が新たな評価形質として注目されている。そのような中、一価不飽和脂肪酸割合を簡易に推定する機器の開発⁵³⁾、*stearoyl-CoA desaturase(SCD)*⁶⁵⁾や *fatty acid synthase(FASN)*¹⁾など脂肪酸組成に影響を与える遺伝子多型の報告など、牛肉の脂肪酸組成に関する研究が盛んに行われている。赤身が主体である日本短角種においても量は少ないものの一定の筋肉中への脂肪交雑は認められるため、日本短角種においても脂肪酸組成を指標の一つとした牛肉品質評価が可能であると考えられるが、日本短角種における牛肉中の脂肪酸組成やその遺伝的影響に関する報告は極めて少ない。そこで、脂肪酸組成の改良指標として検討するために、黒毛和種牛肉の脂肪酸組成に影響する変異が報告されている *SCD*、*FASN*、*sterol regulatory element binding protein 1 (SREBP-1)*、*growth hormone(GH)*遺伝子の各遺伝子型が日本短角種牛肉の脂肪酸組成に与える影響について調査した。

第一節 材料および方法

材料は岩手県内の一地域で飼養された日本短角種肥育牛 279 頭(去勢 180 頭, 雌 99 頭)の枝肉の皮下脂肪を用いた。材料牛の屠畜月齢は 27.6 ± 2.5 (平均値 $\pm$ 標準偏差) であった。材料牛における解析対象形質の基本統計量を表 14 に示す。

脂肪酸組成は、脂肪をメチルエステル化した後、ガスクロマトグラフィー (GC-17A; 株式会社島津製作所, 京都市) により分析した。すなわち、脂肪をホモジナイズした後、クロロホルム-メタノール混合液 (クロロホルム:メタノール=2:1) を加え攪拌・濾過し、溶出液をエバポレーターで濃縮・乾固した。その後、ベンゼン 1mL とナトリウムメトキシド 0.5mL を加え 80°C で 20 分静置しメチルエステル化した。メチルエステル溶液にヘキサン 1mL, 蒸留水 2mL を加え攪拌・遠心分離した後、再び上清を蒸留水 2mL と攪拌・遠心分離し、その上清をガ

スクロマトグラフィーの試料とした。脂肪酸はミリスチン酸 (C14:0), ミリストレイン酸 (C14:1), パルミチン酸 (C16:0), パルミトレイン酸 (C16:1), ステアリン酸 (C18:0), オレイン酸 (C18:1), リノール酸 (C18:2) の各割合を分析し、飽和脂肪酸合計割合 (SFA; C14:0+C16:0+C18:0) と一価不飽和脂肪酸合計割合 (MUFA; C14:1+C16:1+C18:1) を算出した。また、公益社団法人日本食肉格付協会による枝肉重量 (carcass weight; CW), ロース芯面積 (longissimus muscle area; LMA), バラの厚さ (rib thickness; RT), 皮下脂肪厚 (subcutaneous fat thickness; SFT), BMS ナンバー (beef marbling standard; BMS), 歩留基準値 (yield estimate; YE), BCS ナンバー (beef color standard; BCS), 色沢 (luster), しまり (firmness), きめ (texture), BFS ナンバー (beef fat standard; BFS) の記録を解析対象形質とした。

遺伝子型は、脂肪組織から定法により抽出したゲノム

Table 14 Fundamental statistics of fatty acid and carcass trait

Trait	Abbrev ¹	Recorders	Mean	$\pm$ SD ¹	V_A ¹	h^2 ¹
Fatty acid composition, %						
Myristic acid	C14:0	279	2.70	± 0.55	0.12	0.43
Myristoleic acid	C14:1	279	1.78	± 0.58	0.14	0.50
Palmitic acid	C16:0	279	23.86	± 1.79	1.26	0.44
Palmitoleic acid	C16:1	279	6.79	± 1.55	0.97	0.48
Stearic acid	C18:0	279	7.94	± 1.80	1.28	0.51
Oleic acid	C18:1	279	50.46	± 2.85	3.23	0.44
Linoleic acid	C18:2	279	2.72	± 0.76	0.12	0.39
Saturated fatty acid	SFA	279	34.50	± 3.07	0.38	0.45
Mono unsaturated fatty acid	MUFA	279	59.03	± 2.94	3.47	0.46
Carcass trait						
Carcass weight, kg	CW	279	445.83	± 49.64	400.19	0.42
Longissimus muscle area, cm ²	LMA	279	51.02	± 7.15	12.70	0.40
Rib thickness, cm	RT	279	6.81	± 0.92	0.20	0.40
Subcutaneous fat thickness, cm	SFT	279	2.70	± 0.83	0.25	0.40
Yield estimate ²	YE	279	72.12	± 6.26	0.58	0.42
Beef marbling standard ³	BMS	279	2.03	± 0.29	0.02	0.38
Beef color standard ⁴	BCS	279	4.16	± 0.67	0.13	0.43
Beef fat standard ⁴	BFS	279	3.12	± 0.51	0.08	0.40
Luster ⁵		279	2.11	± 0.38	0.04	0.41
Firmness ⁵		279	2.02	± 0.25	0.01	0.38
Texture ⁵		279	2.59	± 0.53	0.09	0.42

¹Abbrev = abbreviation of traits; SD = standard deviation; V_A = additive genetic variance; h^2 = heritability.

²YE = $69.419 + 0.130LMA + 0.667RT - 0.025 \times 1/2CW - 0.896SFT$

³BMS was scored from 1 to 12

⁴BCS and BFS were scored from 1 to 7

⁵Luster, firmness and texture were scored from 1 to 5

DNA を用い、*FASN*, *SCD*, *SREBP-1*, *GH* の 2 カ所 (*L127V*, *T172M*) の各遺伝子型についてそれぞれ、Abe ら¹⁾, Taniguchi ら⁸¹⁾, Hoashi ら²¹⁾, Chikuni ら⁸⁾の報告に基づいて判定した。

各遺伝子の効果は、家系構造を考慮するために混合モデルを用いて評価した。各 SNP 効果は Qxpak⁶⁸⁾の snp_ad オプションにより行い、*SREBP-1* の挿入欠失変異も SNP とみなして解析した。用いたモデル式は次のとおりである。

$$y_{ijklm} = \text{sex}_i + \text{year}_j + \text{month}_k + \text{farm}_l + bx_{ijklm} + \text{SNP} + u_{ijklm} + e_{ijklm} \quad (1)$$

y_{ijklm} は個体 $ijklm$ の表型値、 sex_i は性 i の母数効果 (2 水準)、 year_j は屠畜年 j の母数効果 (3 水準)、 month_k は屠畜月 k の母数効果 (12 水準)、 farm_l は農家 l の母数効果 (7 水準)、 b は屠畜月齢 x_{ijklm} の回帰係数、 u_{ijklm} は個体 $ijklm$ のポリジーン効果として $N(0, A\sigma_u^2)$ (A は分子血縁行列) に従う変量効果、 e_{ijklm} は残差である。SNP は各遺伝子座の SNP の相加的効果(a)および優性効果(d)である。A 行列を作成するために、3 世代遡及した血統情報として 1501 頭を用いた。尤度比検定は、モデル(1)内の SNP 遺伝子型の効果を除いたものを帰無仮説として行い、P 値はカイニ乗分布により得た。相加的遺伝分散に占める単一遺伝子座の SNP 遺伝子型の効果の割合は次式のとおり算出した。

$$\text{variance percentage} = [2pq(a+d(q-p))^2]/V_A$$

p と q は SNP のアリル頻度、 V_A はモデル(1)の SNP 効果を除いたモデルから得られた相加的遺伝分散である¹⁵⁾。

また、エピスタシス効果については epi_snp オプションにより解析した。用いたモデル式は次のとおりである。

$$y_{ijklm} = \text{sex}_i + \text{year}_j + \text{month}_k + \text{farm}_l + bx_{ijklm} + \text{SNP1} + \text{SNP2} + \text{SNP1} * \text{SNP2} + u_{ijklm} + e_{ijklm} \quad (2)$$

SNP 1 と SNP 2 はそれぞれ単一遺伝子座の遺伝子型効果であり、SNP 1*SNP 2 は 2 遺伝子座間のエピスタシス効果である。2 遺伝子座間のエピスタシス効果は Cockerham モデル⁸⁾を用いた 4 パターンのエピスタシス効果(相加効果×相加効果、相加効果×優性効果、優性効果×相加効果、優性

効果×優性効果)として解析を行った。尤度比検定は、モデル(2)内のエピスタシス効果を除いたモデルを帰無仮説として行い、P 値はカイニ乗分布により得た。

さらに、検定の多重性を考慮するために、Benjamini と Hochberg²⁾の方法(BH 法)により多重性を考慮した P 値(q 値)を R ソフトウェア (<http://www.r-project.org/>)を用いて算出した。BH 法では、5 候補遺伝子のうち *SREBP-1* および *GH* ^{T172M} が集団内で完全に固定されていたため(結果を参照)、3 候補遺伝子を用いて行った。単一遺伝子効果の検定については、20 形質×3 候補遺伝子=60 検定として補正を行い、エピスタシス検定については、20 形質×3 エピスタシスパターン(*FASN-SCD*, *FASN-GH*, *SCD-GH*)=60 検定として、補正を行った。

第二節 結果

各遺伝子の遺伝子型頻度と遺伝子頻度を表 15 に示す。*SREBP-1* および *GH* ^{T172M} においては、多型は認められなかった。さらに、*GH* ^{L127V} においては L アリルの頻度が 0.94 と極端であり、ほぼ L アリルに固定されていた。

各形質の遺伝率を表 1 に示す。脂肪酸割合の遺伝率は 0.39~0.51 と中程度であった。C18:2 は黒毛和種では他の脂肪酸に比べ低い遺伝率が報告されている^{44,72)}のと同様に、0.39 と脂肪酸の中で最も低い遺伝率が推定された。

各遺伝子における遺伝子型と表型値の関係を表 16 に、遺伝子効果解析の結果、有意になった形質を表 17 に示す。遺伝子の影響は、脂肪酸割合では、C14:0, C14:1 で *FASN* と *SCD* が、C16:1 と C18:1 で *FASN* が、C18:0, C18:2, SFA, MUFA で *SCD* の影響が有意であった。*FASN* では TW アリルの存在で C18:1 割合が高まる傾向であったが、C14:1 では逆に TW アリルの存在で低くなる傾向であった。さらに、C16:1 では AR/AR で最も値が高かった。このため、MUFA の大部分を占める C18:1 で *FASN* の効果が有意であったにもかかわらず、MUFA では有意ではなかったと考えられた。*SCD* では、最も主要な脂肪酸である C18:1 で有意な影響が

Table 15 Genotypic and allelic frequencies of markers

Marker	Records	Genotypic frequencies						Allelic frequencies			
		pp		pq		qq		p		q	
<i>FASN</i>	273	TW/TW	0.06	TW/AR	0.44	AR/AR	0.50	TW	0.28	AR	0.72
<i>SCD</i>	277	AA	0.39	VA	0.48	VV	0.13	A	0.63	V	0.37
<i>SREBP1</i>	277	SS	0.00	LS	0.00	LL	1.00	S	0.00	L	1.00
<i>GH</i> ^{L127V}	263	VV	0.01	LV	0.10	LL	0.89	V	0.06	L	0.94
<i>GH</i> ^{T172M}	263	TT	1.00	MT	0.00	MM	0.00	T	1.00	M	0.00

Table 16 Phenotype average for each genotype of markers

No. of animals	<i>FASN</i>			<i>SCD</i>			<i>GH</i> ^{L127V}		
	TW/TW 17	TW/AR 120	AR/AR 136	AA 109	VA 132	VV 36	VV 2	LV 26	LL 235
Slaughter age	28.22	27.42	27.69	27.35	27.67	28.08	28.52	26.53	27.70
Fatty acid composition, %									
C14:0 ¹	2.21	2.60	2.84	2.61	2.73	2.85	2.56	2.74	2.71
C14:1 ¹	1.45	1.67	1.93	2.02	1.74	1.23	1.89	1.86	1.79
C16:0 ¹	22.90	23.82	24.00	23.79	23.87	23.95	21.48	23.96	23.86
C16:1 ¹	6.53	6.52	7.08	6.71	6.91	6.64	8.58	7.06	6.81
C18:0 ¹	7.87	8.15	7.74	7.65	7.85	9.20	5.93	7.74	7.95
C18:1 ¹	53.01	50.81	49.82	50.52	50.47	50.21	53.37	50.21	50.42
C18:2 ¹	2.86	2.72	2.70	2.81	2.73	2.46	3.71	2.87	2.71
SFA ¹	32.98	34.56	34.59	34.04	34.45	36.00	29.97	34.43	34.51
MUFA ¹	60.98	59.01	58.83	59.25	59.12	58.08	63.84	59.12	59.01
Carcass trait									
CW ¹ , kg	459.35	449.44	440.77	447.55	444.35	445.81	439.50	455.92	444.73
LMA ¹ , cm ²	50.12	50.73	51.40	52.18	50.51	49.50	47.50	53.42	50.72
RT ¹ , cm	7.08	6.70	6.88	6.83	6.76	6.91	7.25	6.94	6.79
SFT ¹ , cm	2.59	2.71	2.68	2.62	2.70	2.93	2.75	2.66	2.67
YE ¹	72.63	72.45	71.76	72.19	72.01	72.28	72.50	72.92	72.01
BMS ¹	2.12	2.03	2.02	2.03	2.02	2.08	2.00	2.04	2.03
BCS ¹	4.12	4.22	4.12	4.17	4.18	4.06	3.50	4.08	4.17
BFS ¹	3.06	3.13	3.13	3.15	3.11	3.06	3.50	3.08	3.11
Luster	2.00	2.12	2.13	2.07	2.12	2.22	2.00	2.15	2.11
Firmness	2.06	2.01	2.02	2.02	2.01	2.06	2.00	2.00	2.02
Texture	2.59	2.61	2.57	2.58	2.58	2.67	2.50	2.62	2.59

¹ See table 14 for the list of abbreviations.Table 17 Single gene effects on fatty acid composition and carcass traits¹

Trait	Marker	LRT ²	P-value	q-value ³	a ² ±SE ²	d ² ±SE ²	%VA ² due to marker
Fatty acid composition, %							
C14:0 ⁴	<i>FASN</i>	36.24	1.35E-08	6.28E-07	-0.34 ± 0.07	0.01 ± 0.08	37.7
	<i>SCD</i>	11.48	3.00E-03	2.50E-02	-0.17 ± 0.05	-0.003 ± 0.01	11.1
C14:1 ⁴	<i>FASN</i>	24.30	5.28E-06	1.64E-04	-0.23 ± 0.07	-0.08 ± 0.08	20.5
	<i>SCD</i>	50.16	1.28E-11	1.19E-09	0.37 ± 0.05	0.09 ± 0.06	40.4
C16:1 ⁴	<i>FASN</i>	15.10	5.25E-04	6.10E-03	-0.45 ± 0.18	-0.23 ± 0.22	12.7
C18:0 ⁴	<i>SCD</i>	22.49	1.31E-05	3.05E-04	-0.78 ± 0.16	-0.46 ± 0.20	15.8
C18:1 ⁴	<i>FASN</i>	21.26	2.42E-05	4.50E-04	1.38 ± 0.35	-0.12 ± 0.42	22.0
C18:2 ⁴	<i>SCD</i>	11.12	4.00E-03	2.60E-02	0.19 ± 0.06	0.04 ± 0.07	12.4
SFA ⁴	<i>SCD</i>	13.65	1.00E-03	1.10E-02	-1.11 ± 0.30	-0.45 ± 0.36	12.2
MUFA ⁴	<i>SCD</i>	12.48	2.00E-03	1.60E-02	1.01 ± 0.28	0.50 ± 0.35	10.4
Carcass trait							
CW ⁴ , kg	<i>GH</i> ^{L127V}	8.17	1.70E-02	8.80E-02	11.24 ± 10.62	6.70 ± 11.99	0.8
RT ⁴ , cm	<i>FASN</i>	16.52	2.59E-04	3.00E-03	-0.07 ± 0.09	-0.32 ± 0.11	8.9
BCS ⁴	<i>FASN</i>	6.19	4.50E-02	2.20E-01	0.03 ± 0.07	0.09 ± 0.09	1.6
Luster	<i>FASN</i>	8.98	1.10E-02	6.40E-02	-0.12 ± 0.04	0.05 ± 0.05	8.7

Table 18 Epistatic effects between pairs of the genes on fatty acid composition and carcass traits¹

Trait	Marker		LRT ²	P-value	q-value ³
	SNP1	SNP2			
Fatty acid composition, %					
C16:1 ⁴	<i>FASN</i>	<i>SCD</i>	4.44	3.50E-02	0.61
Carcass trait					
YE ⁴	<i>SCD</i>	<i>GH</i> ^{L127V}	6.73	9.00E-03	0.61
Texture	<i>FASN</i>	<i>SCD</i>	4.41	3.60E-02	0.61

¹ Only those pairs for which statistically significant (P<0.05) gene effects were detected are listed for each trait.

² LRT = likelihood ratio test

³ The q-value of test measures the proportion of false positives incurred when that particular test is called significant.

⁴ See table 14 for the list of abbreviations.

認められなかったものの、C14:0, C14:1, C18:0, C18:2 での影響は A 型の存在で不飽和脂肪酸割合が増え、V 型の存在で飽和脂肪酸が増える傾向が一貫していることから SFA, MUFA でも影響が認められたと考えられた。また、相加的遺伝分散に占める遺伝子型の効果の割合 (%VA due to marker) は、C14:1 では *FASN* が 20%, *SCD* が 40% でこの 2 遺伝子の合計で 60% 以上と高く推定されたが、SFA, MUFA では *SCD* 遺伝子がそれぞれ 12%, 10% であった。枝肉形質では、CW で *GH* の影響が認められたほか、RT や BCS, luster で *FASN* の影響が認められた。RT では *FASN* の相加的遺伝分散に占める遺伝子型の効果の割合が 8.9% と推定された。エピスタシス効果に関しては、C16:1 で *FASN* と *SCD*, YE で *SCD* と *GH* ^{L127V}, texture で *FASN* と *SCD* で低い P 値が観察されたが、いずれも q 値は高く、エピスタシス効果は認められなかった (表 18)。

第三節 考察

遺伝子頻度は *SCD* では黒毛和種での報告 ^{1,37,72)} と同様に、A アリルの頻度が高く観察された。しかし、*FASN* では、黒毛和種は TW アリルの頻度が高く報告されているが、日本短角種では逆に AR アリルの頻度が 0.72 と高かった。Abe ら ¹⁾ は、ホルスタイン、アンガス、ヘレフォードの AR アリル頻度をそれぞれ 0.829, 0.985, 0.929 と報告しており、*FASN* のアリル頻度から、日本短角種は外国品種の影響が強いことが示唆された。*GH* ^{L127V} のアリル頻度について、丸岡ら ³⁶⁾ は 2 農場の日本短角種における L アリルの頻度を 0.42 と低く報告していたが、本研究で用いた岩手県集団におけるアリル頻度は L アリルに偏っており、丸岡らの報告との材料集団の違いが影響している可能性が考えられた。*FASN* と *GH* のアリル頻度が黒毛和種と大きく異なっていたこと、および、SREBP-1 に多型が確認されなかったことは本研究に用いた日本短角種集団の特徴と思われた。

脂肪酸割合の遺伝率は、中橋ら ⁴⁴⁾ が黒毛和種における

MUFA 遺伝率を 0.82 と報告している集団に比べると低い値であるが、Yokota ら ⁷²⁾ は 2 地域の黒毛和種集団で MUFA 遺伝率を 0.35 と 0.53 と報告しており、日本短角種の遺伝率はこれらの黒毛和種集団の遺伝率の値の範囲内であった。このことから日本短角種の脂肪酸割合は黒毛和種と同様に遺伝的影響の大きい形質であることが確認できた。このため、枝肉形質との遺伝相関についても確認することが必要であると思われた。

遺伝子型の効果は *SCD*, *FASN* で脂肪酸組成への影響が認められたが、*GH* の影響は有意ではなかった。Yokota ら ⁷²⁾ は黒毛和種において、*SCD* 遺伝子型の C14:0, C18:0, C18:1, SFA, MUFA における飽和脂肪酸の割合に対する V アリルの相対的なプラスの効果を、*FASN* 遺伝子型の AR アリルにおいて C14:0 でプラス、C16:1 でプラス、C18:1 でマイナスの効果を報告していた。日本短角種の *SCD* 遺伝子型では C18:1 で効果が認められなかったものの、C14:0, C18:0, SFA, MUFA で黒毛和種と同様の有意な効果が認められた。*FASN* 遺伝子型でも C14:0, C16:1, C18:1 において黒毛和種と同様の有意な効果を示した。また、Matsuhashi ら ³⁷⁾ は黒毛和種において脂肪酸組成と *GH* の関連を報告していたが、本研究の日本短角種集団で *GH* の効果が認められなかったことは *GH* のアリル頻度が黒毛和種に比べて極端に偏っていたことも一因であると考えられた。さらに、本研究では皮下脂肪を材料としたが、Oka ら ⁵²⁾ は黒毛和種の枝肉部位によって脂肪酸の割合に違いがあることを報告しており、日本短角種の遺伝子型の効果も皮下脂肪と筋肉内脂肪で若干異なる可能性がある。このため、筋肉内脂肪を用いた解析や筋肉内脂肪と皮下脂肪の相関を確認することが今後の課題として考えられた。また、Matsuhashi ら ³⁷⁾ は、黒毛和種における相加的遺伝分散に占める遺伝子型の効果の割合 (%VA due to marker) は MUFA で *FASN* が 3.9%, *SCD* が 14.0%, 最大でも C14:1 における *FASN* の 20.4% であり、その他は概ね低い値を報告している。同様に Yokota ら ⁷²⁾ は 2 つの黒

毛和種集団における相加的遺伝分散に占める遺伝子型の効果の割合を MUFA で *FASN* が 1.2-1.9%, *SCD* で 5.5-6.0%とし、最大値は C14:0 における *SCD* の 20.4%であり、その他は Matsuhashi らと同様に概ね低い値を報告している。一方、本研究では 1 遺伝子の影響は 10-40%と概ね高い値が推定された。このことから、黒毛和種に比べて日本短角種の脂肪酸割合は特定の遺伝子の影響を強く受けることが示唆されたが、頭数が必ずしも十分ではないため、材料を蓄積して検証が必要であると思われる。また、相加的遺伝分散に占める遺伝子型の効果の割合が高い脂肪酸がある一方で、MUFA, SFA など総合的な脂肪酸項目ではこれらの遺伝子の効果は限定的であることから、実際の改良に利用する場合は、遺伝子の効果を考慮して脂肪酸組成に関する育種価を推定することなどが必要であると思われる。

本研究により、日本短角種の枝肉中の脂肪酸組成は黒毛和種と同様に遺伝的要因があることが判明し、*FASN* や *SCD* の有意な影響を受けることが明らかとなった。このことから、脂肪酸組成の改善には遺伝的改良が有効であり、育種価と併せて *SCD* や *FASN* の遺伝子型情報が改良マーカーとして活用できることが示唆された。しかし、食味は非常に複雑な形質であり、脂肪酸組成以外にも物理性、アミノ酸、核酸、糖質、香り成分等が関与していると考えられている。また、一価不飽和脂肪酸割合が高い牛肉が必ずしも食味の良い牛肉とは限らず、中程度の割合が好ましいとの報告がある⁶²⁾。牛肉における脂肪酸組成や食味の評価に関する研究動向を注視しながら、日本短角種における脂肪酸と食味との関連性、さらに、枝肉形質との相関について確認し、最適な改良目標を設定することが重要であると思われる。

第五章 総合考察

日本短角種はマキ牛による繁殖方法が主流であり、放牧地で同一牧区内の 50 頭前後の雌牛の集団中に 1 頭の種雄牛を混牧し自然交配により繁殖する。このような繁殖方法のため、改良面と流通面の課題がある。改良面では一種雄牛の後代産子数を増やすことには限度があり、能力の高い種雄牛の影響が黒毛和種に比べ小さいこと、産肉性だけではなく野外での自然交配に耐えうる体格が求められること、多数の放牧地での供用が必要であるため選抜圧が弱いこと等が挙げられる。一方、流通面では、夏季の放牧が交配時期であるため分娩時期、出荷時期が偏ることが課題であり、牛肉の流通時期を平準化するため肥育期間を調整して出荷が行われている状況である。このような実態を踏まえ、以下の考察を行った。

改良方法の検証と新たな改良形質

第一章での解析から、BMS ナンバー等の肉質関連形質は、遺伝率が低いものの、育種価の導入以降、着実に改良が進んでいることが判明した。しかし、その改良量の絶対値は小さく、関係者が改良成果を実感するまでにはなっていない。これは BMS ナンバーの標準偏差が小さいことから評価の問題を孕んでいることが考えられる。遺伝標準偏差単位では着実な改良が認められるため、従前の改良方法でも肉質の改良は可能であると思われるが、より良い改良方法の改善のためには、現行の格付規格に加えて画像解析など客観的な BMS 評価を取り入れることも考えられる。歩留に関する枝肉重量、ロース芯面積、バラの厚さ、皮下脂肪厚の形質については、相互の遺伝相関が複雑であることから、総合的な指数により選抜を進めていく必要性が考えられる。さらに、第三章で述べたように赤身肉主体である日本短角種の牛肉において脂肪酸組成と食味との関連を確認することなどの課題があるが、脂肪酸組成のような客観的な測定データによる形質を新たに評価・改良形質として導入することが、日本短角種に適した枝肉評価と改良方法に結び付く可能性が考えられた。

直接検定牛の選定

種雄牛の候補である直接検定牛は、放牧地において生後 4-5 カ月齢の雄子牛から予備選抜される。その際、両親の育種価から期待育種価を算出し、判断材料とすることの他、経験的に体型や増体からマキ牛としての能力を推測し、選択されている。期待育種価が高くても成長性や体型に劣る牛は、マキ牛としての能力や産肉能力を不安視され、選抜されないことが多い。しかし、第二章での *GHSR1a* の *DelR242* の研究から、直接検定牛の選定方法に関しての問題点が浮かび上がった。*DelR242* アリルは直接検定開始時の尻長、管囲に有意な影響が認められたものの、検定終了時の体型測尺値や枝肉形質との関連は認められなかった。*DelR242* アリルと直接検定開始時の尻長、管囲の関係が、種雄牛集団で *DelR242* アリル頻度が繁殖雌牛集団よりも高い一因であると推察されたが、一方で、その尻長と管囲への効果が検定終了時には認められないため、直接検定牛を選抜する若齢期の体型が産肉能力と関連するかを確認する必要があると思われる。具体的には種雄牛の直接検定期間の体重や飼料摂取性に関する形質、体型測尺値について、枝肉形質の育種価との相関を解析することが 1 つの方法として考えられる。枝肉形質との相関が認められる体型測尺値等が明らかになれば、その部位の測尺値を指標として直接検定牛を選抜することで、より正確に産肉能力が高い牛を選抜することが可能になると考えられた。

DelR242 アリルと飼料摂取性との関連が明らかになったことは大変興味深く、日本短角種が粗飼料利用能力に優れることと *DelR242* アリルの頻度が高いことの関連が示唆され、1kg 増体あたりの濃厚飼料摂取量および粗飼料摂取量の効果から *DelR242* 座位のヘテロ接合型の個体が飼料利用能力に優れることが考えられた。しかし、*DelR242* 頻度が集団中に 0.3 以上であり遺伝分散に対するマーカーの寄与率は低いことから、この *DelR242* アリルを直接的な飼料摂取性の育種マーカーとして利用することは有効ではないと考えられる。一方で直接検定開始時の体型に影響することから、直接検定牛の選抜に際し、*DelR242* アリルを考慮して尻長、管囲を診断することで、過度に外貌に偏重せずに、より遺伝能力本位の選抜が可能になることが期待される。

黒毛和種の候補遺伝子の日本短角種での効果

黒毛和種で枝肉重量との関連が報告されている遺伝子は、日本短角種では枝肉形質との明確な関連は認められなかった。黒毛和種と日本短角種の遺伝的背景の違いと、日本短角種の生産方法の特徴が影響している可能性が考えられた。つまり、遺伝的背景が異なるため遺伝子頻度が極端であり遺伝子型の効果が十分に現れなかったことと、体重を目処にした集荷時期の決定方法と肥育期間による出荷調整から、遺伝的潜在能力を十分に発揮していない可能性があることである。

遺伝的背景の違いの影響から、日本短角種独自の QTL 解析を行う必要があると思われた。マイクロサテライトによる解析は半きょうだい家系を対象として解析することが主流であったが、日本短角種はその繁殖方法から大規模な半きょうだい家系の構築が困難であった。さらに中小家畜で行われているような複数世代で家系を構築する手法も世代間隔が長いことから容易ではなかった。しかし、近年では高密度 SNP チップの開発により、多数の SNP を用いて半きょうだい家系に依存しないゲノムワイド相関解析が可能となっている。この方法を応用すれば、大規模な半きょうだい家系が構築しにくい日本短角種でもゲノムワイド相関解析による QTL 解析が可能であると思われる。今後は日本短角種において SNP チップを用いたゲノムワイド相関解析を行い、日本短角種集団独自の QTL の探索が課題であると考えられる。

遺伝的潜在能力を十分に発揮していない可能性の懸念に関しては、サンプリング方法を検討することが必要であると思われる。出荷時期の調整のために増体性を調整する飼養管理を行ったか、または、さらなる体重の増加の可能性が残る若い月齢で出荷したか、等の飼養管理方法を考慮するべきと考えられるが、そのような要因情報の正確な収集・整理は現時点では困難である。そのため、一定の平均日増体重

(DG)以上、一定の屠畜月齢範囲内の材料を対象とするなどのサンプル抽出方法の検討が必要であると考えられた。

以上により、育種価評価に基づく改良方法は、形質評価方法からもたらされる難点があるものの、概ね着実に改良が進んでいることが判明した。表型値を基準にした場合はその改良効果が明確ではなくても、育種価を基準にし、遺伝標準偏差単位で評価することで、改良の成果が確認できた。このことから、喫緊の課題は改良方法の改善よりも、日本短角種のどのような形質を評価し、改良していくかを決定することであると思われた。また、脂肪酸組成のような新たな評価形質で、日本短角種の評価・改良ができる可能性が示唆された。このような牛肉の食味に関する形質を改良形質と位置付けることも 1 つの方法であると考えられる。一方、直接検定牛の選定方法とゲノム研究方法の課題が浮かび上がった。このような課題について、引き続き検証を行い、育種価による改良方法に新たな形質やその遺伝的マーカーを取り入れることで、さらなる日本短角種の改良推進が可能であると考えられた。

日本短角種の改良は、生産者・関係者のコンセンサスを得ながら改良の方向性を定め、その方向性に基づいて改良目標を設定し、種雄牛や繁殖雌牛に関してその改良形質を評価し、産肉能力現場検定により改良の達成度合いを確認しながら改良を推進することが重要であると考えられる。日本短角種の特徴的な飼養体系は改良スピードの制限要因にもなっているが、前述のとおり中山間地の有効利用や自給飼料の活用、放牧による景観の維持や安心のイメージなど他の和牛品種にはない価値がある。現状の遺伝的な特徴と傾向を把握したうえで、日本短角種に適した評価方法と改良方法を確立することが急務であると思われる。

謝 辞

本研究を遂行し論文をまとめるにあたり、全般に亘り適切なご指導・ご助言を賜った東北大学大学院農学研究科資源生物科学専攻動物遺伝育種学分野鈴木啓一教授に感謝いたします。

本研究を実施する環境を与えてくださり、研究遂行に多方面からご支援を賜りました岩手県農業研究センター畜産研究所の皆様へ心より感謝いたします。

本研究の実施に際し、実験材料やデータを提供して下さった岩手県の畜産農家・畜産関係機関の皆様へ感謝いたします。

枝肉重量候補遺伝子型の解析に際し、DNA 解析手法のご指導や有益なご助言を賜りました社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所の皆様へ感謝いたします。

脂肪酸組成関連遺伝子型の解析やその統計解析にご支援を賜りました独立行政法人家畜改良センターの阿部剛様、上本吉伸様、笹子奈々恵様をはじめとする技術第三課の皆様にご感謝いたします。

本研究を実施する契機を与えてくださり、*GHSR1a* の解析について多岐に亘りご支援を賜りました独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所の小松正憲様に深く感謝いたします。

本研究の実施に際し、様々なご助言、ご指導を賜わり、東北大学大学院農学研究科における素晴らしい経験と刺激を与えてくださった東北大学大学院農学研究科動物遺伝育種学研究室の皆様にご深く感謝いたします。

引用文献

- 1) Abe T, Saburi J, Hasebe H, Nakagawa T, Misumi S, Nade T, Nakajima H, Shoji N, Kobayashi M, Kobayashi E(2009). Novel Mutations of the FASN Gene and Their Effect of Fatty Acid Composition in Japanese Black Beef. *Biochemical Genetics* 47:397-411.
- 2) Benjamini Y, Hochberg Y(1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal statistical Society, series B* 57:289-300.
- 3) Blair HT, Pollak EJ(1984). Estimation of Genetic Trend in selected Population with and Without the use of Control Population. *Journal of Animal Science* 58: 878-886.
- 4) Boldman KG, Kriese LA, Van Vleck LD, Van Tassell CP, Kachman SD(1995). A Manual for Use of MTDFREML. A Set of Programs to Obtain Estimates of Variances and Covariances [DRAFT]. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC.
- 5) 千国 幸一, 寺田 文典, 陰山 聡一, 小石川 常吉, 加藤 貞雄, 小堤 恭平(1991). PCR 法を用いた牛成長ホルモン遺伝子 127 番アミノ酸部位塩基配列の多型検出. *日本畜産学会報* 62:660-666.
- 6) 千国 幸一, 長妻 常人, 田畑 利幸, 門間 美千子, 斉藤 昌義, 小沢 忍, 小堤 恭平(1994). 和牛において見いだされた成長ホルモン遺伝子の多型. *日本畜産学会報* 65:340-346.
- 7) Chikuni K, Fukumoto Y, Tanabe R, Muroya S, Ozawa S(1997). A simple method for genotyping the bovine growth hormone gene. *Animal Genetics* 28:230-232.
- 8) Cockerham CC(1954). An extension of the concept of partitioning hereditary variance for analysis of covariances among relatives when epistasis is present. *Genetics* 39:859-882.
- 9) Cruz CR, Smith RG(2008). The growth hormone secretagogue receptor. *Vitamins and Hormones* 77:47-88.
- 10) Dekkers JCM(2004). Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of animal science* 88: E313-E328.
- 11) Eberlein A, Takasuga A, Setoguchi K, Pfuhl R, Flisikowski K, Fries R, Klopp N, Fußbass R, Weikard R and Kühn C(2009). Dissection of Genetic Factors Modulating Fetal Growth in Cattle Indicates a Substantial Role of the Non-SMC Condensin I Complex, Subunit G (NCAPG) Gene. *Genetics* 183: 951-964.
- 12) Falconer DS. 1981. Introduction to quantitative genetics, 2edn. Harlow, Longman scientific & Technical.
- 13) Groeneveld E, Kovac M, Mielenz N(2008). VCE User's Guide and Reference Manual Version 6.0. Institute of Farm Animal Genetics, Neustadt, Germany.
- 14) Haga T, Kaneyama K(2005). Receptor biochemistry. In: Meyers RA (ed.), *Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine*, 2nd ed., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. pp. 551-591.
- 15) 浜崎 陽子, 斉藤 利朗, 佐藤 幸信, 長束 淳一, 口田 圭吾(2009). 画像解析の手法を用いたホルスタイン種去勢牛における牛肉のしまりの客観的評価法の検討. *日本畜産学会報* 80:47-54.
- 16) Hirano T, Kobayashi N, Itoh T, Takasuga A, Nakamaru T, Hirotsune S, Sugimoto Y(2000). Null mutation of PCLN/Claudin-16 results in bovine chronic interstitial nephritis. *Genome Research* 10: 659-663.
- 17) Hoashi S, Ashida N, Ohsaki H, Utsugi T, Sasazaki S, Taniguchi T, Oyama K, Mukai F, Mannen H(2007). Genotype of bovine Sterol Regulatory Element Binding Protein-1(SREBP-1) is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mammalian Genome* 18:880-886.
- 18) Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberator PA, Rosenblum CI, Hamelin M, Hreniuk DL, Palyha OC, Anderson J, Pareiss PS, Diaz C, Chou M, Liu KK, McKee KK, Pong SS, Chaung LY, Elbrecht A, Dashkevich M, Heavens R, Rigby M, Sirinathsinghji DJ, Dean DC, Melillo DG, Patchett AA, Nargund R, Griffin PR, DeMartino JA, Gupta SK, Schaeffer JM, Smith RG, Van der Ploeg LH(1996). A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*

- ence 273:974-977.
- 19) Ihara N, Takasuga A, Mizoshita K, Takeda H, Sugimoto M, Mizoguchi Y, Hirano T, Itoh T, Watanabe T, Reed KM, Snelling WM, Kappes SM, Beattie CW, Bennett GL, Sugimoto Y(2004). A comprehensive genetic map of the cattle genome based on 3802 microsatellites. *Genome research* 14:1987-1998.
- 20) Inoue H, Kangawa N, Kinouchi A, Sakamoto Y, Kimura C, Horikawa R, Shigematsu Y, Itakura M, Ogata T, Fujieda K(2011). Identification and functional analysis of novel human growth hormone secretagogue receptor (GHSR) gene mutations in Japanese subjects with short stature. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 96: E373-E378.
- 21) Inoue-Murayama M, Hirano T, Watanabe T, Mizoshita K, Yamakuchi H, Nakane S, Sugimoto Y(1997). Individual identification and paternity control of Japanese Black cattle based on microsatellite polymorphism. *Animal science technology* 68: 443-449.
- 22) 井上 美穂, 渡邊 敏夫, 平野 貴, 山口 浩, 塚澤 浩子, 渡辺 恵美子, 森田 光夫, 杉本 喜憲. 和牛の個体識別マーカーの検索(1995). *DNA 多型* 3:237-240.
- 23) 岩手の畜産史編纂実行委員会(1998). 岩手の畜産戦後50年の歩み. 社団法人岩手県畜産会, 岩手. pp.143-147.
- 24) Japan Meat Grading Association(1988). New Beef Carcass Grading Standards. JMGA, Tokyo.
- 25) Karim L, Takeda H, Lin L, Druet T, Arias JA, Baurain D, Cambisano N, Davis SR, Farnir F, Grisart B, Harris BL, Keehan MD, Littlejohn MD, Spelman RJ, Georges M, Coppieters W(2011). Variants modulating the expression of a chromosome domain encompassing PLAG1 influence bovine stature. *Nature Genetics* 43:405-413.
- 26) Kimura T, Iino M, Dake H, Nishida K, Itoh R, Ohtomo Y, Shinohara H, Yamagishi T, Nishida A(2001). Genetic Evaluation of Bulls with Economic Weights Equivalent to Relative Desired Gains in Japanese Shorthorn. *Animal Science Journal* 72:467-472.
- 27) Kojima M, Kangawa K(2005). Ghrelin: structure and function. *Physiological Review* 85:495-522.
- 28) Komatsu M, Fujimori Y, Sato Y, Okamura H, Sasaki S, Itoh T, Morita M, Nakamura R, Oe T, Furuta M, Yasuda J, Kojima T, Watanabe T, Hayashi T, Malau-Aduli A.E.O., Takahashi H(2010). Nucleotide polymorphisms and the 5'-UTR transcriptional analysis of the bovine growth hormone secretagogue receptor 1a (GHSR1a) gene. *Animal Science Journal* 81: 530-550.
- 29) Komatsu M, Itoh T, Fujimori T, Satoh M, Miyazaki Y, Takahashi H, Shimizu K, Malau-Aduli A. E.O., Morita M(2011). Genetic association between GHSR1a 5'UTR-microsatellite and nt-7(C>A) loci on growth and carcass traits in Japanese Black cattle. *Animal Science Journal* 82:396-405.
- 30) Komatsu M, Kojima M, Okamura H, Nishio M, Kaneda M, Kojima T, Takeda H, Malau-Aduli A. E.O., Takahashi H(2012). Age-related changes in gene expression of the growth hormone secretagogue and growth-hormone-releasing hormone receptors in Holstein-Friesian cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 42:83-93.
- 31) 近藤 恒夫, 東山 雅一, 村元 隆行, 河本 英憲, 築城 幹典(2005). 北東北における地域飼料資源を活用した日本短角種生産システムの開発. *日本草地学会誌* 51:226-233.
- 32) 口田 圭吾, 山岸 敏宏, 八巻 邦次, 水間 豊(1990). 日本短角種産肉能力検定間接法の成績に関する遺伝的パラメータの推定. *日本畜産学会報* 61:401-405.
- 33) 黒岩 恵, 平本 圭二, 溝口 康, 杉本 喜憲(2008). 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2報). 岡山県農林水産総合センター畜産研究所研究報告 17:1-3.
- 34) Lindholm-Perry AK, Kuehen LA, Snelling WM, Smith TPL, Ferrell CL, Jenkins TG, Freety HC(2011). Evaluation of polymorphisms within the genes GHSR and SLC2A2 that are within a region on bovine chromosome 1 (BTA1) previously associated with feed intake and weight gain. *Animal Genetics* 43: 112.
- 35) Malau-Aduli AEO, Niibayashi T, Kojima T, Oshima K, Mizoguchi Y, Komatsu M(2005). Mapping the quantitative trait loci (QTL) for body shape and conformation measurements on BTA1 in Japanese Black cattle. *Animal Science Journal* 76: 19-27.
- 36) 丸岡 正二・塩谷 康生・米内 美晴・下司 雅也・樋口 幹人・Maria Astuti・小杉山 基昭(1994). 黒毛和種, 日本短角種における成長ホルモン遺伝子型多型と産乳・保育能力との関係. *関東畜産学会報* 53:1-6.
- 37) Matsushashi T, Maruyama S, Uemoto Y, Kobayashi N, Mannen H, Abe T, Sakaguchi S, Kobayashi E(2011). Effect of FASN, SCD, SREBP1 and GH gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle. *Journal of animal science* 89:12-22.
- 38) Mizoshita K, Watanabe T, Hayashi H, Kubota C, Yam-

- akuchi H, Todoroki J, Sugimoto Y(2004). Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of prebred Japanese Black (Wagyu) cattle. *Journal of Animal Science* 82:3415-3420.
- 39) 水間 豊, 佐々木 宏(1974). 日本短角種本登録牛の遺伝学的分析. *日本畜産学会報* 45:262-270.
- 40) 水間 豊, 猪貴 義, 岡田 育穂(1982). 家畜育種学. 株式会社朝倉書店. 東京.
- 41) Mogi K, Yonezawa T, Chen DS, Li JY, Suzuki M, Yamanoouchi K, Sawasaki T, Nishihara M(2004). Relationship between growth hormone (GH) pulses in the peripheral circulation and GH-releasing hormone and somatostatin profiles in the Cerebrospinal fluid of goats. *The Journal of Veterinary Medical Science* 66:1071-1078.
- 42) 長嶺 慶隆, 林 孝, 西田 朗(1982). 日本短角種の遺伝的パラメータ推定と間接検定のための選抜指数式の検討. *東北農試研報* 67:147-155.
- 43) 長嶺 慶隆, 林 孝, 佐藤 博, 西田 朗, 小松 繁樹(1988). 日本短角種の発育速度と枝肉形質の遺伝的改良. *日本畜産学会報* 59:130-135.
- 44) 中橋 良信, 由佐 哲郎, 増田 豊, 日高 智, 口田 圭吾(2012). 黒毛和種におけるロース芯内交雑脂肪の脂肪酸組成に関する遺伝的パラメータの推定. *日本畜産学会報* 83:29-34.
- 45) 日本短角種研究会(2005). 日本短角種の明るい未来を目指して. 日本短角種研究会, 岩手. pp.1-7.
- 46) 日本短角種登録協会(1980). 日本短角種—短角を上手に飼うために. 社団法人日本短角種登録協会, 青森
- 47) 日本短角種登録協会(1990). 日本短角種飼養技術マニュアル. 社団法人日本短角種登録協会, 青森
- 48) Nishimura S, Watanabe T, Mizoshita K, Tatsuda K, Fujita T, Watanabe N, Sugimoto Y, Takasuga A(2012). Genome-wide association study identified three major QTL for carcass weight including the PLAG1-CHCHD7 QTN for stature in Japanese Black cattle. *BMC Genetics* 13: 40
- 49) Nkrumah JD, Sherman EL, Li C, Marques E, Crews Jr DH, Bartusiak R, Murdoch B, Wang Z, Basarab JA, Moore SS(2007). Primary genome scan to identify putative quantitative trait loci for feedlot growth rate, feed intake, and feed efficiency of beef cattle. *Journal of Animal Science* 85: 3170-3181.
- 50) 農林水産省畜産局家畜生産課(1991). 家畜改良関係資料. 農林水産省畜産局家畜生産課, 東京. pp.23-37.
- 51) Ogata K(2004). Frequency-domain analysis of dynamic systems. In : Ogata K (ed), *System Dynamics*, fourth edition, Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, New Jersey. pp. 431-490.
- 52) Oka A, Iwaki F, Dohgo T, Ohtagaki S, Noda M, Shiozaki T, Endoh O, Ozaki M(2002). Genetic effects on fatty acid composition of carcass fat of Japanese Black Wagyu steers. *Journal of Animal Science* 80: 1005-1011.
- 53) 大倉 力, 朴 善姫, 入江 正和, 西岡 輝美(2009). 食肉脂肪酸含有量測定装置. 公開番号;特許公開 2009-115669
- 54) Pantel J, Legendre M, Nivot S, Morisset S, Vie-Luton M-P, Le Bouc Y, Epelbaum J, Amselem S. (2009). Recessive isolated growth hormone deficiency and mutations in the ghrelin receptor. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 94:4334-4341.
- 55) Pariaacote F, Van Vleck LD, Hunsley RE(1998). Genetic and phenotypic parameters for carcass traits of American Shorthorn beef cattle. *Journal of Animal Science* 76:2584-2588.
- 56) Perez-Enciso M, Mitztal I(2004). Qxpak ; a versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analyses. *Bioinformatics* 20:2792-2798.
- 57) 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 programs in the Japanese Brown and the Japanese Black cattle. *Journal of Animal Science* 84:317-323.
- 58) SAS Institute Inc(2004). SAS/STAT 9.1 User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- 59) 佐藤 雅彦, 中村 豊郎, 本間 清一, 阿部 宏喜, 佐藤 朗好, 藤巻 正生(1994). 和牛, 乳牛および輸入牛肉の香気と呈味成分について. *日本畜産学会報* 65:142-148.
- 60) Setoguchi K, Furuta M, Hirano T, Nagao T, Watanabe T, Sugimoto Y, Takasuga A(2009). Cross-breed comparisons identified a critical 591-kb region for bovine carcass weight QTL(CW-2) on chromosomes 6 and the Ile-442-Met substitution in NCAPG as a positional candidate. *BMC Genetics* 10: 43
- 61) Snelling WM, Allan MF, Keele JW, Kuehn LA, McDanel T, Smith TPL, Sonstegard TS, Thallman RM, Bennet GL(2010). Genome-wide association study of growth in crossbred beef cattle. *Journal of Animal Science* 88: 837-848.

- 62) 鈴木 啓一, 横田 祥子, 飯田 文子(2011). 試食パネルによる黒毛和種牛肉の肉質等級, 脂肪酸組成と食味性との関連に関する研究. “食肉に関する助成研究調査成果報告書 VOL. 29”. 伊藤記念財団, 東京. pp.60-67.
- 63) 鈴木 暁之, 太田原 健二, 野口 龍生, 杉本 善憲, 田中修一, 小松繁樹, 吉川恵郷(2002). 日本短角種におけるウシ筋肉肥大(Double muscling)原因遺伝子の同定とその産肉性. 東北畜産学会報 52:11-17.
- 64) Takasuga A, Watanabe T, Mizoguchi Y, Hirano T, Ihara N, Takano A, Yokouchi K, Fujikawa A, Chiba K, Kobayashi N, Tatsuda K, Oe T, Fufukawa-Kuroiwa M, Nishimura-Abe A, Fujita T, Inoue K, Mizoshita K, Ogino A, Sugimoto Y(2007). Identification of bovine QTL for growth and carcass traits in Japanese Black cattle by replication and identical-by-descent mapping. *Mammalian Genome* 18:125-136.
- 65) Taniguchi M, Utsugi T, Oyama K, Mannen H, Kobayashi M, Tanabe Y, Ogino A, Tsuji S(2004). Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mammalian Genome* 14:142-148.
- 66) Tatsuda K, Oka A, Iwamoto E, Kuroda E, Takeshita H, Kataoka H, Kouno S(2008). Relationship of the Bovine Growth Hormone Gene to Carcass Traits in Japanese Black Cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 125:45-49.
- 67) 中央畜産会(2010). 家畜改良関係資料. 社団法人中央畜産会, 東京. pp.15-25.
- 68) Westerling DB, Hedrick HB(1979). Fatty acid composition of bovine lipids as influenced by diet, sex and anatomical location and relationship to sensory characteristics. *Journal of animal science* 48: 1343-1348.
- 69) Yamakuchi H, Agabe M, Hirano T, Hara K, Todoroki J, Mizoshita K, Kubota N, Sugimoto Y(2000). Chediak-Higashi syndrome mutation and genetic testing in Japanese Black cattle (Wagyu). *Animal Genetics* 31: 13-19.
- 70) 山口 浩, 井上 美穂, 渡邊 敏夫, 平野 貴, 塚澤 浩子, 渡辺 恵美子, 杉本 喜憲(1995). 和牛の親子判定および全兄弟の個体識別. *DNA 多型* 3:241-244.
- 71) 山本 幸造, 山岸 敏宏, 伊藤 亘, 池田 森男, 水間豊(1979). 奥羽種畜牧場における日本短角種集団の遺伝学的分析. 日本畜産学会報 50:247-254.
- 72) Yokota S, Sugita H, Ardiyanti A, Shoji N, Nakajima H, Hosono M, Otomo Y, Suda Y, Katoh K, Suzuki K(2012). Contributions of FASN and SCD gene polymorphisms on fatty acid composition in muscle from Japanese Black cattle. *Animal Genetics* 43:790-792.
- 73) 全国和牛登録協会(1992). 新・和牛百科図説. 社団法人全国和牛登録協会, 京都. pp.31-34.