(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2007-504841
(P2007-504841A)
(43)公表日　平成19年3月8日(2007.3.8)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	ZNAA	4B024
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4B063

審査請求 有　予備審査請求 未請求　（全 66 頁）

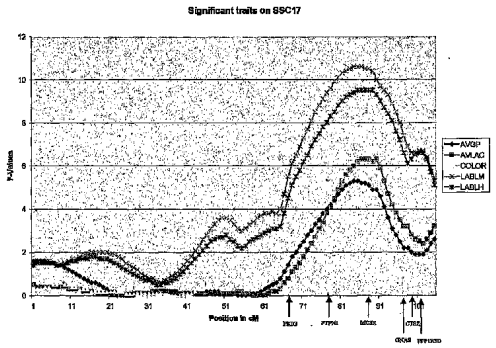
(21)出願番号　特願2006-533402 (P2006-533402)
(86)(22)出願日　平成16年5月24日 (2004.5.24)
(85)翻訳文提出日　平成18年1月18日 (2006.1.18)
(86)国際出願番号　PCT/US2004/016418
(87)国際公開番号　WO2005/001032
(87)国際公開日　平成17年1月6日 (2005.1.6)
(31)優先権主張番号　60/473,179
(32)優先日　平成15年5月23日 (2003.5.23)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　503089858
アイオワ　ステート　ユニバーシティ　リサーチ　ファウンデーション，インコーポレーティッド
アメリカ合衆国、アイオワ州　５００１１、エイムズ、ラボ　オブ　メカニクス　３１０番地
(74)代理人　100091096
弁理士　平木　祐輔
(74)代理人　100096183
弁理士　石井　貞次
(74)代理人　100118773
弁理士　藤田　節

最終頁に続く

(54)【発明の名称】第１７染色体の量的形質遺伝子座の詳細マッピングおよびマーカー利用選別のためのその使用

(57)【要約】
本明細書には、食肉形質、成長および肥満と関連する第17染色体上の量的形質遺伝子座の詳細マッピングを開示する。量的形質遺伝子座は、動物の成長および肉質との表現型関連性を有する数種の主効果遺伝子と相関しており、マーカー利用育種に使用し得る。動物をスクリーニングして、望ましい形質を生じる可能性がより大きい動物を判定する試験のために、これらの遺伝子の特定の多型対立遺伝子を開示する。
【選択図】図1



【特許請求の範囲】
【請求項１】
成長形質と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約70cM～約104cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それにより成長形質と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。
【請求項２】
前記マーカーがDde I、Msp I、Nae I、Afl III、Alw NI、Bse RI、Taa I、Mse I、Bst UI、Bcc I、Taq IおよびMnl Iよりなる群から選択される多型の制限部位である、請求項1に記載の方法。
【請求項３】
解糖ポテンシャルおよび平均乳酸と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約80cM～約84cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それにより成長形質と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。
【請求項４】
前記マーカーがNae I制限部位である、請求項3に記載の方法。
【請求項５】
前記マーカーがAF1 III制限部位である、請求項3に記載の方法。
【請求項６】
色、ラブ・ロイン・ハンター（lab loin hunter）、平均ドリップおよび/またはラブ・ロイン・ミノルタ（lab loin minolta）と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約83cM～約88cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それにより色、ラブ・ロイン・ハンター（lab loin hunter）、平均ドリップおよび/またはラブ・ロイン・ミノルタ（lab loin minolta）と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。
【請求項７】
前記マーカーがAfl III制限部位である、請求項6に記載の方法。
【請求項８】
前記マーカーがAlw NI制限部位である、請求項6に記載の方法。
【請求項９】
前記マーカーがBse RI制限部位である、請求項6に記載の方法。
【請求項１０】
身長および/または腰部背脂肪と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約83cM～約85cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それにより身長および/または腰部背脂肪と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。
【請求項１１】
前記マーカーがAfI III制限部位である、請求項10に記載の方法。
【請求項１２】
前記マーカーがAlw NI制限部位である、請求項10に記載の方法。
【請求項１３】
腰部背脂肪と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約85cM～約90cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選

別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それにより腰部背脂肪と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。

【請求項１４】

前記マーカーがAlw NI制限部位である、請求項13に記載の方法。

【請求項１５】

前記マーカーがBse RI制限部位である、請求項13に記載の方法。

【請求項１６】

前記マーカーがTaa I制限部位である、請求項13に記載の方法。

【請求項１７】

成長および脂肪形質と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約88cM～約91cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それにより成長および脂肪形質と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。

【請求項１８】

前記マーカーがMnl I制限部位である、請求項17に記載の方法。

【請求項１９】

前記マーカーがTaa I制限部位である、請求項17に記載の方法。

【請求項２０】

クッキング・ロス（cooking loss）と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約97cM～約100cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それによりクッキング・ロス(cooking loss)と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。

【請求項２１】

前記マーカーがMse I制限部位である、請求項20に記載の方法。

【請求項２２】

前記マーカーがBst UI制限部位である、請求項20に記載の方法。

【請求項２３】

前記マーカーがBcc I制限部位である、請求項20に記載の方法。

【請求項２４】

前記マーカーがTaq I制限部位である、請求項20に記載の方法。

【請求項２５】

色、ラブ・ロイン・ハンター（lab loin hunter）、ラブ・ロイン・ミノルタ（lab loin minolta）、平均ドリップおよび/または柔らかさと関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約100cM～約104cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それにより色、ラブ・ロイン・ハンター（lab loin hunter）、ラブ・ロイン・ミノルタ（lab loin minolta）、平均ドリップおよび/または柔らかさと関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。

【請求項２６】

前記マーカーがTaq I制限部位である、請求項25に記載の方法。

【請求項２７】

前記マーカーがBbs I制限部位である、請求項25に記載の方法。

【請求項２８】

前記マーカーがAlw NI制限部位である、請求項25に記載の方法。

【請求項２９】

成長形質と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する

方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約103cM～約107cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それにより成長形質と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。

【請求項３０】

前記マーカーがNae I制限部位である、請求項29に記載の方法。

【請求項３１】

前記マーカーがAlw NI制限部位である、請求項29に記載の方法。

【請求項３２】

成長形質に関連した対立遺伝子を同定する方法であって、動物由来の組織または体液のサンプルを取得すること；サンプル中に存在する第17染色体の約70～約107cMの領域を含むDNAを増幅すること；該染色体領域において、成長形質の表現型変異と関連した多型マーカーの存在を検出することを含む、上記方法。

【請求項３３】

動物をその成長形質に基づいて同定し、選別するのに使用し得る遺伝マーカーを決定する方法であって、DNAを含む該動物由来の組織または体液のサンプルを取得すること；第1動物由来の該サンプル中に存在する第17染色体の約70～約107cMの領域において、該サンプル中に存在するDNAを増幅すること；該サンプル中に存在する多型の対立遺伝子の存在を、該サンプルと参照サンプルまたは参照配列との比較によって判定すること；該動物における成長、肥満または肉質についての変異性と該多型対立遺伝子とを関連付けることを含み、その結果、該対立遺伝子を所与の群、集団、または種において成長、肥満または肉質についての遺伝マーカーとして使用することができる、上記方法。

【請求項３４】

動物をその肉質または成長形質に基づいて同定し、選別するのに使用し得る遺伝マーカーを決定する方法であって、請求項33に記載されるマーカーと有効な連鎖不平衡にある多型の対立遺伝子を決定することを含む、上記方法。

【請求項３５】

動物をその肉質、肥満または成長形質に基づいて同定し、選別するのに使用し得る遺伝マーカーを決定する方法であって、DNAを含む該動物由来の組織または体液のサンプルを取得すること；第1動物由来の該サンプル中に存在する第17染色体の約70～約90または約97～約107.5cMの領域において、該サンプル中に存在するDNAを増幅すること；該サンプルに存在する多型の対立遺伝子の存在を、該サンプルと参照サンプルまたは参照配列との比較によって判定すること；該動物における成長、肥満または肉質についての変異性と該多型対立遺伝子とを関連付けることを含み、その結果、該対立遺伝子を所与の群、集団、または種において成長、肥満または肉質についての遺伝マーカーとして使用することができる、上記方法。

【請求項３６】

動物をその肉質または成長形質に基づいて同定し、選択するのに使用し得る遺伝マーカーを決定する方法であって、請求項35に記載されるマーカーと有効な連鎖不平衡にある多型の対立遺伝子を決定することを含む、上記方法。

【請求項３７】

前記判定のステップが、制限断片長多型（RFLP）分析、ミニシーケンシング（minisequencing）、MALD-TOF、SINE、ヘテロ二本鎖分析、一本鎖高次構造多型（SSCP）、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動（DGGE）および温度勾配ゲル電気泳動（TGGE）よりなる群から選択される、請求項35に記載の方法。

【請求項３８】

前記動物がブタである、請求項35に記載の方法。

【請求項３９】

前記増幅が第17染色体の前記領域を増幅することが可能なフォワードおよびリバースプライマーを選択するステップを含む、請求項35に記載の方法。

【請求項４０】
1日平均増体量に関与する量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、該遺伝子座が第17染色体の約70cM～約72cMの領域に位置しかつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖されている場合に、該第1ブタにおいて該遺伝子座の存在を判定すること、およびそれによって平均一日増体量に関与する量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。
【請求項４１】
前記マーカーがDde I制限部位である、請求項40に記載の方法。
【請求項４２】
前記マーカーがMsp I制限部位である、請求項40に記載の方法。
【請求項４３】
マーブリングスコア（marbling score）と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約72cM～約80cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それによりマーブリングスコア（marbling score）と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。
【請求項４４】
前記マーカーがMsp I制限部位である、請求項43に記載の方法。
【請求項４５】
前記マーカーがNae I制限部位である、請求項43に記載の方法。
【請求項４６】
平均背脂肪と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約85cM～約90cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それにより平均背脂肪と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。
【請求項４７】
前記マーカーがAlw NI制限部位である、請求項46に記載の方法。
【請求項４８】
前記マーカーがBse RI制限部位である、請求項46に記載の方法。
【請求項４９】
前記マーカーがTaa I制限部位である、請求項46に記載の方法。
【請求項５０】
平均背脂肪、ハム・ハンター（ham hunter）および/またはハム・ミノルタ（ham minolta）と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約97cM～約99cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的に連鎖していること、それにより平均背脂肪、ハム・ハンター（ham hunter）および/またはハム・ミノルタ（ham minolta）と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。
【請求項５１】
前記マーカーがMse I制限部位である、請求項50に記載の方法。
【請求項５２】
前記マーカーがBst UI制限部位である、請求項50に記載の方法。
【請求項５３】
Aloca背脂肪厚p2ポジション（Aloca backfat thickness p2 position）と関連した量的形質遺伝子座のマーカー利用選別によって第1ブタを選別する方法であって、第1ブタにおいて1つの遺伝子座の存在を判定すること、ここで該遺伝子座は第17染色体の約100cM～約103cMの領域に位置し、かつ該遺伝子座を含む該第1動物を選別する多型マーカーと遺伝的

に連鎖していること、それによりAloca背脂肪厚p2ポジション（Aloca backfat thickness p2 position）と関連した量的形質遺伝子座を選別することを含む、上記方法。
【請求項５４】
前記マーカーがAlw NI制限部位である、請求項53に記載の方法。
【請求項５５】
前記マーカーがTaq I制限部位である、請求項53に記載の方法。
【請求項５６】
前記マーカーがBbs I制限部位である、請求項53に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
発明の分野
本発明は一般的には動物間の遺伝的差異の検出に関する。より詳細には、本発明は高い肉質および成長速度ならびに脂肪の蓄積と関連する遺伝性表現型の指標となる遺伝的変異に関する。この変異と関連する特定の遺伝マーカーおよび染色体領域を動物の遺伝子型タイピングおよび選別に使用するための方法ならびに組成物も開示される。
【背景技術】
【０００２】
発明の背景
研究者らは、異なる領域中の複数の遺伝子における対立遺伝子の分離に起因して、量的形質の表現型が自然集団中で連続的に分布していることを見出してきた。これらの量的形質遺伝子座（QTL）は、QTL対立遺伝子の環境感受性における相違と結び付いて、表現型に影響を及ぼす。量的形質の変化における遺伝的および環境的根拠を決定することは、ヒトの健康、農業、および進化の研究に重要である。しかし、量的形質の完全な遺伝子解析は、現在のところ遺伝学的に扱い易く、かつ十分に特徴付けられているモデル系においてのみ実現可能である（Mackay, Nat. Rev. Genet. 2:11-20 (2001); Wrightら, Genome Biol. 2: 2007.1－2007.8 (2001)）。例えば、量的遺伝子変異に関与する遺伝子の数は知られておらず、これらの遺伝子における個々の対立遺伝子の数および効果、あるいは遺伝子の作用も概ね未知である。現在までに、遺伝子および原因変異体はごく少数の量的形質について検出されているにすぎない。例えばそのような量的形質は、ウシの筋肉肥大（double-muscling）(Grobetら, Mamm. Genome 9:210-213 (1998))、果実の大きさの変化（Fraryら, Science 289:85-88 (2000)）、ブタの成長および能力形質(Kimら, Mamm. Genome 11:131-135 (2000))、ブタの骨格筋における過剰なグリコーゲン含有量（Milanら, Science 288:1248-1251 (2000)）、ならびにヒツジにおける排卵および同腹仔サイズの増加（Wilsonら, Biol. Reprod. 64:1225-1235 (2001)）等である。これらの例の大部分においては、突然変異の影響が非常に大きいため、表現型はほとんどメンデルの形質として分離する。
【０００３】
複雑な量的形質の遺伝学を理解し利用するために、対象となる形質が大きく異なる2つの系統に由来する実験集団が、モデル生物種（Belknapら, Behav. Genet. 23:213-222 (1993); Talbotら, Nat. Genet. 21:305-308 (1999)）、植物（Patersonら, Nature 335:721-726 (1988)）、および家畜（Anderssonら, Science 263:1771-1774 (1994)）で首尾よく用いられ、量的形質遺伝子座（QTL）が検出されている。これらの研究は、親集団間、例えば商業上の農業栽培品種と野生型集団との間で、その対立遺伝子の頻度が異なるQTLのマッピングに成功している（Patersonら, Nature 335:721-726 (1988); Anderssonら, Science 263:1771-1774 (1994)）。量的形質の構成を理解することに加えて、選り抜きの集団内の変異を利用できる潜在的可能性によって、農業生物種を巻き込んだ交雑も動機付けられる（商業上の植物および動物集団は、通常、QTL検出の研究に用いられる同一の交雑種に基づくものでないが、系統交雑における連鎖研究の力は集団内の研究の力よりも一般的に大きい）。商業上のブタ育種集団において、例えば、選り抜きの集団は多くの世代

にわたって選別に供され、その商業的な形質が改善されている閉鎖的な非近交系集団から構成されるが、イノシシ（Anderssonら，Science 263:1771-1774 (1994)）および中国産のメイシャン（Wallingら，Anim. Genet. 29:415-424 (1998); De Koningら，Genetics 152:1679-1690 (1999); De Koningら，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:7947-7950 (2000); Bidanelら，Genet. Sel. Evol. 33:289-309 (2001)）の集団はしばしばQTL研究に使用されている。分岐系統を用いた多くのQTL研究における暗黙の仮説は、集団間の遺伝的変異の知識から別の集団または生物種における遺伝的変異を推定することができるということである。商業的集団中のQTLの分離は、遺伝子またはマーカー利用選別プログラムを介して育種家によって利用され得る（例えば、DekkersおよびHospital, Nat. Rev. Genet. 3:22-32 (2002)）。

【０００４】

肉および脂肪の生産の、例えばブタにおける、選別は、何世紀にもわたって行われているが、最新の統計的方法を用いた徹底的な選別は過去50年間ほど行われているにすぎない（Clutter, A. C.およびE. W. Brascamp, 1998 Genetics of performance traits, M. F. RothschildおよびA. Ruvinskyにより編集されたThe Genetics of the Pig中のpp. 427-462. CAB International, Wallingford, UK）。

【０００５】

最近までは連続的な形質の変異の原因遺伝子を同定すること、またはそれらの異なる対立遺伝子の影響を直接観察することは実施不可能であった。しかし現在では豊富な遺伝マーカーが量的形質遺伝子座（形質の変異に関与する染色体の領域、または個々の配列変異体）の同定を可能にしている（Bartonら，Nat. Rev. Genet 3:11-21 (2002)）。遺伝子が種および動物間で保存されている程度に、その様々な対立遺伝子は、ウシ、ヒツジ、ニワトリなどの経済上のまたは食肉生産用の動物の多様性とだけでなく、特定の遺伝子の多様性とも相関していると予想される。種間で多型が保存されている例がある。例えば、Nonnemanらは近年、コンセンサスヒスチジンのアスパラギンへのアミノ酸変化を生じる、ブタTBG遺伝子のエキソン2中の多型を発見した。このSNPは成熟ポリペプチドのリガンド結合ドメイン中に存在し、メイシャンの対立遺伝子はヒト、ウシ、ヒツジおよび齧歯動物のTBGで見られる保存的対立遺伝子である。ヒトTBGのこの領域における突然変異は、熱安定性およびリガンドに対する親和性の減少をもたらす。機能の研究はTBGアイソフォームの改変された結合特性を示す（Plant & Animal Genomes XII Conference, 「Functional Validation of A Polymorphism for Testis Size on the Porcine X Chromosome」, January 10-14, 2004, Town & Country Convention Center, San Diego, CA）。さらにWinterらは、異なる品種における乳脂肪含量の増加がブタDGATによりコードされるタンパク質の232位のリシンと強く関連することを見出している。様々な植物種および動物種のDGAT1アミノ酸配列のアライメントは、ブタ配列の232位のリシン残基が保存されていることを示している（Winterら，Proc Natl Acad Sci U S A. July 9; 99 (14: 9300-9305 (2002)）。さらにウマにおいてクリーム色の毛色を生じさせるMATP遺伝子中の保存的突然変異が同定されている。この保存的突然変異はマウスおよびヒトでも記載されたが、メダカでは記載されなかった（Mariatら，Genet Sel Evol. Jan-Feb;35(1):119-33 (2003)）。

【０００６】

種を越えた遺伝子保存の例もある。基本的な生物学的プロセスに関与する多くの遺伝子は種が進化しても保存されている（すなわち多くの遺伝子は異なる種で類似している）。MC1-R遺伝子は色素沈着のほかには他の基本的機能を有しない十分に保存された遺伝子であることがわかっている。幾つかの種では、MC1-R遺伝子の突然変異は黒色色素の優性的な発現の原因となることが示されている（Klunglandら，Pigmentary Switches in Domestic Animal Species Annals of the New York Academy of Sciences, 994:331-338 (2003)）。特定のタンパク質－DNA相互作用がグルココルチコイドレセプタータンパク質（GCR）の結合部位の一塩基対変化によってブロックされることが見出された。さらに3種の推定ドメイン（ステロイド結合性、免疫反応性およびDNA結合性）の全てが2種の分岐種（ブタおよびラット）間で保存されていることが報告されている（Marksら，J Steroid Biochem

. Jun;24(6):1097-103 (1986))。

【０００７】

保存的な遺伝子順序の一例がSeroudeらによって説明されており（Mammalian Genomics, Jun; 10(6) 565-8 (1999))、そこでは筋肉中のグリコーゲン含量および肉質に対する大きな効果を有する、RN遺伝子を含む染色体15q2.3-q2.6領域の放射線ハイブリッドマップが構築された。10個のマイクロサテライトおよび8個の遺伝子がマッピングされた。彼らは、遺伝子AE3およびINHAの相対的な順序が、マウスの連鎖地図に照らして、ブタの物理的地図では逆転していたが、マウスにおいて既にマッピングされた他の遺伝子の順序はブタと一致していたことを見出した。更に彼らは、ブタ第15染色体とヒト染色体2qにおける遺伝子の順序に明確な差異がないことを見出した。動物の進化的な連鎖および比較ゲノミクスに基づいて、遺伝子中の変異が密接に連関した種間で機能的形質と関連するかまたは関連する可能性が高いかを決定することができる。

【０００８】

実際に、経済的な形質を遺伝的に改善する最良の手法は、関係のある染色体領域を見つけ出し、その後、選別対象の集団中で直接的に遺伝マーカーを発見することである。表現型の測定は育種団体の中核集団からの数個体の動物について連続的に行うことができる。表現型データを収集することにより、関係する遺伝マーカーの検出が可能となり、また実験集団を用いて同定されたマーカーの正当性を確認することまたは候補遺伝子を試験することが可能になる。

【０００９】

全ての遺伝子が、関連性研究において利用し得る、容易に同定可能な共通の機能的変異体を有するわけではなく、多くの遺伝子の場合、研究者は機能的重要性が知られていない個々のヌクレオチドの変化（すなわち一塩基多型（SNP））を同定しているにすぎない。それにも関わらず、SNPは染色体中の連鎖領域を絞り込むうえで有用であると考えられる。さらに、SNPは、連鎖不平衡によってその遺伝子内またはその遺伝子付近に位置づけられる場合には、量的形質との統計的に有意な関連性を示すかもしれない。

【００１０】

その後、意味のあるマーカーまたは遺伝子は直接選別プロセスに含めることができる。分子情報の利点は、育種動物のごく若い年齢でそれを予め得ることができる点であり、これは生育能力試験が完了する前にDNAマーカーに基づいて動物を前もって選別することができることを意味する。これは全体的な試験・選別系にとって非常に有利である。

【００１１】

どの遺伝子が複遺伝子性の形質または量的形質に寄与するかを判定する際に、多型は遺伝マーカーとしての使用が期待でき、適切なマーカーおよびこれらのマーカーを活用する適切な方法は、成長および肉質と関連する遺伝子と関係するように仕向けられ始めている。

【発明の開示】

【００１２】

前述の記載から理解されるように、遺伝子レベルで特性が改善された動物を同定し選別することによって、動物の経済的に有利な特性を改善するのに使用し得るゲノム領域と関連した、または該ゲノム領域と連鎖不平衡にある、遺伝的変異を同定するニーズが存在している。

【００１３】

本発明の別の目的は、存在する変異が育種家の関心をそそる表現型形質に対して量的効果を及ぼしている、遺伝子座を同定することである。

【００１４】

本発明の別の目的は、そのような遺伝的変異の存在を判定するための特異的なアッセイを提供することである。

【００１５】

本発明の更なる目的は、所望の形質についての選別および育種方法の精度を高める動物

の評価方法を提供することである。

【００１６】

本発明の更に別の目的は、そのような量的形質の変異に関するマーカーの存在の決定を大いに促進するPCR増幅試験を提供することである。

【００１７】

本発明の更なる目的および効果は、以下の記載に部分的に示され、また以下の記載から部分的に明らかとなり、あるいは本発明の実施から知り得ることである。本発明の目的および効果は、添付した特許請求の範囲で特に示された手段および組合せによって達成されるだろう。

【００１８】

発明の簡単な概要

本発明の方法は経済的に重要な形質と関連する遺伝子座と遺伝的に連鎖した核酸マーカーの使用に関する。このマーカーは、育種計画に用いられる動物および/または育種計画で開発された動物の遺伝物質の遺伝子マッピングに用いられ、マーカー利用選別によって選り抜きの生殖質(germplasm)を同定すること、または選り抜きの生殖質へ形質を移行させることを可能にする。本発明は、表現型形質に関連したゲノム領域と関連するかまたは連鎖不平衡にある、あるいはこれらと遺伝的に連鎖しているゲノム領域中の遺伝的変異の発見に関し、これは動物における表現型形質を予測するのに用いることができる。本発明の一実施形態に従って、第17染色体の特定領域が詳細マッピング（fine mapping）され、これらの領域は種々の形質についての量的形質遺伝子座であることが示された。すなわち、第17染色体の70～108cMの領域が成長形質についての量的形質遺伝子座として同定された。この領域内のより特定した領域が肉質および肥満について同定された。この領域に位置する更に数種の遺伝子は多型であり、その結果、これらのQTLの遺伝マーカーとして有用であることが示された。これにはPKIG、MMP9、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、AURKA、SPO11、RAE1、PCK1、RAB22A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3Dが含まれる。これらの遺伝子が種および動物間で保存されている程度に、本明細書に開示される様々な対立遺伝子もまた、ウシ、ヒツジ、ニワトリなどの他の経済上のまたは食肉生産用の動物におけるこれらの遺伝子の多様性と相関していると予想される。

【００１９】

本発明の一実施形態は、動物から組織または体液のサンプルを取得すること；サンプル中に存在するPKIG、MMP9、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、AURKA、SPO11、RAE1、PCK1、RAB22A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3Dをコードするヌクレオチド配列と連鎖する第17染色体の70～107cMの領域を含むDNAを増幅すること；ならびに肉質の表現型変異と関連する該ヌクレオチド配列の多型変異体の存在を検出することを含む、肉質形質と関連する対立遺伝子を同定する方法である。

【００２０】

本発明の別の実施形態は、動物をその肉質または成長形質に基づいて同定し、選別するのに使用し得る遺伝マーカーを決定する方法であって、動物からDNAを含む組織または体液のサンプルを取得すること；サンプル中に存在するDNAを第17染色体の領域において増幅すること、ここで該領域は、第1動物由来のサンプル中に存在するPKIG、MMP9、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、AURKA、SPO11、RAE1、PCK1、RAB22A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3Dを発現時にコードするヌクレオチド配列を含むものであること；サンプル中に存在する多型対立遺伝子の存在を、該サンプルと参照サンプルまたは参照配列との比較によって判定すること；動物における成長または肉質についての変異性と該多型対立遺伝子とを関連付けることを含み、その結果、該対立遺伝子を所与の群、集団または種において成長または肉質についての遺伝マーカーとして使用し得る、上記方法である。

【００２１】

本発明の更に別の実施形態は、動物を成長または肉質形質に対するその性向について同定する方法であって、動物由来の核酸サンプルを取得すること；サンプルに存在するPKIG、MMP9、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、AURKA、SPO11、RAE1、PCK1、RAB22A、GNA

S、CTSZおよびPPP1R3Dをコードする配列中の多型、またはこれらと連鎖不平衡にある多型によって特徴付けられる対立遺伝子の存在を判定することを含み、ここで前記遺伝子型は成長または肉質を示す形質と顕著に関連するものであるか、または顕著に関連することが示されたものである、上記方法である。

【００２２】

更なる実施形態は発明の詳細な説明および実施例に記載される。

【００２３】

好適な実施形態の詳細な説明

重要な遺伝子と密接に連鎖した遺伝マーカーを使用すると、直接的な表現型選別よりも効率的に、有利な対立遺伝子を間接的に選別することができる（LandeおよびThompson 1990）。したがって、商品として動物を育てて販売する動物育種家および農業従事者の両者にとって、遺伝子マッピングを介して成長、肉質および肥満などの様々な経済的に価値のある形質についての量的形質遺伝子座（QTL）を同定することは特に重要である。これらの形質と関連するQTLを知ることにより、動物育種家は遺伝子型特性および表現型特性を備える動物をより良く交配することができるだろう。本明細書において具体化されかつ広範に説明されるように、本発明の目的を達成するために、また本発明の目的に従って、本発明は代替的な染色体領域および遺伝子型の発見を提供し、これらは有利な成長、少ない脂肪蓄積および肉質形質を備えている可能性の高い動物を判定するために、またはあまり有利でない成長、より脂肪の多い劣った肉質形質および/または試料効率形質を示す対立遺伝子を有する動物に対比して選別するために、動物を遺伝的にタイピングし、かつ動物をスクリーニングする方法を提供する。本明細書に記載されるように、肉質への効果はpHまたはドリップ・ロス（drip loss）などの特定の識別子の使用により証明することもできるが、本発明はそのように限定されるものではない。本明細書で用いる場合、成長または肉質についての表現形質のある特定の指標（indicia）の使用は、指標のばらつきが肉質、成長または肥満に関して開示された対立遺伝子と関連している全ての指標を含むと解釈されるものとする。本明細書で使用される「有利な成長、肥満または肉質形質」は、所与の集団の平均を超える成長または肉質の測定可能な指標の一つが顕著に改善（増加または減少）していることを意味し、その結果、この情報を育種において使用して、これらの形質について最適化された均一の集団を得ることができる。これは、所望の特性に応じて、一部の形質の増加または別の形質の減少を含み得る。幾つかの経済的な形質の例の総説については以下を参照することもできる：Sosnicki, A.A., E.R. Wilson, E.B. Sheiss, A. deVries, 1998 「Is there a cost effective way to produce high quality pork?」, Reciprocal Meat Conference Proceedings, Vol. 51。

【００２４】

これらの形質のアッセイ方法は一般的に、1）動物由来の生物学的サンプルを取得するステップ；および2)ステップ1)で取得したゲノムDNAまたはタンパク質を分析して、どの対立遺伝子が存在するかを決定するステップを含む。ハプロタイプデータ、これは一連の連鎖多型を選別または同定プロトコールにおいて組み合わせてこれらのマーカーのそれぞれの有益性を最大にすることを可能にするものであるが、こうしたハプロタイプデータが使用されてもよく、これは本発明によって包含される。

【００２５】

幾つかの多型はそれぞれのタンパク質のアミノ酸組成の変化を含み得るし、またはこの変化の存在を示していると考えられるので、アッセイ方法は本発明の主効果遺伝子のタンパク質のアミノ酸組成を確認することを更に含み得る。このタイプの方法つまり精製および分析方法は、典型的には、タンパク質の抗体による蛍光タグ付け、タンパク質の分離および精製（すなわち逆相HPLC系による）、ならびに存在するアミノ酸配列を同定するための自動化タンパク質シーケンサーの使用、を含んでなる手法を介したタンパク質の単離を含む。このアッセイ用のプロトコールは当業界で標準的かつ公知であり、Ausubelら(編集), Short Protocols in Molecular Biology,第4版（John Wiley & Sons 1999）に開示される。

【００２６】
別の実施形態では、本発明は成長、肥満および肉質についての遺伝マーカーを同定する方法を含む。いったん主効果遺伝子が同定されれば、同遺伝子、対立遺伝子、または主効果遺伝子と有効な連鎖不平衡にある配列中に存在する別の変異を使用して、これらの形質に対する同様の効果を過度の実験をすることなく同定し得ると予想される。いったん主効果遺伝子が発見されると、他のそのような遺伝的変異の同定は、当業者に周知のパラメーターの普通以上のスクリーニングおよび最適化に相当し、本発明の範囲に含まれるものである。

【００２７】
以下の用語を用いて2つ以上の核酸またはポリヌクレオチド間の配列の関係を記載する：(a)「参照配列」、(b)「比較ウィンドウ」、(c)「配列同一性」、(d)「配列同一性％」および(e)「実質同一性」。

【００２８】
(a)本明細書で用いられる「参照配列」は、配列比較のための基礎として使用される規定の配列（この場合は参照配列）である。参照配列は特定された配列のサブセットまたは全体であってよく、例えば全長cDNAまたは遺伝子配列のセグメント、あるいは完全なcDNAまたは遺伝子配列である。

【００２９】
(b)本明細書で用いられる「比較ウィンドウ」は、ポリヌクレオチド配列の特定された連続するセグメントへの言及を含む。ここで、ポリヌクレオチド配列は参照配列と比較されてもよく、また比較ウィンドウ中のポリヌクレオチド配列の部分は、2つの配列の最適なアライメントのために参照配列（付加または欠失を含まない）と比較して付加または欠失（すなわちギャップ）を含んでもよい。一般的に、比較ウィンドウは少なくとも20個連続したヌクレオチドの長さであり、場合により30、40、50、100またはそれ以上であり得る。当業者には理解されるように、ポリヌクレオチド配列にギャップを加えたことに起因する参照配列との高い類似性を回避するために、典型的にはギャップペナルティが導入されて、マッチした数から差し引かれる。

【００３０】
比較のための配列アライメント方法は当業界で周知である。比較のための配列の最適アライメントは下記アルゴリズムにより行うことができる。すなわち、SmithおよびWatermanの局部的相同性アルゴリズム（Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)）；NeedlemanおよびWunschの相同性アライメントアルゴリズム（J. Mol. Biol. 48:443 (1970)）；PearsonおよびLipmanの類似性検索方法（J. Mol. Biol. 48:443 (1970)）；これらのアルゴリズムのコンピューターによる実行（例えばIntelligenetics(Mountain View, California)によるPC/Geneプログラム中のCLUSTAL；Wisconsin Genetics Software Package中のGAP、BESTFIT、BLAST、FASTAおよびTFASTA（Genetics Computer Group (GCG), 575 Science Dr., Madison, Wisconsin, USA）が含まれるがこれらに限定されない）、上記CLUSTALプログラムは、HigginsおよびSharp（Gene 73:237-244 (1988)）、HigginsおよびSharp（CABIOS 5:151-153 (1989)）、Corpetら（Nucleic Acids Research 16:10881-90 (1988)）、Huangら（Computer Applications in the Biosciences 8:155-65 (1992)）、ならびにPearsonら（Methods in Molecular Biology 24:307-331 (1994)）によって十分に記載されている。データベース類似性検索に使用することができるBLASTファミリーのプログラムには以下のものが含まれる：ヌクレオチド照会配列対ヌクレオチドデータベース配列用のBLASTN；ヌクレオチド照会配列対タンパク質データベース配列用のBLASTX；タンパク質照会配列対タンパク質データベース配列用のBLASTP；タンパク質照会配列対ヌクレオチドデータベース配列用のTBLASTN；およびヌクレオチド照会配列対ヌクレオチドデータベース配列用のTBLASTX。Current Protocols in Molecular Biology, 19章, Ausubelら編, Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York (1995)を参照されたい。

【００３１】
特に明記しない限り、本明細書で提供される配列同一性/類似性の値は、BLAST 2.0プロ

グラムパッケージソフト（デフォルトのパラメーターを用いる）を用いて得られる値を指す（Altschulら，Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997)）。BLAST分析を実行するためのソフトウェアは、例えばNational Center for Biotechnology-Information (http://www.hcbi.nlm.nih.gov/)を介して公共的に利用可能である。

【００３２】

このアルゴリズムは、照会配列中の長さWの短い文字列（word）を同定することによって、データベース配列中の同一の長さの文字列とアライメントさせたときに、ある正の数の閾値スコアTと一致するかまたはこれを満たすハイ・スコアリング・シーケンス・ペア（high scoring sequence pairs: HSP）を最初に同定することを含む。Tは文字列スコア閾値（neighborhood word score threshold）と称する（Altschulら、前掲）。これらの最初の文字列ヒットは、これらを含むより長いHSPを見出す検索を開始するための種（seed）として働く。続いて、文字列ヒットを、累積アライメントスコアが増加し得る所まで各配列に沿って両方向に延長させる。累積スコアは、ヌクレオチド配列については、パラメーターM（一致する残基のペアについての報酬スコア；常に0より大きい）とN（不一致の残基についてのペナルティスコア；常に0より小さい）を用いて算出される。アミノ酸配列については、スコアマトリックスを用いて累積スコアを算出する。各方向での文字列ヒットの延長は次の場合に中止する。すなわち、累積アライメントスコアがその獲得した最大値から量Xだけ減少する場合、累積スコアが1以上の負のスコアリング残基アライメントの蓄積に起因して0以下になる場合、またはいずれか一方の配列の末端に達する場合である。BLASTアルゴリズムのパラメーターW、TおよびXはアライメントの感度と速度を決定する。BLASTNアルゴリズム（ヌクレオチド配列用）はデフォルトとしてワード長（W）11、期待値（E）10、カットオフ100、M=5、N=－4、および両鎖の比較を用いる。アミノ酸配列用のBLASTPプログラムはデフォルトとしてワード長（W）3、期待値（E）10、およびBLOSUM62スコアリングマトリックス（Henikoff & Henikoff (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915）を用いる。

【００３３】

配列同一性％を算出することに加えて、BLASTアルゴリズムは2つの配列間の類似性の統計学的分析も行う（例えばKarlin & Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787 (1993)を参照のこと）。BLASTアルゴリズムによって提供される類似性の1つの尺度は最小合計確率（P(N)）であり、これは2つのヌクレオチド配列またはアミノ酸配列間での一致が偶然に生じる確率の示度を与える。

【００３４】

BLAST検索はタンパク質をランダムな配列としてモデル化し得ると仮定する。しかし、多くの現実のタンパク質は、ホモポリマー・トラクト（homopolymeric tract）、短周期反復配列（short-period repeats）、または1個もしくは複数個のアミノ酸で富化された領域であり得る非ランダム配列の領域を含む。このような複雑度の低い領域は、たとえそのタンパク質の他の領域がまったく似通っていなくても、無関係なタンパク質同士でアライメントすることができる。いくつかの低複雑度フィルタープログラムを用いると、そのような低複雑度アライメントを減少させることが可能である。例えばSEG（WootenおよびFederhen, Comput. Chem., 17:149-163 (1993)）およびXNU（ClaverieおよびStates, Comput. Chem., 17:191-201 (1993)）低複雑度フィルターを単独で、あるいは組み合わせて使用することができる。

【００３５】

(c)本明細書で用いられる2つの核酸またはポリペプチド配列における「配列同一性」あるいは「同一性」は、特定された比較ウィンドウ上で最も一致するようにアライメントさせたときに同一となる、2つの配列中の残基を指すことを含む。配列同一性％がタンパク質に関して使用される場合、同一でない残基の位置が保存的アミノ酸置換（アミノ酸残基が類似の化学的特性（例えば電荷または疎水性）を有する別のアミノ酸残基に置換され、その結果、分子の機能的特性が変化しない）によってしばしば異なることが認められる。配列が保存的置換で異なる場合、配列同一性％は置換の保存的性質について訂正するため

に上方修正され得る。そのような保存的置換によって相違する配列は「配列類似性」または「類似性」を有すると言われている。この修正を行う方法は当業者に周知である。典型的には、これは保存的置換を完全ミスマッチではなく部分的ミスマッチとしてスコアリングすることを含み、それにより、配列同一性％が増加される。したがって、例えば同一のアミノ酸にスコア1が与えられ、非保存的置換にスコア0が与えられる場合には、保存的置換に0と1の間のスコアが与えられる。保存的置換のスコアリングは、例えばプログラムPC/GENE(Intelligenetics, Mountain View, California, USA)において実行されるMeyersおよびMillerのアルゴリズム（Computer Applic. Biol. Sci., 4:11-17 (1988)）に従って算出される。

【００３６】

(d)本明細書で用いられる「配列同一性％」は、比較ウィンドウ上で最適にアライメントされた2つの配列を比較することによって決定された値を意味し、ここで、比較ウィンドウ中のポリヌクレオチド配列の部分は、2つの配列の最適アライメントのために、参照配列（付加または欠失を含まない）と比較して付加または欠失（すなわちギャップ）を含み得る。配列同一性％を算出するには、両方の配列中に存在している同一の核酸塩基またはアミノ酸残基の位置数を数えて一致する位置数を決定し、一致する位置数を比較ウィンドウ中の位置の総数で割算し、得られた数値に100を掛け算して配列同一性％を得る。

【００３７】

(e)(I)ポリヌクレオチド配列の「実質同一性」という用語は、ポリヌクレオチドが、記載されるアライメントプログラム（標準パラメーターを用いる）の一つを用いて参照配列と比較して、少なくとも70％、好ましくは少なくとも80％、より好ましくは少なくとも90％、最も好ましくは少なくとも95％の配列同一性を有する配列を含むことを意味する。当業者であれば理解されるように、コドンの縮重、アミノ酸の類似性、読み枠の位置決定等を考慮することによってこれらの値を適切に調整して、2つのヌクレオチド配列によりコードされるタンパク質の対応する同一性を決定することができる。この目的のために、アミノ酸配列の実質同一性は通常、少なくとも60％、または好ましくは少なくとも70％、80％、90％、そして最も好ましくは少なくとも95％の配列同一性を意味する。

【００３８】

これらのプログラムおよびアルゴリズムにより、本明細書に開示される多型と標的遺伝子中の特定の多型との類似性を確かめることができる。この多型が他の動物にも存在し、本明細書に開示したもの以外の他の動物における該多型の使用には、本明細書の教示を用いたルーチンなパラメーター最適化のみが必要であると予想される。

【００３９】

代替DNAマーカーの特定の対立遺伝子と、特定の遺伝子（例えば本明細書で議論される遺伝子）と関連することが知られているDNAマーカーの対立遺伝子（これらは以前に特定の形質と関連することが示されている）との間の関連性を確立することも可能である。したがって、この場合に、これらの遺伝子の一方または両方を利用して、少なくとも短期間で、望ましい形質を発現しそうな動物を選択することは可能であろうし、あるいはまた、代替染色体マーカーの特定の対立遺伝子の選別を介して関連マーカーの特定の対立遺伝子を選別することによって、間接的に、あまり望ましくない形質を発現しそうな動物に対比して選抜することが可能であろう。本明細書で用いられる「遺伝マーカー」という用語は、多型と関連したタンパク質変化をアッセイする任意の手段によって明らかにされたヌクレオチド多型（たとえそれらが同一の染色体領域中の連結された遺伝マーカーであるとしても）のみならず、マイクロサテライトの使用、あるいはマーカーおよび動物の形質に影響を与えるための該マーカーの使用によって示された原因タンパク質変化をアッセイする別の手段によってさえも明らかにされるヌクレオチド多型を含むものである。

【００４０】

本明細書で用いられるように、特定の多型は、しばしば特定の制限酵素の名称によって呼称される。これは、その部位を同定し得る唯一の方法がその制限酵素の使用によって行われることを意味するものではない。特定の多型の同定に使用することができる他の制限

酵素を同定するために、当業者が利用可能な非常に多くのデータベースおよび供給源が存在し、例えばhttp://darwin.bio.geneseo.eduは、配列の解析の際の制限酵素および同定されるべき多型を与えることができる。実際に、本明細書に開示されるように、同一の遺伝子またはタンパク質の選択的形態をアッセイするための、制限酵素を含まなくてもよい代替方法を用いて、特定の多型または対立遺伝子を同定する方法が多数存在する。

【００４１】

本発明は、開示される配列および保存的に改変されたその変異体の全てを包含するものである。本明細書で使用される用語PKIG、MMP9、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、AURKA、SPO11、RAE1、PCK1、RAB22A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3Dは、これらの保存的に改変された変異体を含むものと解釈すべきである。「保存的に改変された変異体」という用語は、アミノ酸配列と核酸配列の両方に当てはまる。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された変異体は、同一のアミノ酸配列または保存的に改変されたそのアミノ酸配列の変異体をコードする核酸を指す。遺伝子コードの縮重により、非常に多くの機能的に同一の核酸が特定のタンパク質をコードする。例えば、コドンGCA、GCC、GCGおよびGCUは全てアミノ酸のアラニンをコードする。したがって、あるコドンによって特定されるアラニンのどの位置においても、そのコドンを、コードされるポリペプチドを変えることなく、記載される対応コドンのいずれかに変えることができる。このような核酸変異は「サイレント変異」であり、保存的に改変された変異体の一種を表す。ポリペプチドをコードする本明細書中の核酸配列はどれも、遺伝子コードを参照して、その核酸のあらゆる可能なサイレント変異をも記載するものとする。当業者であれば、核酸中の各コドン（AUG（通常はメチオニンの唯一のコドンである）およびUGG（通常はトリプトファンの唯一のコドンである）を除く）を改変して機能的に同一の分子を取得しうることを理解するであろう。したがって、本発明のポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、記載される各ポリペプチド配列に潜在的に含まれており、本発明の範囲内である。

【００４２】

アミノ酸配列に関して、当業者には理解されるように、核酸、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質配列に対する個々の置換、欠失または付加（コード配列中の単一のアミノ酸またはわずかな割合のアミノ酸を変化、付加または欠失させる）は、「保存的に改変された変異」であり、この場合には該改変があるアミノ酸の化学的に類似するアミノ酸による置換をもたらす。したがって、1～15からなる整数の群から選択される任意の数のアミノ酸残基をそのように改変することができる。こうして、例えば1、2、3、4、5、7または10個の改変を行うことができる。一般的には、保存的に改変された変異体は、それらが由来する未改変のポリペプチド配列と類似する生物学的活性を与える。例えば、基質特異性、酵素活性、またはリガンド/レセプター結合性は一般的に、その天然の基質に対して天然タンパク質の少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%または90%である。機能的に類似のアミノ酸を提供する保存的置換表は当技術分野で周知である。

【００４３】

コードされるアミノ酸の保存的置換には、例えば以下の群に属するアミノ酸が含まれる：(1)非極性アミノ酸（Gly、Ala、Val、LeuおよびIle）；(2)極性の中性アミノ酸（Cys、Met、Ser、Thr、AsnおよびGln）；(3)極性の酸性アミノ酸（AspおよびGlu）；(4)極性の塩基性アミノ酸（Lys、ArgおよびHis）；ならびに(5)芳香族アミノ酸（Phe、Trp、TyrおよびHis）。

【００４４】

当業者であれば、置換の中には、ポリペプチドの特性または性質を実質的に変化させる程度にそのポリペプチドの活性を変化させない置換もあることが理解されよう。「保存的置換」は、あるアミノ酸が同様の性質を有する別のアミノ酸で置換されるものであり、その結果、ペプチド化学の当業者はポリペプチドの二次構造およびハイドロパシー性が実質的に変化しないことを予期しうる。本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドの構造を改変してもよく、それでもなお、所望の特性、例えば肉質/成長などの特性を有するポリペプチド変異体または誘導体をコードする機能的な分子が得られる。ポリペプチドのア

ミノ酸配列を改変して本発明のポリペプチドの同等物、または変異体もしくは一部を作製することが望まれる場合、当業者は一般的に、表1（下記を参照）に従ってコードDNA配列のコドンの1個以上を変えるであろう。例えば、タンパク質構造において、認めうるほどの活性の低下を伴わずに特定のアミノ酸を別のアミノ酸に置換し得る。タンパク質の生物学的機能活性を規定するのはタンパク質の相互作用能および性質であるため、タンパク質配列（そしてもちろんその基礎となるDNAコード配列）において特定のアミノ酸配列置換を行うことができ、それにも関わらず同様の特性を有するタンパク質を得ることができる。したがって、開示された組成のペプチド配列、または該ペプチドをコードする対応のDNA配列において、その生物学的な有用性または活性の認めうるほどの低下を伴わずに、様々な変化をなし得ると考えられる。縮重コドンとは、同一のアミノ酸を指定するために異なる3文字のコドンが用いられることを意味する。例えば、それぞれの特定のアミノ酸をコードするために以下のRNAコドン（それゆえにUがTで置換された対応のDNAコドン）を交換可能に用いることができることは当技術分野で周知である：

【表１】

アミノ酸	コドン
フェニルアラニン(Phe またはF)	UUU、UUC、UUA またはUUG
ロイシン(Leu またはL)	CUU、CUC、CUA またはCUG
イソロイシン(Ile またはI)	AUU、AUC またはAUA
メチオニン(Met またはM)	AUG
バリン(Val またはV)	GUU、GUC、GUA、GUG
セリン(Ser またはS)	AGU またはAGC
プロリン(Pro またはP)	CCU、CCC、CCA、CCG
トレオニン(Thr またはT)	ACU、ACC、ACA、ACG
アラニン(Ala またはA)	GCU、GCG、GCA、GCC
トリプトファン(Trp)	UGG
チロシン(Tyr またはY)	UAU またはUAC
ヒスチジン(His またはH)	CAU またはCAC
グルタミン(Gln またはQ)	CAA またはCAG
アスパラギン(Asn またはN)	AAU またはAAC
リシン(Lys またはK)	AAA またはAAG
アスパラギン酸(Asp またはD)	GAU またはGAC
グルタミン酸(Glu またはE)	GAA またはGAG
システイン(Cys またはC)	UGU またはUGC
アルギニン(Arg またはR)	AGA またはAGG
グリシン(Gly またはG)	GGU、GGC、GGA またはGGG
終止コドン	UAA、UAG またはUGA

【００４５】

本発明の一実施形態は、動物において経済的に価値のある形質の遺伝マーカーに関する。このマーカーは、成長および/または肉質と顕著に関連した多型変異または対立遺伝子を表し、そのため所望の形質をもたらす可能性のある動物を決定するための動物のスクリーニング方法が提供される。本明細書で用いられる「マーカー」という用語は、量的形質遺伝子座と連鎖し得る検出可能な多型変異体を含むものとし、そのためQTLにおける特定の形質をアッセイするのに有用である。

【００４６】

したがって、本発明は遺伝マーカー、ならびに特定の品種、系統、集団または群の動物においてこれらのマーカーを同定する方法に関する。その結果、動物は所望の食肉、成長または肥満の形質をもたらす可能性がより高くなる。

【００４７】

第17染色体における肉質、肥満および成長形質との遺伝的関連性

本明細書に記載される遺伝的解析により第17染色体における肉質、肥満および成長形質との遺伝的関連性が発見された。この関連性は、動物における有利な肉質、肥満および成長形質と関連した、相当な効果サイズの1以上の染色体領域/DNAセグメントまたは遺伝子の位置として第17染色体を同定する。特に第17染色体は有利な肉質、肥満および成長形質と関連する少なくとも1つのDNAセグメントまたは遺伝子を含むものとして同定される。

【００４８】

本明細書に開示された遺伝マーカー/多型と肉質、肥満および成長形質との関連性の知見は、次のことを示している。すなわち、所与の集団の平均を超える成長、肥満または肉質の測定可能な指標（indicia）の１つの有意な改善を直接的にもたらすか、またはそのような改善を与える、1以上の肉質および成長形質の染色体領域/DNA断片あるいは肉質および成長形質の遺伝子が第17染色体上に存在している。

【００４９】

したがって、第17染色体における成長、肥満または肉質との有意な関連性によって証明されるような、第17染色体上の1以上の成長、肥満、または肉質に関連した遺伝子の発見は、本明細書に記載される遺伝解析法のための基礎を提供し、このような遺伝解析法には、肉質、肥満および成長形質と関連する対立遺伝子の同定方法；動物をその肉質または成長形質に基づいて選別する使用可能な遺伝マーカーの決定方法；成長、肥満または肉質形質の性向についての動物の同定方法が含まれる。

【００５０】

成長、肥満または肉質形質と関連する遺伝マーカー

肉成長または肉質形質と関連する遺伝マーカーが本明細書で提供される。このマーカーはブタの第17染色体上に位置する。特定の実施形態では、PKIG、MMP9、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、AURKA、SPO11、RAE1、PCK1、RAB22A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3Dで見出された遺伝マーカーは、本明細書に開示される形質のSSC17 QTLピークの下にマッピングされた。これらのマーカーは、本明細書に記載されるかまたは当業者に公知の連鎖不平衡あるいは関連性評価方法を介して同定することができ、そのような評価方法で試験したときに、染色体領域/DNAセグメントもしくは遺伝子との連鎖不平衡、または成長、肥満もしくは肉質との関連性、を表すスコアあるいは結果を与える。遺伝マーカーは、別個のマーカーとして成長もしくは肉質と関連しており、かつ/またはハプロタイプのように組み合わせで成長もしくは肉質と関連している。

【００５１】

ブタ第17染色体上の遺伝マーカー

遺伝マーカーは染色体において特定可能な位置を有するDNAセグメントである。遺伝マーカーは、例えば目的のDNA配列の染色体位置または遺伝子座を突き止めたり、また被験者が特定の形質を有する素質があるかまたは特定の形質を有するかを決定したりなど、様々な遺伝的研究において使用することができる。

【００５２】

染色体上で比較的近接しているDNA配列は一緒に遺伝する傾向があるので、集団の世代を通して遺伝マーカーを追跡し、その遺伝を目的の別のDNA配列の遺伝と比較することにより、目的のDNA配列の染色体上の相対的位置を決定するのに有用な情報を得ることができる。そのような遺伝的研究に特に有用な遺伝マーカーは多型性のものである。かかるマーカーはまた、無作為に選別した動物がヘテロ接合性であるという合理的な蓋然性を可能にするのに十分なレベルのヘテロ接合性を有し得る。

【００５３】

特定のDNA配列（例えば遺伝子）の異型の出現を多型と称する。変異が起こっているDNAセグメントの領域を多型領域または多型部位と称してもよい。多型領域は、1個の塩基（一塩基多型またはSNP）であってもよいし（例えば異なる対立遺伝子におけるように、塩基の正体が異なっている）、あるいは長さが2個以上の塩基であってもよい。例えば、DNA配列の異型は、1塩基以上の挿入または欠失、繰り返された配列の挿入、配列の逆転、あ

るいは1塩基の異なる塩基への変換によって相違し得る。各動物は、特定の配列の2つの異なる形態またはこの配列の2つの同一の形態を保有することができる。

【００５４】

特定のDNA配列の多型間の差異は様々な方法で検出し得る。例えば、多型が制限酵素部位を生成または欠失するようなものである場合、そのような差異は特定のDNA配列を認識する制限酵素を使用することによって追跡し得る。制限酵素はその特定の認識配列中の部位でDNAを切断（消化）し、DNA断片の集合物を生じる。制限酵素によって認識される配列を認識されないものへと改変させる変化がDNA配列中に存在する場合には、この領域の制限酵素消化により生成されたDNA断片は異なるサイズのものであろう。したがって、所与の領域に由来する種々の可能な断片サイズは、この領域におけるDNAの正確な配列に依存する。生成された断片のばらつきは「制限断片長多型」（RFLP）と称される。変異DNA配列を反映する異なるサイズの断片を視覚化するには、消化したDNAをそのサイズに従ってアガロースゲル上で分離し、標識した（例えば放射性標識した、またはその他の方法で標識した）DNA「プローブ」とアニーリングしてそれぞれの断片を視覚化することにより行うことができる。

【００５５】

PCR-RFLPは、大まかに言って、研究対象のDNAを取得し、該DNAを増幅し、制限エンドヌクレアーゼで該DNAを消化し、生じた断片を分離して、様々な遺伝子の断片を検出することを含む技術である。PCR-RFLPの使用は本明細書で開示される多型を検出する好適な方法である。しかし、RFLP分析の使用は最終的に核酸分子に沿う多型およびDNA制限部位に依存するため、多型を検出する別の方法を用いることもでき、こうした方法も本発明において意図される。このような方法には、多型遺伝子産物を分析し、遺伝子産物中に生じた差異を検出することによって多型を検出する方法が含まれる。

【００５６】

SNPマーカーはまた、詳細マッピングおよび関連性解析、ならびに連鎖解析において使用することもできる（Kruglyak (1997) Nature Genetics 17:21-24を参照）。１個のSNPは情報の内容が限られているが、SNP（約100～300塩基ごとに独立的に生じる）の組合せはインフォーマティブなハプロタイプをもたらしうる。SNPデータベースが利用可能である。SNPを決定するためのアッセイ系には次のものが含まれる。すなわち、標識された増幅DNAをハイブリダイズさせる合成ヌクレオチドアレイ（例えばLipshutzら(1999) Nature Genet. 21:2-24を参照）、一塩基プライマー伸長法（Pastinenら(1997) Genome Res. 7:606-614）、タグ付けしたビーズ上での質量分析、および対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドがSNP対立遺伝子の位置で切断または連結されて、結果的に蛍光レポーター系の活性化を生じる溶液アッセイ（例えばLandegrenら(1998) Genome Res. 8:769-776を参照）。

【００５７】

第17染色体

ブタの第17染色体は十分に保存されている（ヒトの第20染色体およびマウスの第2染色体と相同）。

【００５８】

遺伝的関連性

2つの遺伝子座が非常に近接する場合、これらの間での組換えは非常に稀であり、2つの隣接する遺伝子座の組換え速度は非常に遅いものであり得るため、多くの世代を経ない限り観察することができない。生じる対立遺伝子の関連性を一般的には連鎖不平衡と称する。連鎖不平衡は、集団中の対立遺伝子頻度から期待されるものよりも多い頻度で、ある染色体上で一緒に観察される2以上の遺伝子座の特定の対立遺伝子として定義することができる。連鎖不平衡の結果として、形質の原因対立遺伝子を保有するハプロタイプに存在する他の全ての対立遺伝子の頻度も、形質陰性の集団または無作為の対照集団における頻度と比較して、（形質の原因対立遺伝子が、影響を受けたまたは形質陽性の集団では増加しているように）増加するであろう。したがって、形質と、形質の原因対立遺伝子と連鎖不

平衡にある任意の対立遺伝子と、の関連性は、染色体の特定領域における形質関連DNAセグメントの存在を示唆するのに十分であろう。これに基づき、関連性の研究は、動物における肉質および成長形質と関連する対立遺伝子を同定するための、本明細書に開示されるような、位置決めおよび発見方法において使用される。

【００５９】

マーカー遺伝子座は、連鎖不平衡が遺伝子座間に存在するためには、形質遺伝子座としっかりと連鎖している必要がある。特に、遺伝子座は、認めうるほどの連鎖不平衡（関連性研究に有用であり得る）を有するように極めて接近して存在しなければならない。関連性研究は、隣接したDNA変異体が歴史上の祖先において多くの世代にわたって保持されることを当てにしたものであり、したがって、形質関連領域は非近交系の無作為交配集団においては理論的に小さくなる。

【００６０】

形質に対する遺伝的寄与を検出するための遺伝的関連性解析の力は、連鎖研究の力よりも相当に卓越したものであり得る。連鎖解析は領域を排除する力またはわずかな効果を有する遺伝子座を検出する力の欠如により制限されることがある。関連性の試験は連鎖解析によっては検出し得ない、より小さな効果を有する遺伝子座を検出することが可能である（RischおよびMerikangas (1996) Science 273:1516-1517）。

【００６１】

関連性研究の目的は、表現形質と関連した遺伝子の遺伝的変異を見つけ出すために使用する場合には、表現型と相関する特定の遺伝的変異体を集団レベルで同定することである。集団レベルでの関連性は、遺伝子またはDNAセグメントを同定する方法において用いることができるが、それは、特定のマーカーが形質の基礎を成す機能的変異体（すなわち、特定の形質を引き起こすことに直接関与する多型）であるのか、または染色体上の形質遺伝子と極端に近接しているのか、の指標を提供するからである。表現形質との関連性について解析されるマーカーが機能的変異体である場合には、関連性はその遺伝子型が表現型に及ぼす直接的な影響の結果である。関連性について解析されるマーカーが特徴のないマーカーである場合には、関連性の存在はそのマーカーと機能的変異体の間の連鎖不平衡の結果である。

【００６２】

連鎖不平衡の指標として遺伝的関連性を評価するために一般的に使用される方法がいくつかあり、これには無関係の動物の症例-対照(case-control)研究および家系対照(family-based control)を用いた方法が含まれる。症例-対照の設計は比較的単純であるが、形質と偽関連（すなわち、連鎖なしに関連）していることが判明するDNA変異体を同定する傾向が大きい。偽関連性は、連鎖不平衡によるのではなく、研究集団の構造に起因し得る。しかし、そのような偽関連する対立遺伝子変異体の連鎖解析は、変異体の家族性分離（familial segregation）が存在しないと考えられるので、有意な連鎖の証拠を検出しないであろう。したがって、マーカー対立遺伝子と症例-対照研究において同定された肉質、肥満および成長形質との間の推定上の関連性は、確かでありうる連鎖不平衡の結論を出す前に、マーカーと疾患との連関の証拠について試験すべきである。標準的な症例-対照研究の問題の一部を回避する関連性試験は、影響を受けた子孫には伝達されない親の対立遺伝子またはハプロタイプが対照として使用される家系対照を利用する。

【００６３】

遺伝子座の特性である遺伝的連鎖とは対照的に、遺伝的関連性は対立遺伝子の特性である。関連性解析は、単一の特定の対立遺伝子と（個々の群内の形質のみならず）集団にわたる形質との相関関係を確認することを含む。したがって、関連性の研究を通じて肉質、成長または肥満に関連する対立遺伝子と連鎖不平衡にあることが見出された特定の対立遺伝子は、動物におけるその形質を発現する素質または該形質の存在を決定する方法の基礎を築くことができる。このような方法は対立遺伝子の相（phase）の決定を含まないと考えられ、したがって、この方法で選別し得る動物に関して制限されないであろう。

【００６４】

肉質、成長または肥満形質と関連する遺伝マーカーの同定方法

本明細書では、動物をその肉質または成長形質に基づいて同定し、選択するのに使用し得る遺伝マーカーを決定する方法も提供される。この方法は肉質または成長形質との関連性について第17染色体上の多型マーカーを試験するステップを含む。試験は、多型マーカーに関して動物由来のDNA（おそらく所与の群、集団または種における肉質または成長形質の遺伝マーカーとして使用される）を遺伝子型タイピングすること、および本明細書に記載される方法および/または当業者に公知の方法を用いて肉質または成長形質との関連性について遺伝子型タイピングデータを分析することを含みうる。

【００６５】

候補遺伝子のアプローチ

候補遺伝子のアプローチは典型的には、生物学的プロセスに関与することが想定し得るタンパク質をコードする遺伝子を選択するための基礎として、疾患の生物学的プロセスの知識を考慮に入れる。例えば血圧疾患の妥当な候補遺伝子はレニン-アンギオテンシン系に関与するタンパク質および酵素であり得る。候補遺伝子は、候補遺伝子領域中のマーカーの連鎖および/または関連性研究によって、可能性のある疾患遺伝子として遺伝的に評価することができる。

【００６６】

肉質、肥満および/または成長の候補遺伝子の同定方法

肉質、肥満および/または成長の候補遺伝子を同定する方法は、肉質、肥満もしくは成長における1以上の現象に関係する特性を1つ以上有する産物であるかまたは該産物をコードする第17染色体上の遺伝子を選別するステップを含む。図6は第17染色体上に位置する多くの遺伝子のリストを提供する。第17染色体にマッピングされている追加の遺伝子も知られている。したがって、第17染色体上の遺伝子は、例えば遺伝子もしくはその産物の機能および/または肉質と成長におけるそれらの出現もしくは変化に関する知識に基づいて、可能性のある候補遺伝子として評価し得る。

【００６７】

肉質、肥満および成長の現象に関係する特性

本明細書で提供される肉質および成長の候補遺伝子を同定する方法においては、肉質および成長の1以上の現象に関係する特性を有する産物であるかまたはこれをコードする第17染色体上の遺伝子（特定の実施形態では、本明細書に記載される第17染色体の特定の領域）が選別される。この特性は遺伝子または遺伝子産物のどのような様相または特徴であってもよく、例えば、限定するものではないが、その物理的組成（例えば、核酸、アミノ酸、ペプチドおよびタンパク質）、機能的属性（例えば、酵素触媒などの酵素的能力、酵素阻害などの阻害的機能、抗原性、およびレセプターまたはリガンドなどの結合能力）、細胞位置、発現パターン（例えば、それと関連する細胞および組織における発現）、および/または別の組成物との相互作用が含まれる。

【００６８】

肉質、肥満および成長の候補遺伝子を同定する方法において選別される遺伝子または遺伝子産物の特性は、肉質および成長における1以上の現象に関係するものである。このような現象は、広範囲に記載されかつ当業者に公知であって、多数存在しているが、形態的、構造的、生物学的および生化学的な発生が含まれる。本明細書で記載されるように、肉質に対する効果はpHまたはドリップ・ロス（drip loss）などの特定の識別子の使用を介して証明し得る。

【００６９】

本発明の候補遺伝子

一般的に、多型マーカーの関連性解析を用いた形質遺伝子の同定のための候補遺伝子アプローチでは、形質候補遺伝子（特に機能的重要性が仮定されたもの）の周辺または該遺伝子内の1個または数個のマーカーが、数百の症例動物および対照動物において遺伝子型タイピングされる。

【００７０】

候補遺伝子機能に関して関連する対立遺伝子の具体的な特徴は、通常、関連する対立遺伝子と形質との関係（原因であるかまたは連鎖不平衡にある）に更なる見識を与える。候補遺伝子内の関連する対立遺伝子が、形質の原因となる対立遺伝子ではない公算が非常に高いが、実際の形質原因対立遺伝子と連鎖不平衡にあることが証拠により示される場合は、関連マーカーの近傍を配列決定して、反復的に明らかにされる多型との更なる関連性研究を行なうことによって、形質の原因となる対立遺伝子を見つけ出すことができる。

【００７１】

本発明の発明者らは、ブタの肉質、肥満および成長形質に対する候補遺伝子アプローチを部分的に用いてきた。ブタの肉質および成長速度を制御する、これまでに知られている遺伝子の数は少ないが、これらの個々の効果は大抵の場合に大きいものである。多くの場合、それは、多型または突然変異が動物の機能に対して有している大きな効果を観察できるためである。このような遺伝子および有力な候補と思われる別の遺伝子から、本発明者らは本明細書に開示される候補遺伝子を選別した。候補遺伝子の解析は、候補遺伝子がその生物学的または生理学的経路においてもっともらしい役割を果たすとき、特定の表現形質に関係した遺伝子および遺伝子多型を同定するための手っ取り早い方法を明確に提供する。ヒトまたはマウスの形質に対する突然変異効果の基礎は、家畜の対応する形質における同遺伝子の役割を示唆する。

【００７２】

本発明に従って、PKIG、MMP9、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK、MC3R、AURKA、SPO11、RAE1、PCK1、RAB22A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3D遺伝子は全て主効果遺伝子として同定され、これらの遺伝子の多様性は動物（特にブタ）における食肉生産または成長形質の表現形質と関連することが示された。したがって、表現型変異を予示するこれらの遺伝子内の変異または該遺伝子と連鎖した変異についてのスクリーニング方法が開発され得る。

【００７３】

オリゴヌクレオチドは、一塩基多型（SNP）の検出および遺伝子型タイピング用の特定のオリゴヌクレオチドを設計する前に、配列のためのゲノムDNAのPCR増幅において用いた。PCR条件は実施例の項で説明される。

【００７４】

多型の検出は制限断片長多型の検出により実施した。PKIG、MMP9、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、AURKA、SPO11、RAE1、PCK1、RAB22A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3Dの遺伝子型タイピングは、PCR増幅したDNA断片（PCR-RFLP）中の多型部位に制限部位が存在するか否かに基づいていた。遺伝子型は電気泳動ゲルで分離された産物に従って同定した。

【００７５】

突然変異は配列番号＿で指定されるブタCTSZ遺伝子のエキソン2で検出された。RFLPはアミノ酸変化（リシンからアルギニンへ）を引き起こすA/G置換を検出する。Alw NIによる増幅したCTSZ断片の消化は、図2Aに示されるRFLPをもたらした。ホモ接合の対立遺伝子1の遺伝子型は330塩基対（bp）の制限断片を生じたが、ホモ接合の対立遺伝子2の遺伝子型は260および206bpの制限断片を生じた。ヘテロ接合12の遺伝子型は330、260および70bpの3種類全ての断片を示した。

【００７６】

T/C置換は配列番号＿で指定されるGNASのイントロン7で検出された。RFLPはコード領域のエキソン1にT/C置換を検出するが、アミノ酸の変化は生じない。Bbs Iによる消化は図2Bに示されるRFLPをもたらした。ホモ接合の対立遺伝子1の遺伝子型は321塩基対（bp）の制限断片を生じたが、ホモ接合の対立遺伝子2の遺伝子型は274および47bpの制限断片を生じた。ヘテロ接合12の遺伝子型は321、274および47bpの3種類全ての制限断片を生じた。

【００７７】

T/C置換はMC3R中のエキソン1のコード領域で検出されたが、この突然変異はアミノ酸変化を引き起こさなかった。表18は同定された様々な別の多型を示す。

【００７８】

PKIG、MMP9、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、AURKA、SPO11、RAE1、PCK1、RAB22

A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3Dを上述される形質のSSC17 QTLピークの下にマッピングした。これらのQTLピークにはSSC17上の約80から100cMの領域が含まれる。もとのマップ上の遺伝子の位置は以下の通りである：PKIGは約66.8cMに、PTPN1は約77.4cMに、MC3Rは約88.5cMに、GNASは約96.2cMに、CTSZは約97.2に、そしてPPP1R3Dは約101.3cMに位置する(図1)。このマップは本発明に従ってより具体的に詳述されている（図19を参照されたい）。

【００７９】

これらの多型の有無を同定するどのような方法を用いてもよく、例えば、一本鎖高次構造多型（SSCP）解析、塩基切断配列走査（BESS）、RFLP解析、ヘテロ二本鎖解析、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動、および温度勾配ゲル電気泳動、対立遺伝子PCR、リガーゼ連鎖反応直接シーケンシング、ミニシーケンシング、核酸ハイブリダイゼーション、主効果遺伝子または対立遺伝子あるいはこれらの別の連鎖した配列のマイクロアレイ型検出が含まれる。また、本発明の範囲内には、この多型の存在下で生じるタンパク質の高次構造または配列の変化をアッセイすることも含まれる。多型は原因突然変異であってもなくてもよいが、この変化の存在の指標であり、かつ表現型差異についての遺伝的またはタンパク質的基礎をアッセイし得るものである。これらのマーカーの検出に基づいて、対立遺伝子頻度を所与の集団について算出して、動物群間の対立遺伝子頻度の差異を決定し得る（すなわち、量的遺伝子型タイピングの使用）。これにより、関連した形質について特定の集団を選別することができる。

【００８０】

一般的に、本発明の遺伝マーカーとして使用される多型は、遺伝子型と表現型との統計的に有意な相関を実証するために、当技術分野で公知のいずれかの方法において使用される。

【００８１】

したがって本発明は、一実施形態において、肉質形質と関連する対立遺伝子を同定する方法を含む。本発明はまた、動物をその肉質、肥満または成長形質に基づいて同定し、選別するのに使用し得る遺伝領域または遺伝マーカーを決定する方法も含む。更に別の実施形態では、動物を成長、肥満または肉質形質のその性向について同定する方法が提供される。

【００８２】

また遺伝子型と表現型との関連性を検出する方法であって、a) 本発明の遺伝子型タイピング方法に従って、形質陽性集団における少なくとも1つの候補遺伝子関連マーカーを遺伝子型タイピングするステップ;b) 本発明の遺伝子型タイピング方法に従って、対照集団における候補遺伝子関連マーカーを遺伝子型タイピングするステップ；およびc)遺伝子型と表現型との間に統計的に有意な関連性が存在するか否かを判定するステップを含み得る、上記方法が提供される。さらに、本発明の遺伝子型と表現型との関連性を検出する方法は、本明細書に記載される追加の限定を含む方法、あるいは単独でまたは任意の組合せで特定された以下のものを包含する。好ましくは、候補遺伝子関連マーカーは配列番号＿から＿の1以上に存在し、さらに好ましくは、Alw NI、Bbs I、Dde I、Msp I、Nae I、Afl III、Alw NI、Bse RI、Taa I、Mse I、Bst UI、Bcc I、Taq I、Nae IおよびMnlIよりなる群から選択される。ステップa)およびb)のそれぞれの前記遺伝子型タイピングは、前記集団の各ブタに由来する生体サンプルまたはその部分サンプルにおいて別々に実施される。表現型は動物の成長、肥満および肉質の特性を含む形質であることが好ましい。

【００８３】

本明細書に記載される発明は、関連性研究（ゲノムワイドな関連性研究、候補領域の関連性研究および候補遺伝子の関連性研究）を行なうために使用することができる代替的アプローチを包含する。好適な実施形態では、本発明のマーカーは候補遺伝子の関連性研究を行なうために使用される。さらに、本発明のマーカーは、ゲノムワイド関連性研究を行なうために、ブタゲノムの遺伝マーカーのいずれかのマップ中に組み込むこともできる。マーカーの高密度マップを作成する方法は当業者に周知である。本発明のマーカーはさらに、ゲノムの特定の候補領域（例えば特定の染色体または特定の染色体セグメント）のい

ずれかのマップに組み込むこともできる。

【００８４】

関連性研究は、それらが散発性のまたは多重因子性の形質の解析を可能にするので極めて価値がある。さらに、関連性研究は、連鎖研究よりも形質原因対立遺伝子のかなり詳細なマッピングを可能にする詳細スケールマッピング（fine scale mapping）のための強力な方法に相当する。いったん目的の染色体セグメントが同定されると、目的の領域における候補遺伝子（本発明の候補遺伝子等）の存在は、形質原因対立遺伝子を同定する近道を提供することができる。本発明の遺伝マーカーとして使用される多型は、候補遺伝子が形質と関連することを証明するために使用され得る。このような使用は本発明および特許請求の範囲に特に包含される。

【００８５】

関連性解析

候補遺伝子を保有する領域に由来するマーカーを用いて関連性研究を行なうための一般的なストラテジーは、2つの動物群（症例-対照集団）を走査することによって、両群における本発明のマーカーの対立遺伝子頻度を測定し統計的に比較することである。

【００８６】

形質との統計的に有意な関連性が少なくとも1以上の解析マーカーについて同定される場合には、関連する対立遺伝子が形質の直接的な原因である（関連する対立遺伝子が形質原因対立遺伝子である）か、または、おそらくは関連する対立遺伝子が形質原因対立遺伝子と連鎖不均衡にあるか、を推定することができる。候補遺伝子機能に関して関連する対立遺伝子の具体的な特性は、通常、関連する対立遺伝子と形質との関係（原因であるかまたは連鎖不平衡にある）に更なる見識を与えることができる。候補遺伝子内の関連する対立遺伝子が、形質の原因となる対立遺伝子ではない公算が非常に高いが、実際の形質原因対立遺伝子と連鎖不平衡にあることが証拠により示される場合は、関連するマーカーの近傍を配列決定することによって、形質の原因となる対立遺伝子を見つけ出すことができる。

【００８７】

関連性研究は通常は2つの連続するステップで行なわれる。第1段階では、候補遺伝子からの減少した数のマーカーの頻度を形質陽性集団と形質陰性集団において測定する。解析の第2段階では、所与の形質の原因となる遺伝子座の位置を、関連する領域からの高密度のマーカーを用いて更にリファイン（refine）する。しかし、研究中の候補遺伝子が比較的短い長さである場合、有意な関連性を確立するのに一段階で十分であるかもしれない。

【００８８】

関連性の試験

表現型と遺伝子型（この場合には、マーカーでの対立遺伝子またはそのような対立遺伝子からなるハプロタイプ）との相関の統計的有意性を決定する方法は、当技術分野で公知の統計的検定法（統計的有意性の容認された閾値を必要とする）により決定することができる。特定の方法の適用および有意性の閾値は当業者の技量の範囲内である。

【００８９】

関連性の試験は1つの方法で行なわれており、その方法は、症例集団と対照集団におけるマーカー対立遺伝子の頻度を測定し、統計的検定法を用いてこれらの頻度を比較して、研究中の形質とマーカー対立遺伝子との相関を示す統計的に有意な頻度差があるか否かを判定するものである。同様に、ハプロタイプ解析を行なうには、症例集団と対照集団において所与のマーカーセットについての可能な全てのハプロタイプの頻度を推計し、統計的検定法を用いてこれらの頻度を比較して、研究中のハプロタイプと表現型（形質）との間に統計的に有意な相関があるか否かを判定する。遺伝子型と表現型との統計学的に有意な関連性を検定するのに有用な統計学的ツールを用いてもよく、こうしたツールは数多く存在する。好ましくは、採用する統計的検定法は自由度１を有するカイ二乗検定である。P値が算出される（P値は、観察された値と同程度に大きいまたは観察された値より大きい統計値が偶然に生じる確率である）。他の方法は線形モデルおよび分散分析の技法を必要

とする。

【００９０】

以下は、本発明の多型のアッセイに用いることができる技術の一般的な概要である。

【００９１】

本発明において、遺伝物質のサンプルは動物から得られる。サンプルは血液、組織、精液等から得ることができる。一般的には末梢血細胞が供給源として用いられ、遺伝物質はDNAである。解析に十分な量のDNAを得るために十分な量の細胞を取得する。この量は当業者に公知であるかまたは容易に決定可能であろう。DNAは当業者に公知の技術によって血液細胞から単離される。

【００９２】

核酸の単離と増幅

ゲノムDNAのサンプルは、どのような適切な供給源からも単離でき、例えば唾液、頬側細胞、毛根、血液、臍帯血、羊膜液、間質液、腹水、絨毛膜、および無傷の間期核または中期細胞を含む他の適当な細胞または組織サンプルから単離される。細胞は新鮮なまたは保存された器官から得られるような固形組織から、または組織サンプルもしくはバイオプシーから得ることができる。サンプルは、防腐剤、抗血液凝固剤、緩衝液、固定液、栄養物質、抗生物質などの、生体物質に本来的に混在されていない化合物を含むことができる。

【００９３】

これらの様々な供給源からゲノムDNAを単離する方法は、例えばKirby, DNA Fingerprinting, An Introduction, W.H. Freeman & Co. New York (1992)に記載されている。ゲノムDNAは一次または二次細胞培養物から、あるいは前述の組織サンプルのいずれかに由来する形質転換細胞株から単離することもできる。

【００９４】

動物RNAのサンプルを使用することもできる。RNAはSambrookら（前掲）に記載されるように本発明の主効果遺伝子を発現する組織から単離することができる。RNAは全細胞性RNA、mRNA、ポリA+RNA、またはそれらの任意の組合せであり得る。最良の結果を出すためにRNAは精製されるが、未精製の細胞質RNAであってもよい。RNAを逆転写してDNAを形成し、その後該DNAを増幅の鋳型として用いて、PCRによりRNA転写産物の特定の集団を間接的に増幅することができる。例えばSambrook, 前掲、Kawasakiら, PCR Technology（1992）8章, 前掲およびBergら, Hum. Genet. 85:655-658 (1990)を参照されたい。

【００９５】

PCR増幅

最も一般的な増幅手法は、米国特許第4,683,195号、同第4,683,202号、同第4,965,188号（いずれも参照により本明細書に組み入れる）に記載されるポリメラーゼ連鎖反応（PCR）である。PCRを用いて血液細胞中の標的領域を増幅する場合は、ヘパリン添加全血を、他のサンプルと分けて保持された密閉真空チューブ中に吸い込み、クリーンな手袋を用いて取り扱うべきである。最良の結果を出すために、血液は採血後直ちに処理すべきである。これが不可能な場合は、使用まで密封容器中に4℃で保持する。他の生理学的な体液中の細胞をアッセイしてもよい。こうした体液のいずれかを使用する際には、体液中の細胞を遠心分離によって体液成分から分離すべきである。

【００９６】

組織は、滅菌した使い捨てメスと滅菌針（または2つのメス）を用いて、5mmのペトリ皿中で粗く切り刻む。組織切片からパラフィンを除去する手順は、当業者に広く知られている様々な専門書に記載されている。

【００９７】

サンプル中の標的核酸配列をPCRによって増幅するためには、その配列は増幅系の諸成分に接近可能でなければならない。標的DNAを単離する一方法は、比較的大きなサンプルに有用な粗抽出である。簡潔に説明すると、血液サンプル由来の単核細胞、羊膜液由来の羊膜細胞、培養した絨毛膜絨毛細胞等は、標準的な手順によって滅菌Ficoll-Hypaque勾配

上に層化することにより単離される。間期細胞を収集し、DNA抽出前に滅菌リン酸緩衝生理食塩水中で3回洗浄する。末梢血リンパ球由来のDNAを試験する場合は、浸透圧ショック（蒸留水でペレットを10秒間処理する）が勧められ、続いて、最初の洗浄後に残存する赤血球細胞が見える場合には更に2回洗浄する。これはヘモグロビンにより運搬されるヘム基のPCR反応への阻害作用を防止するだろう。PCR試験がサンプル収集後直ちに実施されない場合は、10^6個の細胞のアリコートを滅菌したエッペンドルフチューブ中でペレット化して、使用まで-20℃でペレットを凍結乾燥させる。

【００９８】

細胞は、100μg/mlのプロテイナーゼKを補充した、50mM Tris-HCl(pH 8.3)、50mM KCl、1.5mM $MgCl_2$、0.5% Tween 20、0.5% NP40の緩衝液中に再懸濁させる（100μl当たり10^6個の有核細胞）。56℃で2時間のインキュベーション後、細胞を95℃で10分間加熱してプロテイナーゼKを不活化し、直ちに氷水に移す（急冷却）。大きな凝集塊が存在する場合は、同一の緩衝液中で消化のサイクルをもう1回行なうものとする。この抽出物の10μlを増幅に用いる。

【００９９】

組織、例えば絨毛膜絨毛細胞または集密的な培養細胞からDNAを抽出する際、プロテイナーゼKを含む上述の緩衝液の量は組織サンプルの大きさによって変化し得る。抽出物を50℃～60℃で4～10時間インキュベートし、その後95℃で10分間インキュベートしてプロテイナーゼを不活化する。より長いインキュベーションにおいては、新しいプロテイナーゼKを約4時間後に元の濃度で添加すべきである。

【０１００】

サンプルが少数の細胞を含む場合、抽出は、参照により本明細書に組み入れるHiguchi,「Simple and Rapid Preparation of Samples for PCR」、 PCR Technology, Ehrlich, H.A. (編集), Stockton Press, New Yorkに記載される方法で行ってもよい。PCRを用いて、骨髄および末梢血培養物の個々のコロニーに由来する非常に少数の細胞（1000～5000個）中の標的領域を増幅することができる。サンプル中の細胞を20μlのPCR溶解緩衝液（10mM Tris-HCl(pH8.3)、50mM KCl、2.5mM $MgCl_2$、0.1mg/ml ゼラチン、0.45% NP40、0.45% Tween 20）中で懸濁し、使用まで凍結する。PCRを実施する場合、0.6μlのプロテイナーゼK（2mg/ml）をPCR溶解緩衝液中の細胞に添加する。続いてサンプルを約60℃まで加熱し、1時間インキュベートする。プロテイナーゼKの不活化によって消化を停止させるために、サンプルを95℃まで10分間加熱し、その後氷上で冷却する。

【０１０１】

PCR用のDNAを抽出する比較的簡単な手順は、参照により本明細書に組み入れるMillerら, Nucleic Acids Res. 16:1215 (1988)に記載される方法から適合された塩析法である。単核細胞をFicoll-Hypaque勾配上で分離する。この細胞を3mlの溶解緩衝液（10mM Tris-HCl、400mM NaCl、2mM Na_2 EDTA、pH 8.2）中で再懸濁させる。50μlの20mg/mlプロテイナーゼK溶液および150μlの20%SDS溶液を細胞に添加し、その後37℃で一晩インキュベートする。インキュベーション中のチューブの振とうにより、サンプルの消化が改善されるだろう。プロテイナーゼK消化が一晩のインキュベーション後に不十分である（断片が依然として見える）場合は、さらに50μlの20mg/mlプロテイナーゼK溶液を溶液中に混合し、穏やかに振とうまたは回転する操作台に載せて37℃でもう一晩インキュベートする。十分な消化に続いて、1mlの6M NaCl溶液をサンプルに添加して激しく混合する。生じた溶液を3000rpmで15分間遠心分離する。ペレットは沈殿した細胞タンパク質を含み、上清はDNAを含む。上清を4mlのイソプロパノールを含む15mlチューブに移す。チューブの内容物を、水相とアルコール相が混ざり合って、DNA沈殿物が形成されるまで穏やかに混合する。DNA沈殿物を取り出し、70%エタノール溶液中に入れ、穏やかに混合する。DNA沈殿物をエタノールから取り出し、空気乾燥させる。沈殿物を蒸留水中に入れ、溶解する。

【０１０２】

PCR用の高分子量のDNAを抽出するためのキットには、以下のものが含まれる：ゲノム単離キットA.S.A.P. (Boehringer Mannheim, Indianapolis, Ind.)、ゲノムDNA単離系(GIBC

O BRL, Gaithersburg, Md.)、Elu-Quik DNA精製キット(Schleicher & Schuell, Keene, N.H.)、DNA抽出キット(Stratagene, LaJolla, Calif.)、TurboGen単離キット(Invitrogen, San Diego, Calif.)。これらのキットを製造業者の使用説明書に従って使用することは、一般的に本発明の方法を実施する前にDNAを精製するのに適している。

【０１０３】

抽出したDNAの濃度および純度は、260nmおよび280nmでの希釈アリコートの吸光度の分光測光分析によって決定することができる。DNA抽出後にPCR増幅へと進行させることができる。PCRの各サイクルの第1ステップは、プライマー伸長によって形成された二本鎖核酸の分離を含む。いったん二本鎖が分離されれば、PCRの次のステップは、分離された鎖に、標的配列にフランキングするプライマーをハイブリダイズさせることを含む。その後、プライマーを伸長させて標的鎖の相補的コピーを形成させる。PCR増幅を成功させるために、プライマーを次のように設計する。すなわち、各プライマーが二本鎖配列に沿ってハイブリダイズする位置は、一方のプライマーから合成された伸長産物が、鋳型（相補鎖）から分離されたとき、他方のプライマーの伸長のための鋳型として働くような位置にする。変性、ハイブリダイゼーション、および伸長のサイクルは、所望量の増幅核酸を得るのに必要な回数だけ繰り返される。

【０１０４】

PCR増幅の特に有用な実施形態において、鎖の分離は、二本鎖の変性を生じさせるがポリメラーゼの不可逆的な変性は生じさせない、十分に高い温度で十分な時間にわたり反応液を加熱することにより達成される（参照により本明細書に組み込まれる米国特許第4,965,188号を参照のこと）。典型的な熱変性は、数秒から数分の範囲の時間にわたる約80℃～105℃の範囲の温度を含む。しかし鎖の分離は、物理的、化学的、または酵素的手段を含むどのような適切な変性方法で行ってもよい。例えばヘリカーゼ、またはヘリカーゼ活性を示すことが可能な酵素によって鎖の分離を誘導する。例えば、酵素RecAはATPの存在下でヘリカーゼ活性を有する。ヘリカーゼによる鎖の分離に適切な反応条件は当業界で公知である（それぞれ参照により本明細書に組み入れるKuhn Hoffman-Berling, 1978, CSH-Quantitative Biology, 43:63-67;およびRadding, 1982, Ann. Rev. Genetics 16:405-436を参照のこと）。

【０１０５】

PCRにおけるプライマーの鋳型依存的伸長は、適切な塩、金属陽イオンおよびpH緩衝系を含む反応媒体中で、十分量の4種のデオキシリボヌクレオチド三リン酸（典型的にはdATP、dGTP、dCTPおよびdTTP）の存在下に重合剤によって触媒される。適切な重合剤は鋳型依存的DNA合成を触媒することが知られている酵素である。ある場合には、標的領域は細胞によって発現されるタンパク質の少なくとも一部をコードしてもよい。この場合には、mRNAを標的領域の増幅に使用しうる。あるいは、更なる増幅のために、PCRを用いてRNAからcDNAライブラリーを作製することができる（プライマー伸長のための最初の鋳型はRNAである）。鋳型RNAから相補的なコピーDNA（cDNA）配列を合成するのに適切な重合剤は逆転写酵素（RT）であり、例えば、トリ骨髄芽球症ウイルスのRT、モロニーマウス白血病ウイルスのRT、またはサーマス・サーモフィルス（Thermus thermophilus）(Tth)のDNAポリメラーゼ、Perkin Elmer Cetus, Incにより販売される逆転写酵素活性を有する耐熱性DNAポリメラーゼである。典型的には、鋳型ゲノムRNAは最初の逆転写ステップ後の第1変性ステップ中に熱分解されて、鋳型DNAのみが残る。鋳型DNAと共に使用するのに適したポリメラーゼには、例えば大腸菌のDNAポリメラーゼIまたはそのクレノー断片、T4 DNAポリメラーゼ、Tthポリメラーゼ、およびサーマス・アクアティカス（Thermus aquaticus）から単離された熱安定性DNAポリメラーゼであってPerkin Elmer Cetus, Incから市販されているTaqポリメラーゼ、が含まれる。後者の酵素は核酸の増幅および配列決定に広く用いられている。Taqポリメラーゼを使用するための反応条件は当業界で公知であり、Gelfand, 1989, PCR Technology（前掲）に記載される。

【０１０６】

対立遺伝子特異的PCR

対立遺伝子特異的PCRは、変異または多型が存在するか存在しないかの点で相違している標的領域同士を識別する。標的配列の特定の対立遺伝子のみに結合するPCR増幅プライマーが選択される。この方法はGibbs（Nucleic Acid Res. 17:12427-2448 (1989)）によって記載されている。

【０１０７】

対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドスクリーニング方法

別の診断用スクリーニング方法は、Saikiら（Nature 324:163-166 (1986)）によって記載されるような、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチド（ASO）スクリーニング方法を用いる。ある特定の対立遺伝子のために、1以上の塩基対ミスマッチを有するオリゴヌクレオチドが作製される。ASOスクリーニング法は、変異型標的ゲノムDNAまたはPCR増幅DNAと非突然変異型オリゴヌクレオチドとのミスマッチを検出するものであり、突然変異型オリゴヌクレオチドに対比して非突然変異型オリゴヌクレオチドへの結合低下を示す。オリゴヌクレオチドプローブは、これらが低ストリンジェント条件下では対立遺伝子の両方の多型形態と結合するが、高ストリンジェント条件ではそれらに対応する対立遺伝子と結合するように設計することができる。あるいはまた、ストリンジェント条件は、実質的にバイナリー（binary）の応答が得られるように、すなわち標的遺伝子の変異形態に対応するASOがその対立遺伝子にハイブリダイズするが、野生型対立遺伝子にはハイブリダイズしないように、工夫することができる。

【０１０８】

リガーゼ仲介対立遺伝子検出方法

試験対象のDNAの標的領域は、リガーゼ仲介対立遺伝子検出によって、影響を受けたまたは影響を受けないファミリーメンバー中の標的領域と比較することができる。Landegrenら，Science 241:107-1080 (1988)を参照されたい。またリガーゼを用いてWuら Genomics 4:560-569 (1989)に記載されるライゲーション増幅反応（ligation amplification reaction）において点突然変異を検出することもできる。ライゲーション増幅反応（LAR）は、Wu（前掲）およびBarany, Proc. Nat. Acad. Sci. 88:189-193 （1990）に記載されるような、鋳型依存的ライゲーションの連続ラウンドを用いた特定のDNA配列の増幅を利用する。

【０１０９】

変性剤濃度勾配ゲル電気泳動

ポリメラーゼ連鎖反応を用いて作製される増幅産物は、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動を用いて分析することができる。異なる対立遺伝子は、溶液中のDNAの異なる配列依存的融解特性および電気泳動に基づいて同定することができる。DNA分子は温度上昇または変性の条件下で、融解ドメインと称するセグメントにおいて融解する。各融解ドメインは異なった塩基特異的融解温度（TM）で協調的に融解する。融解ドメインは少なくとも20塩基対の長さであり、最大で数百塩基対の長さであり得る。

【０１１０】

配列特異的融解ドメインの差異に基づく対立遺伝子間の区別は、その内容を参照により本明細書に組み入れるErlich編，PCR Technology,「Principles and Applications for DNA Amplification」，7章，W.H. Freeman and Co., New York （1992）に記載されるように、ポリアクリルアミドゲル電気泳動を用いて評価することができる。

【０１１１】

一般的に、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動によって分析されるべき標的領域は、標的領域にフランキングするPCRプライマーを用いて増幅される。増幅されたPCR産物は、その内容を参照により本明細書に組み入れるMyersら，Meth. Enzymol. 155:501-527 (1986)およびMyersら，Genomic Analysis, A Practical Approach, K. Davies編. IRL Press Limited, Oxford, pp. 95-139 （1988）に記載されるように、直線的な変性剤濃度勾配を有するポリアクリルアミドゲルにアプライする。電気泳動システムは標的配列の融解ドメインのTmよりわずかに低い温度に維持される。

【０１１２】

変性剤濃度勾配ゲル電気泳動の代替方法では、Erlichの7章（前掲）に記載されるように、標的配列を、GCクランプと称するGCヌクレオチドのストレッチと最初に結合させることができる。GCクランプ中の少なくとも80%のヌクレオチドがグアニンまたはシトシンのいずれかであることが好ましい。GCクランプは少なくとも30塩基の長さであることが好ましい。この方法は高いTm値を有する標的配列に特に適している。

【０１１３】

一般的に、標的領域は上述されるようにポリメラーゼ連鎖反応によって増幅される。オリゴヌクレオチドPCRプライマーの一つはその5'末端に、増幅中に標的領域の5'末端に組み込まれるGCクランプ領域（少なくとも30塩基のGCに富む配列）をもつ。生じた増幅標的領域を、上述される変性剤濃度勾配条件下で、電気泳動ゲル上で泳動させる。一塩基の変化のために異なるDNA断片はゲル内を通って異なる位置へ移動し、これをエチジウムブロマイド染色によって可視化することもできる。

【０１１４】

温度勾配ゲル電気泳動

温度勾配ゲル電気泳動（TGGE）は、変性勾配が化学変性剤の濃度差の代わりに温度差によって生じることを除いて、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動と同じ基本原理に基づいている。標準的なTGGEは、温度勾配が電気泳動路に沿って形成されている電気泳動装置を使用する。サンプルが均一濃度の化学変性剤を含むゲルを移動するにつれて、サンプルは次第に増加する温度に遭遇する。TGGEの別の方法である時間的（temporal）温度勾配ゲル電気泳動（TTGEまたはtTGGE）は、同一の結果を達成するために電気泳動ゲル全体の温度を次第に高めていくものである。サンプルがゲルを通って移動するにつれてゲル全体の温度が増加し、サンプルがゲルを通って移動するにつれてサンプルは次第に増加する温度に遭遇することになる。GCクランプの組込みを用いたPCR増幅を含めたサンプルの調製、および産物の可視化は変性剤濃度勾配ゲル電気泳動と同じである。

【０１１５】

一本鎖高次構造多型解析

特定の遺伝子座における標的配列または対立遺伝子は一本鎖高次構造多型解析を用いて区別することができ、これはOritaら，Proc. Nat. Acad. Sci. 85:2766-2770 （1989）に記載されるように、一本鎖PCR産物の電気泳動による移動の変化によって塩基の差異を同定する。増幅PCR産物を上述したように作製し、加熱またはその他の方法で変性して一本鎖の増幅産物とする。一本鎖核酸は再び折りたたまれるか、または塩基配列に部分的に依存する二次構造を形成する。したがって、一本鎖増幅産物の電気泳動の移動度により、対立遺伝子または標的配列間の塩基配列差異を検出することができる。

【０１１６】

ミスマッチの化学的または酵素的切断

標的配列間の差異は、Grompeら，Am. J. Hum. Genet. 48:212-222 (1991)に記載されるような、ミスマッチ塩基対の示差的な化学的切断によっても検出することができる。別の方法では、標的配列間の差異は、Nelsonら，Nature Genetics 4:11-18 (1993)に記載されるような、ミスマッチ塩基対の酵素的切断によって検出することができる。簡潔に言うと、動物および影響を受けたファミリーメンバーに由来する遺伝物質を用いて、ミスマッチのないヘテロハイブリッド型DNA二本鎖を作製する。本明細書で用いる「ヘテロハイブリッド」とは、ある動物由来のDNA一本鎖と、別の動物（通常は、目的の形質についての表現型が異なる動物）由来の第2のDNA鎖とを含むDNA二本鎖を意味する。ミスマッチのないヘテロハイブリッドの陽性選別は、多型と関連し得る小さな挿入、欠失または別の多型の確認を可能にする。

【０１１７】

非ゲル系

他の可能な技術としてTaqMan™（Perkin Elmer）などの非ゲル系が含まれる。この系では、オリゴヌクレオチドPCRプライマーを、問題の突然変異にフランキングしておりかつこの領域のPCR増幅を可能にするように設計する。続いて第3のオリゴヌクレオチドプロー

ブを、その遺伝子の異なる対立遺伝子間で変化を受けやすい塩基を含む領域とハイブリダイズするように設計する。このプローブの5'および3'末端の両方が蛍光色素で標識されている。これらの色素は、互いに近接している間は、これらの一方の蛍光が他方によって消光されて検出され得ないよう選択される。プローブに対して5'側に位置する鋳型上のPCRプライマーからのTaq DNAポリメラーゼによる伸長は、Taq DNAポリメラーゼの5'ヌクレアーゼ活性を介して、アニールしたプローブの5'末端に連結された色素の切断へと至らせる。これはクエンチング効果（quenching effect）を取り除いて、このプローブの3'末端にある色素からの蛍光を検出することを可能にする。異なるDNA配列間の識別は、プローブの鋳型分子へのハイブリダイゼーションが完全でない場合、すなわちある形態のミスマッチが存在する場合には、色素の切断が起こらないという事実から生じる。したがって、オリゴヌクレオチドプローブのヌクレオチド配列が、結合する鋳型分子と完全に相補的である場合にのみ、クエンチングが取り除かれることになる。反応混合物は、存在し得る異なる対立遺伝子のそれぞれに対して設計された2種類の異なるプローブ配列を含んでいてもよく、その結果、１つの反応で両方の対立遺伝子の検出が可能である。

【０１１８】

さらに別の技術としてInvader Assayがあり、これは蛍光の触媒的放出を当てにした等温増幅を含む。www.twt.comのThird Wave Technologyを参照されたい。

【０１１９】

PCRに基づかないDNA診断

対立遺伝子配列に連鎖したDNA配列の同定は、増幅工程を用いることなく、動物およびファミリーメンバーにおける多型（制限断片長多型を含む）に基づいて行なうことができる。ハイブリダイゼーションプローブは、一般的に、標識核酸の全部または一部への相補的塩基対合を介して結合するオリゴヌクレオチドである。プローブは典型的には、ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーに応じて、プローブ配列との完全な相補性を欠いている標的配列に結合する。プローブは好ましくは直接的または間接的に標識され、その結果、プローブの存在または不在についてアッセイすることによって、標的配列の存在または不在を検出できるようになる。直接標識法には、^{32}Pまたは^{35}Sを用いる等、放射性同位体標識が含まれる。間接標識法には、蛍光タグ、アビジンまたはストレプトアビジンに結合し得るビオチン複合体、あるいはペプチドまたはタンパク質タグが含まれる。視覚的検出方法には、発光物質、テキサスレッド、ローダミンおよびその誘導体、レッドロイコダイおよび3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン（TMB）、フルオレセインおよびその誘導体、ダンシル、ならびにウンベリフェロンなど、あるいは西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼなどを用いるものが含まれる。

【０１２０】

ハイブリダイゼーションプローブには、主効果遺伝子の1つが存在するブタ染色体にハイブリダイズすることができ、それゆえに、主効果遺伝子の1つに連鎖した遺伝マーカー（制限断片長多型、超可変領域、反復エレメントまたは可変数のタンデムリピートを含む）を規定することができるヌクレオチド配列が含まれる。ハイブリダイゼーションプローブは任意の遺伝子または適切な類似体であり得る。別の適切なハイブリダイゼーションプローブには、染色体の関連領域に位置することが知られたcDNAまたは遺伝子のエキソン断片もしくは一部が含まれる。

【０１２１】

本発明に従って使用するのに好適なタンデムリピートハイブリダイゼーションプローブは、高ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件で特定の遺伝子座の少数の断片を認識するもの、またはストリンジェント条件が緩められる場合にはその遺伝子座のより多くの断片を認識するものである。

【０１２２】

1以上の追加の制限酵素および/またはプローブおよび/またはプライマーを用いることができる。追加の酵素、構築プローブ、およびプライマーは、当業者がルーチンな実験を行うことにより決定することができ、本発明の範囲内にあるものとする。

【０１２３】
本明細書に記載される方法は、単一の制限酵素および単一のプライマーセットの使用に基づくものであるが、これらの方法はそのように限定されない。所望であれば、1以上の追加の制限酵素および/またはプローブおよび/またはプライマーを用いることができる。実際に、いくつかの状況では、特定のハプロタイプを与えるマーカーの組合せを使用することが好ましいかもしれない。追加の酵素、構築プローブおよびプライマーは、本明細書に提供されたまたは組み込まれた教示と併せて、ルーチンな実験を行なうことによって決定することができる。

【０１２４】
本発明の一実施形態に従って、成長および肉質との関連性を有する主効果遺伝子中の多型が同定された。一実施形態では、マーカーの存在または不在は制限エンドヌクレアーゼを用いたPCR-RFLP分析によってアッセイすることができる。増幅プライマーは、多型をとりまく領域の高い相同性のために、類似のヒト、ブタまたは他の動物の配列を用いて設計してもよいし、GenBankに示される既知の配列（例えばヒト）を用いて設計してもよいし、あるいは本明細書の教示および参考文献に基づいて、近接する周囲の遺伝子の連鎖データから得られた配列から設計してもよい。多型をとりまく配列は代替的なPCR試験の開発を容易にするだろう。そのようなPCR試験では、多型にすぐ隣接する配列から得られた約4～30個連続した塩基のプライマーを、ポリメラーゼ連鎖反応と組み合わせて使用してその領域を大量に増幅し、その後所望の制限酵素で処理する。これらのプライマーは正確な相補体である必要はなく、実質的に等しい配列であれば許容される。PCRによって増幅するためのプライマーの設計は当業者に公知であり、Ausubel (編), Short Protocols in Molecular Biology, 第4版, John Wiley and Sons 1999で詳細に論じられている。以下はプライマー設計の簡単な説明である。

【０１２５】
プライマー設計戦略
ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法の使用の増加により、PCR用プライマーとして使用されるオリゴヌクレオチドの設計または選択に役立つ多くのプログラムの開発が活発になってきている。インターネットを介して自由に利用可能なそのようなプログラムの4つの例は、ホワイトヘッド大学のMark DalyおよびSteve LincolnによるPRIMER（UNIX, VMS, DOSおよびMacintosh）、ワシントン大学（St. Louis）のPhil GreenおよびLaDeana HillerによるOligonucleotide Selection Program (OSP)（UNIX, VMS, DOSおよびMacintosh）、YoshiによるPGEN（DOSのみ）、ならびにウィスコンシン大学のBill EngelsによるAmplify（Macintoshのみ）である。一般的に、これらのプログラムは、少数の既知の反復配列エレメントを検索し、続いて推定上のプライマーの長さとGC含量を分析してTmを最適化することによって、PCRプライマーの設計に役立っている。市販のソフトウェアも利用可能であり、プライマー選択法は、一般的な配列解析パッケージのほとんどに急速に含まれつつある。

【０１２６】
配列決定用およびPCR用プライマー
配列決定用またはPCR用のプライマーとして使用するためのオリゴヌクレオチドを設計するには、標的を特異的に認識する適切な配列を選択し、続いて、そのオリゴヌクレオチドが安定した二次構造を有する可能性を排除するためにその配列を試験する必要がある。配列中の逆反復配列は上述されるような反復配列同定プログラムまたはRNAフォールディングプログラム（Nucleic Acid Structureの予測を参照のこと）を用いて同定することができる。可能なステム構造が観察される場合には、プライマーの配列をいずれかの方向に数ヌクレオチドずらし、予測される二次構造を最小にすることができる。またオリゴヌクレオチドの配列は、適切なベクターおよび挿入DNAの両鎖の配列と比較されるべきである。配列決定用プライマーが標的DNAに対して1つの一致のみを持つべきであることは自明である。また、所望でない標的DNA配列とのミスマッチが1つだけのプライマーを排除することも得策である。ゲノムDNAを増幅することに使用されるPCRプライマーについては、プラ

イマー配列をGenBankデータベース中の配列と比較して、相当な量の一致が存在するか否かを判定すべきである。オリゴヌクレオチド配列がいずれかの既知のDNA配列または、より重要なこととして、いずれかの既知の反復エレメント中に存在する場合には、プライマー配列を変えるべきである。

【０１２７】

本発明の方法および材料はまた、より一般的には、動物のDNAを評価し、個々の動物を遺伝子型タイピングし、そして動物における遺伝的差異を検出するために使用することができる。特に、動物ゲノムDNAのサンプルを、1以上の対照を参照することによって評価して、配列の1つに多型が存在するかを判定することができる。好ましくは、RFLP分析を動物の配列に対して実施し、その結果を対照と比較する。対照は、異なる動物（その動物の遺伝子の多型が知られている）の配列の1つまたは両方のRFLP分析の結果である。同様に、動物の遺伝子型は、そのゲノムDNAサンプルを取得し、該DNA中の遺伝子のRFLP分析を実施し、その結果を対照と比較することによって決定し得る。この場合も、対照は異なる動物の配列の1つのRFLP分析の結果である。これらの結果からその遺伝子中の多型を特定することにより、動物を遺伝子型タイピングすることができる。最後に、動物間の遺伝的差異は、少なくとも2個体の動物からゲノムDNAサンプルを取得し、ヌクレオチド配列の1つに多型が存在するかしないかを同定し、その結果を比較することによって検出することができる。

【０１２８】

これらのアッセイは、上で述べたように、成長および肉質と関連する遺伝マーカーを同定するために、同一の遺伝子または対立遺伝子中の、他の特性と相関し得る他の多型を同定するために、ならびに動物の遺伝子型および表現型の一般的な科学的解析のために有用である。

【０１２９】

当業者であれば、いったん多型が同定されかつ特定の形質との相関が確立されると、この多型について動物を遺伝子型タイピングする多くの方法が存在することを理解するだろう。そのような代替的試験の設計は、単に当業者に知られたパラメーターの最適化を行えばよく、本明細書に十分に記載される本発明の範囲内にあるものとする。

【０１３０】

本発明に従って、当技術分野の技量の範囲内である慣用の分子生物学、微生物学および組換えDNA技術を採用してもよい。そのような技術は文献に十分説明されている。例えばManiatis, Fritsch & Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (1982); DNA Cloning: A Practical Approach, 1巻および2巻 (D.N. Glover編. 1985); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait編. 1984); Nucleic Acid Hybridization (B. D. Hames & S. J. Higgins編. (1985)); Transcription and Translation (B. D. Hames & S. J. Higgins編(1984)); Animal Cell Culture (R. I. Freshney編. (1986)); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, (1986)); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning, (1984)を参照されたい。

【０１３１】

以下の実施例は、本明細書に記載の発明をよりよく説明するのに役立ち、いかなる場合にも本発明を限定するものではない。当業者は、慣用の実験を用いて改変することができ、本発明の範囲内に含まれる、幾つかの異なるパラメーターが存在することを理解するだろう。

【実施例】

【０１３２】

実施例１

カテプシンZ（CTSZ）PCR-RFLP試験

AlwNI多型

プライマー:

CT04F : 5' GGC ATT TGG GGC ATC TGG G 3' (配列番号____)
CT04R : 5' ACT GGG GGA TGT GCT GGT T 3' (配列番号____)

PCR条件：
ミックス1：

10X Promegaバッファー	1.0μL
25mM $MgCl_2$	0.4μL
dNTPミックス（2mM）	0.5μL
25 pmol/μL CT04F	0.1μL
25 pmol/μL CT04R	0.1μL
滅菌2回蒸留水	6.83μL
Taqポリメラーゼ（5U/μL）	0.07μL
ゲノムDNA（12.5ng/μL）	1.0μL

10μLのミックス1とDNAとを反応チューブ中で一緒にし、鉱油で重層した。以下のPCRプログラムを行った：94℃で3分；94℃で30秒、62℃で30秒、および72℃で30秒を35サイクル；その後72℃で5分間の最終伸長。4μLのPCR反応物を標準的な1%アガロースゲル上で調べ、増幅の成功とクリーンな陰性対照を確認した。産物の大きさは約330塩基対であった。以下の手順を用いて消化を行った：

AlwNI消化反応	10μL反応
PCR産物	5.0μL
10X NEBバッファー4	1.0μL
AlwNI酵素(10U/μL)	0.5μL
滅菌2回蒸留水	3.5μL

バッファー、酵素および水でカクテルを調製し、5μLを、DNAを含む各反応チューブに添加した。37℃で少なくとも4時間インキュベートするが、一晩の消化が好ましい。４μLのローディングダイ(loading dye)と６μLの消化PCR産物とを混合し、総量を3%アガロースゲルにロードした。予測されたAlwNIパターンを図2Aに示す。

【０１３３】

実施例2

GNAS PCR-RFLP試験
BbsI多型

プライマー:

GN03F : 5' AAG CAG GCT GAC TAC GTG 3' (配列番号____)
GN03R : 5' TCA CCA CAA GGG CTA CCA 3' (配列番号____)

PCR条件：
ミックス１：

10X Promegaバッファー	1.0μL
25mM $MgCl_2$	0.8μL
dNTPミックス（2mM）	0.5μL
25pmol/μL GN03F	0.1μL
25pmol/μL GN03R	0.1μL
滅菌2回蒸留水	6.43μL
Taqポリメラーゼ（5U/μL）	0.07μL
ゲノムDNA（12.5ng/μL）	1.0μL

10μLのミックス1とDNAとを反応チューブ中で一緒にし、鉱油で重層した。以下のPCRプログラムを行った：94℃で3分；94℃で30秒、60℃で30秒、および72℃で30秒の35サイク

ル；その後72℃で5分間の最終伸長。4μLのPCR反応物を標準的な1%アガロースゲル上で調べ、増幅の成功とクリーンな陰性対照を確認した。産物の大きさは約321塩基対であった。消化は以下の手順を用いて行った：

BbsI消化反応	10μL反応
PCR産物	4.0μL
10X NEBバッファー2	1.0μL
BbsI酵素(5U/μL)	0.5μL
滅菌2回蒸留水	4.5μL

バッファー、酵素および水を用いてカクテルを調製し、6μLを、DNAを含む各反応チューブに添加した。37℃で少なくとも4時間インキュベートするが、一晩の消化が好ましい。4μLのローディングダイと6μLの消化PCR産物とを混合し、総量を3%アガロースゲルにロードした。予測されたBbsIパターンを図2Bに示す。

【０１３４】

実施例3

MC3R PCR-RFLP試験

MnlI多型

プライマー:

フォワード: 5' GCC TCC ATC TGC AAC CTC T 3' (配列番号____)

リバース: 5' AGC ATG GCG AAG AAG ATG AC 3' (配列番号____)

PCR条件：

ミックス1

10X PCRバッファー	1.0μl
$MgCl_2$（25mM）	0.6μl
dNTP（2.5mM）	0.5μl
フォワード（25 pmol/μl）	0.1μl
リバース（25 pmol/μl）	0.1μl
Taqポリメラーゼ（5U/μl）	0.07μl
2回蒸留水	7.63μl
ゲノムDNA	1.0μl

ミックス1とDNAとをPCR反応チューブ中で一緒にし、鉱油で重層した。以下のPCRプログラムを行った：94℃で3分；94℃で30秒、54℃で1分、および72℃で1分30秒の36サイクル；その後72℃で10分間の最終伸長。2μlのPCR反応物を1.6%アガロースゲル上で調べ、増幅の成功と陰性対照における望ましいクリーンな結果を確認した。

【０１３５】

消化は以下の手順によって実施することができる：

MnlI消化反応液：

PCR産物	4.0μl
NEバッファー2	1.0μl
BSA（10mg/ml）	0.1μl
MnlI（20U/μl）	0.2μl
2回蒸留水	4.7μl

PCR産物、バッファー、酵素および水のカクテルを調製した。少なくとも4時間インキュベートするが、37℃で一晩が好ましい。消化産物とローディングダイ（2：5）とを混合し、3% NuSieveアガロースゲルで泳動した。予測されたMnlIパターンを図2Cに示す。

【０１３６】

実施例4

CTSZ、GNASおよびMC3R遺伝子型と様々な経済的形質との関連性を、バークシャーxヨークシャー交雑種で調査した（それぞれ表3、4、5）。

【表３】

表3－ブタの資源集団におけるCTSZ遺伝子型と種々の肉質形質との間の関連性

	CTSZ遺伝子型			
形質	11	12	22	P値
色	3.07 ± 0.07 e, i	3.22 ± 0.04 f, c	3.31 ± 0.03 j, d	0.0049
ラブLH	47.99 ± 0.50 a i	47.25 ± 0.29 b e	46.52 ± 0.27 j f	0.0055
ラブLM	23.10 ± 0.47 a i	22.37 ± 0.27 b e	21.62 ± 0.25 j f	0.0030
平均解糖ポテンシャル	106.65 ± 2.44 a	105.96 ± 1.33 a	103.84 ± 1.21 b	0.2987
平均乳酸	88.36 ± 1.89	88.16 ± 1.02 a	86.51 ± 0.93 b	0.3314
腰部背脂肪	3.71 ± 0.11 a e	3.59 ± 0.07 b c	3.49 ± 0.07 f d	0.0750
平均ドリップ・ロス	6.34 ± 0.28 c e	5.83 ± 0.16 d a	5.63 ± 0.15 f b	0.0449
フレイバー・スコア	2.18 ± 0.23 i	2.89 ± 0.12 j	2.93 ± 0.11 j	0.0072
ジューシー・スコア	6.31 ± 0.20 e	5.80 ± 0.10 f i	6.20 ± 0.10 j	0.0034
クッキング・ロス	17.91 ± 0.58 e	19.29 ± 0.30 f	18.36 ± 0.28 e	0.0197
テンダーネス・スコア	7.58 ± 0.18 e	7.75 ± 0.10 c	7.95 ± 0.10 f d	0.0696

用いた危険率：a,b－0.3；c,d－0.1；e,f－0.05；g,h－0.01；i,j－0.005；k,l－0.001；m,n－0.0005；o,p－0.0001

【０１３７】

表3に示した結果は、CTSZ遺伝子型が5つの肉質QTL形質と関連することを示している。色、ラブLH、ラブLMとの関連が最も強かった。さらに、平均ドリップ・ロス（drip loss）および柔らかさ(テンダーネス：tenderness)などの別の肉質形質との関連性も検出され、この事実は改善された肉質についてブタを選別する際にこのマーカーを使用しうることを強く示唆するものである。

【表４】

表４－ブタの資源集団におけるGNAS遺伝子型と種々の肉質形質との関連性

	GNAS遺伝子型			
形質	11	12	22	P値
色	3.11 ± 0.05 i e	3.29 ± 0.03 j	3.26 ± 0.05 f	0.0098
ラブLH	47.81 ± 0.41 e i	46.90 ± 0.27 f a	46.50 ± 0.37 j b	0.0237
ラブLM	22.88 ± 0.38 e i	22.00 ± 0.25 f a	21.60 ± 0.35 j b	0.0195
平均解糖ポテンシャル	107.44 ± 1.90 a	104.63 ± 1.18 b	104.02 ± 1.64 b	0.2944
平均乳酸	89.22 ± 1.48 a	87.02 ± 0.92 b	86.74 ± 1.28 b	0.3163
平均ドリップ・ロス	6.35 ± 0.22 i e	5.67 ± 0.14 j	5.66 ± 0.20 f	0.0079
テンダーネス・スコア	7.56 ± 0.14 e c	7.88 ± 0.09 f	7.89 ± 0.13 d	0.0803
水分保持能	0.22 ± 0.013 a e	0.20 ± 0.008 b a	0.18 ± 0.012 f b	0.0753
チュー・スコア	2.69 ± 0.11 e	2.41 ± 0.07 f	2.36 ± 0.10 f	0.0312

用いた危険率：a,b－0.3；c,d－0.1；e,f－0.05；g,h－0.01；i,j－0.005；k,l－0.001；m,n－0.0005；o,p－0.0001

【０１３８】

CTSZについて決定された結果に従って、GNAS遺伝子型もSSC17上の5つのQTL肉質形質と関連することが見出された。このマーカーに関する結果は、色、ラブLHおよびラブLMとの最も強い関連性が見出され、CTSZ遺伝子型の効果と一致することを示している。別の肉質形質（平均ドリップ・ロス、テンダーネス・スコア）もこのマーカーに影響され、より高い肉質のブタを選別するためのツールとしての、SSC17のこの特定領域上に位置付けられたこれらの遺伝マーカーの有用性をさらに示している。

【表５】

表5－ブタの資源集団におけるMC3R遺伝子型と種々の成長、肥満および肉質形質との関連性

	MC3R遺伝子型		
形質	11	12	P値
色	3.26 ± 0.03	3.21 ± 0.06	0.4415
ラブLH	47.00 ± 0.23	46.70 ± 0.45	0.4971
ラブLM	22.10 ± 0.21	21.83 ± 0.42	0.5311
平均解糖ポテンシャル	105.71 ± 1.06 e	101.23 ± 2.14 f	0.0379
平均乳酸	87.83 ± 0.81 c	84.96 ± 1.66 d	0.0887
出生時体重	1.52 ± 0.04 i	1.63 ± 0.05 j	0.0077
胴体重	87.22 ± 0.16 c	86.70 ± 0.31 d	0.0893
試験中の平均1日増体量	0.685 ± 0.006 e	0.703 ± 0.009 f	0.0152
平均背脂肪	3.25 ± 0.05 c	3.39 ± 0.08 d	0.0643
腰部背使用	3.53 ± 0.06 c	3.69 ± 0.10 d	0.0618
第10肋骨背脂肪	3.08 ± 0.06 c	3.25 ± 0.10 d	0.0511
ロイン・アイ面積	36.26 ± 0.55 m	33.94 ± 0.76 n	0.0002
II型繊維率	0.99 ± 0.04 i	1.32 ± 0.10 j	0.0016
平均グリコーゲン含有量	8.92 ± 0.17 c	8.17 ± 0.40 d	0.0688

用いた危険率：a,b－0.3；c,d－0.1；e,f－0.05；g,h－0.01；i,j－0.005；k,l－0.001；m,n－0.0005；o,p－0.0001

【０１３９】

MC3R遺伝子型は、肉質に関する3つのSSC17 QTL形質（色、ラブLHおよびラブLM）に対して大きな効果を全く示さなかった。しかし、このマーカーが平均解糖ポテンシャルおよび平均乳酸に及ぼす効果は、これら2つの形質に対するCTSZおよびGNAS遺伝子型の効果と比較した場合に、より顕著に検出された。さらに、MC3R変異体は種々の成長、肥満および胴体組成形質と強く関連しており、これはこのマーカーが肉質および成長形質の改善されたブタの選別に使用できることを示している。

【０１４０】

ブタ資源集団において実施された研究に加えて、これら3つの遺伝子の効果はいくつかの商業上の純粋系統および人造系統（ランドレース、ラージホワイトおよび人造系統）においても分析された。結果は表6～15に示される。

【表６】

表６－商業上のランドレース集団における肉質および生産形質に対するCTSZ効果の分析

		LS平均(s.e.)			
形質	平均(s.e.)	11	12	22	P値
dirtywt	245.1 (0.84)	244.5 (1.79)	245.9 (1.31)	245.6 (1.97)	0.76
Hcw	195.1 (0.67)	195.3 (1.49)	195.3 (1.10)	196.5 (1.66)	0.78
Ccw	192.7 (0.69)	192.4 (1.52)	192.9 (1.10)	193.9 (1.69)	0.79
l_binwt	20.97 (0.10)	21.10 (0.19) a	20.85 (0.14) b	20.96 (0.20)	0.42
l_blswt	7.20 (0.05)	7.18 (0.09)	7.15 (0.07)	7.15 (0.10)	0.94
ロイン・ミノルタl	44.42 (0.14)	44.75 (0.32) e	44.10 (0.24) f a	43.67 (0.36) f b	0.04
ロイン・ミノルタa	6.70 (0.06)	6.76 (0.13)	6.73 (0.10)	6.84 (0.15)	0.80
ロイン・ミノルタb	2.92 (0.06)	3.09 (0.09)	2.99 (0.07)	3.01 (0.10)	0.60
japcs	3.31 (0.03)	3.31 (0.08) a	3.39 (0.06)	3.43 (0.08) b	0.50
マーブリング	1.72 (0.03)	1.68 (0.06)	1.71 (0.04)	1.76 (0.06)	0.62
締まり	2.78 (0.07)	2.92 (0.10)	2.90 (0.07)	2.88 (0.10)	0.96
ロイン pH	5.69 (0.01)	5.69 (0.01)	5.70 (0.01)	5.69 (0.01)	0.81
h_binwt	22.93 (0.15)	22.68 (0.27)	22.93 (0.19)	22.75 (0.28)	0.65
h_blswt	4.37 (0.03)	4.41 (0.06)	4.36 (0.04)	4.38 (0.06)	0.72
ハム・ミノルタl	47.27 (0.22)	47.16 (0.51) c	48.12 (0.38)d e	46.68 (0.53) f	0.02
ハム・ミノルタa	8.61 (0.10)	8.73 (0.21)	8.74 (0.15)	8.80 (0.22)	0.97
ハム・ミノルタb	4.29 (0.10)	4.25 (0.19) c	4.65 (0.14) d e	4.19 (0.20) f	0.03
ハム pH	5.67 (0.01)	5.70 (0.02) a	5.69 (0.01) a	5.68 (0.02) b	0.39
ドリップ%	2.76 (0.09)	2.62 (0.20)	2.56 (0.14)	2.48 (0.21)	0.88
Hpro 脂肪	12.95 (0.12)	12.92 (0.27)	13.08 (0.20)	13.04 (0.29)	0.86
Hpro 肉	53.20 (0.58)	53.89 (0.80)	54.08 (0.62)	53.77 (0.87)	0.93
Hpro 肋骨	13.05 (0.25)	12.23 (0.58)	12.79 (0.40) a	11.93 (0.57) b	0.30
LM%	46.79 (0.08)	47.07 (0.21)	46.91 (0.15)	46.94 (0.21)	0.74
gcaloc_f	12.99 (0.15)	13.32 (0.35) a c	12.76 (0.26) b	12.46 (0.39) d	0.17
gcendwt	112.7 (0.33)	113.3 (0.71) a	112.4 (0.53) b	111.7 (0.80) b	0.25
gcdays	158.9 (0.71)	155.8 (0.99) a e	157.2 (0.78) b	159.3 (1.19) a f	0.07
gcldg	674.5 (2.10)	668.3 (4.39) a	664.6 (3.35)	660.8 (5.17) b	0.49
gctdg	898.7 (3.77)	899.5 (7.75) a	891.8 (5.86)	887.1 (9.12) b	0.50
gcus_md	60.72 (0.38)	59.61 (0.77) e	61.38 (0.56) f a	60.18 (0.91) b	0.07
dirtywt	245.1 (0.84)	244.5 (1.79)	245.9 (1.31)	245.6 (1.97)	0.76

用いた危険率：a,b－0.3；c,d－0.1；e,f－0.05；g,h－0.01；i,j－0.005；k,l－0.001；m,n－0.0005；o,p－0.0001

【表７】

表７－商業上のラージホワイト集団における肉質および生産形質に対する CTSZ 効果の分析

		LS 平均(s.e.)			
形質	平均(s.e.)	11	12	22	P 値
dirtywt	236.7 (1.01)	238.1 (2.77) a	236.6 (1.98) a	234.0 (2.21) b	0.32
hcw	188.2 (0.77)	189.8 (2.10) a	188.8 (1.50) a	186.8 (1.68) b	0.33
ccw	186.0 (0.81)	189.0 (2.22) a c	186.1 (1.51) b	184.6 (1.73) d	0.20
l_binwt	19.82 (0.13)	19.34 (0.27) a	19.76 (0.21) b	19.73 (0.22) b	0.37
l_blswt	6.70 (0.05)	6.59 (0.10)	6.66 (0.08)	6.64 (0.09)	0.79
ロイン・ミノルタ l	44.79 (0.17)	44.61 (0.46)	44.95 (0.33)	44.73 (0.37)	0.72
ロイン・ミノルタ a	7.35 (0.09)	7.18 (0.24) a	6.91 (0.17) b	7.00 (0.19)	0.56
ロイン・ミノルタ b	3.08 (0.07)	3.18 (0.16)	3.11 (0.11) a	3.26 (0.13) b	0.45
Japcs	3.35 (0.05)	3.35 (0.12)	3.47 (0.09) a	3.35 (0.10) b	0.39
マーブリング	1.89 (0.05)	2.06 (0.10) c	1.86 (0.08) d a	1.99 (0.08) b	0.11
締まり	2.41 (0.07)	2.73 (0.15)	2.85 (0.12) a	2.64 (0.13) b	0.27
ロイン pH	5.69 (0.01)	5.67 (0.02)	5.68 (0.01)	5.68 (0.02)	0.95
h_binwt	23.12 (1.24)	21.70 (0.25) a	21.97 (0.20) b	21.69 (0.21) a	0.28
h_blswt	3.92 (0.04)	3.81 (0.10) a	3.99 (0.08) b	3.86 (0.08) a	0.17
ハム・ミノルタ l	45.27 (0.31)	46.74 (0.79) a	46.04 (0.60)	45.53 (0.65) b	0.41
ハム・ミノルタ a	9.49 (0.13)	9.82 (0.35) c e	9.16 (0.26) d	8.99 (0.28) f	0.12
ハム・ミノルタ b	4.34 (0.15)	5.20 (0.32) e	4.47 (0.24) f	4.38 (0.27) f	0.08
ハム pH	5.74 (0.02)	5.64 (0.03) a c	5.69 (0.02) b	5.70 (0.02) d	0.16
ドリップ%	2.35 (0.11)	2.40 (0.33)	2.53 (0.24)	2.29 (0.25)	0.63
Hpro 脂肪	14.07 (0.15)	13.80 (0.45) a	14.30 (0.32) b	13.99 (0.35)	0.42
Hpro 肉	50.39 (0.71)	50.53 (1.09) a	51.82 (0.77) b	50.61 (0.85) a	0.25
Hpro 肋骨	13.36 (0.36)	14.61 (0.95) a	13.07 (0.74) b	13.29 (0.79) b	0.35
LM%	46.14 (0.10)	45.92 (0.29) a	46.35 (0.21) b	46.32 (0.23) b	0.40
gcaloc_f	13.45 (0.18)	13.64 (0.51)	13.48 (0.37)	13.82 (0.41)	0.67
Gcendwt	109.2 (0.36)	110.0 (1.01) a e	108.6 (0.72) b c	107.3 (0.82) f d	0.047
gcdays	170.7 (0.76)	161.0 (1.81) c	162.8 (1.36) a	164.8 (1.52) d b	0.15
gcldg	644.9 (2.34)	650.6 (5.50) a	646.4 (3.76) a	640.7 (4.37) b	0.23
gctdg	841.4 (3.85)	853.5 (9.49) a e	840.9 (6.42) b	829.5 (7.51) a f	0.08
Gcus_md	59.07 (0.39)	58.73 (1.03)	59.02 (0.62)	59.47 (0.74)	0.78
dirtywt	236.7 (1.01)	238.1 (2.77) a	236.6 (1.98) a	234.0 (2.21) b	0.32

用いた危険率：a, b－0.3；c, d－0.1；e, f－0.05；g, h－0.01；i, j－0.005；k, l－0.001；m, n－0.0005；o, p－0.0001

【表８】

表８－人造の商業上集団における肉質および生産形質に対するCTSZ効果の分析

		LS平均(s.e.)			
形質	平均(s.e.)	11	12	22	P値
Dirtywt	248.6 (1.54)	248.5 (5.40) a	244.0 (2.59)	241.2 (3.01) b	0.41
Hcw	204.3 (1.16)	204.5 (3.90) a	200.3 (1.85)	199.7 (2.18) b	0.53
Ccw	202.4 (1.19)	202.6 (3.94) a	198.2 (1.91) b	198.7 (2.28)	0.56
l_binwt	22.55 (0.22)	22.85 (0.53) a	22.28 (0.23) b	22.57 (0.34)	0.51
l_blswt	8.17 (0.09)	8.35 (0.25)	8.10 (0.12)	8.26 (0.17)	0.52
ロイン・ミノルタl	45.06 (0.20)	43.72 (0.69) a	44.81 (0.34) b	44.66 (0.40) b	0.32
ロイン・ミノルタa	6.78 (0.10)	7.20 (0.34)	6.92 (0.18)	7.07 (0.21)	0.62
ロイン・ミノルタb	2.90 (0.08)	2.86 (0.19) a	3.05 (0.09)	3.14 (0.11) b	0.39
Japcs	3.31 (0.07)	3.12 (0.22) a	3.45 (0.09) b	3.32 (0.12)	0.29
マーブリング	2.16 (0.09)	2.30 (0.23)	2.23 (0.10)	2.26 (0.12)	0.96
締まり	2.80 (0.15)	3.62 (0.31) e a	2.88 (0.14) f a	3.23 (0.22) b	0.048
ロイン pH	5.74 (0.01)	5.74 (0.04)	5.74 (0.02)	5.74 (0.02)	0.98
h_binwt	25.57 (0.23)	26.53 (0.56) a c	25.60 (0.25) b	25.38 (0.35) d	0.18
h_blswt	5.18 (0.05)	5.33 (0.18) a	5.15 (0.08)	5.04 (0.11) b	0.34
ハム・ミノルタl	47.65 (0.53)	49.77 (1.63) c	48.32 (0.75) c	46.28 (0.97) d	0.09
ハム・ミノルタa	8.53 (0.16)	8.82 (0.57)	8.50 (0.26)	8.81 (0.33)	0.67
ハム・ミノルタb	4.09 (0.17)	5.20 (0.44) a e	4.52 (0.20) b	4.22 (0.26) f	0.14
ハム pH	5.69 (0.02)	5.60 (0.06) a	5.68 (0.03) b	5.69 (0.03) b	0.31
ドリップ%	2.05 (0.14)	2.44 (0.50)	2.10 (0.23)	2.35 (0.30)	0.63
Hpro 脂肪	13.52 (0.20)	13.64 (0.69)	13.73 (0.33)	13.33 (0.39)	0.66
Hpro 肉	62.84 (0.88)	62.36 (2.05) a	60.09 (0.96) b	60.47 (1.12)	0.57
Hpro 肋骨	15.15 (0.62)	9.48 (2.54) e	15.31 (0.92) f a	17.33 (1.50) f b	0.051
LM%	47.54 (0.18)	47.91 (0.67)	47.30 (0.27)	47.56 (0.46)	0.62
Gcaloc_f	12.96 (0.25)	13.85 (0.82) a	13.68 (0.42) c	12.72 (0.49) b d	0.15
Gcendwt	113.7 (0.53)	113.2 (1.69)	112.5 (0.85)	111.6 (0.99)	0.61
Gcdays	163.6 (0.81)	157.1 (2.71) a	160.3 (1.44) b	160.2 (1.65) b	0.51
Gcldg	670.3 (3.06)	677.5 (9.38)	670.3 (4.92)	667.0 (5.44)	0.59
Gctdg	880.4 (4.97)	886.4 (16.5)	875.1 (8.39)	870.9 (9.28)	0.70
Gcus_md	67.11 (0.51)	67.92 (1.47) e a	64.86 (0.76) f a	65.91 (0.88) b	0.097

用いた危険率：a, b－0.3；c, d－0.1；e, f－0.05；g, h－0.01；i, j－0.005；k, l－0.001；m, n－0.0005；o, p－0.0001

【表９】

表９－市販のランドレース、ラージホワイトおよび合成の集団における肉質と生産形質に対するCTSZ効果の包括的な分析

		LS平均(s.e.)			
形質	平均(s.e.)	11	12	22	P値
dirtywt	243.1 (0.62)	241.6 (1.53)	242.1 (1.04) a	240.6 (1.25) b	0.51
Hcw	194.7 (0.50)	195.3 (1.21)	194.7 (0.82)	194.5 (1.00)	0.86
Ccw	192.6 (0.52)	193.0 (1.25)	192.3 (0.84)	192.4 (1.04)	0.84
l_binwt	20.88 (0.08)	20.94 (0.16)	20.79 (0.11) a	20.97 (0.13) b	0.36
l_blswt	7.21 (0.04)	7.28 (0.07)	7.26 (0.05)	7.30 (0.06)	0.81
ﾛｲﾝ･ﾐﾉﾙﾀ l	44.66 (0.09)	44.81 (0.25) a	44.63 (0.17)	44.40 (0.21) b	0.34
ﾛｲﾝ･ﾐﾉﾙﾀ a	6.92 (0.05)	6.99 (0.12)	6.94 (0.09)	7.03 (0.10)	0.69
ﾛｲﾝ･ﾐﾉﾙﾀ b	2.97 (0.04)	3.26 (0.08)	3.22 (0.05) a	3.31 (0.06) b	0.40
japcs	3.32 (0.02)	3.30 (0.07) c a	3.41 (0.05) d	3.38 (0.06) b	0.22
ﾏｰﾌﾞﾘﾝｸﾞ	1.84 (0.03)	1.94 (0.05)	1.91 (0.04) c	1.99 (0.05) d	0.26
締まり	2.68 (0.05)	3.06 (0.09)	3.06 (0.06)	2.99 (0.07)	0.61
ﾛｲﾝ pH	5.70 (0.00)	5.70 (0.01)	5.70 (0.01)	5.70 (0.01)	0.96
h_binwt	23.39 (0.38)	23.26 (0.19)	23.43 (0.13)	23.25 (0.16)	0.50
h_blswt	4.36 (0.03)	4.48 (0.05)	4.49 (0.04) a	4.44 (0.04) b	0.57
ﾊﾑ･ﾐﾉﾙﾀ l	46.73 (0.18)	47.33 (0.44) a	47.70 (0.31) g	46.62 (0.37)b h	0.02
ﾊﾑ･ﾐﾉﾙﾀ a	8.86 (0.07)	8.99 (0.18)	8.90 (0.13)	8.87 (0.15)	0.81
ﾊﾑ･ﾐﾉﾙﾀ b	4.27 (0.07)	4.75 (0.16) a	4.80 (0.11) e	4.51 (0.14) b f	0.12
ﾊﾑ pH	5.69 (0.01)	5.68 (0.01)	5.69 (0.01)	5.69 (0.01)	0.76
ﾄﾞﾘｯﾌﾟ%	2.51 (0.06)	2.47 (0.17)	2.43 (0.11)	2.45 (0.13)	0.98
Hpro 脂肪	13.41 (0.09)	13.40 (0.24)	13.59 (0.16)	13.40 (0.19)	0.50
Hpro 肉	54.13 (0.42)	55.57 (0.65)	55.71 (0.45)	55.17 (0.53)	0.60
Hpro 肋骨	13.40 (0.20)	13.54 (0.53)	13.93 (0.37)	13.84 (0.45)	0.76
LM%	46.70 (0.06)	46.89 (0.18)	46.77 (0.12)	46.80 (0.15)	0.75
gcaloc_f	13.13 (0.11)	13.46 (0.28)c e	12.94 (0.20) d	12.69 (0.24) f	0.051
gcendwt	111.8 (0.23)	112.4 (0.58) c i	111.4 (0.40)de	110.3 (0.49) j f	0.005
gcdays	163.6 (0.48)	155.5 (1.03)a g	157.0 (0.77)bc	158.6 (0.90)h d	0.02
gcldg	664.3 (1.45)	667.0 (3.21)a e	662.2 (2.08) b	657.8 (2.64)a f	0.06
gctdg	875.1 (2.51)	887.4 (5.57)c g	877.0 (3.54)da	869.6 (4.52)h b	0.04
Gcus_md	61.63 (0.26)	60.44 (0.61)	61.05 (0.42)	60.89 (0.52)	0.60

【表１０】

表 10－商業上のランドレース集団における肉質および生産形質に対する GNAS 効果の分析

		Ls 平均(s.e.)			
形質	平均(s.e.)	11	12	22	P 値
Ccw	192.7 (0.69)	191.9 (1.39) e	193.0 (1.15) c	196.9 (2.06) f d	0.08
dirtywt	244.7 (0.83)	244.3 (1.66) a	245.1 (1.38) a	248.4 (2.44) b	0.31
ドリップ%	2.87 (0.09)	2.74 (0.17)	2.72 (0.14)	2.82 (0.24)	0.92
締まり	2.78 (0.07)	2.96 (0.08) a	2.83 (0.07) b e	3.06 (0.11) f	0.07
Gcaloc_f	12.94 (0.15)	12.92 (0.32) a	12.83 (0.27) a	12.07 (0.47) b	0.24
Gcdays	158.9 (0.70)	156.0 (0.92) c	157.9 (0.80) d	158.9 (1.48) d	0.10
gcendwt	112.8 (0.33)	112.8 (0.66)	112.5 (0.56)	112.5 (1.00)	0.90
Gcldg	674.1 (2.06)	666.8 (3.96)	665.1 (3.52)	668.8 (6.32)	0.83
Gctdg	898.5 (3.69)	895.4 (7.04)	892.9 (6.23)	900.4 (11.3)	0.81
gcus_md	60.76 (0.38)	60.21 (0.70) a	61.19 (0.59) b	60.19 (1.11)	0.39
h_binwt	22.92 (0.16)	22.85 (0.23)	22.94 (0.19)	22.84 (0.34)	0.94
h_blswt	4.36 (0.03)	4.44 (0.05) a	4.37 (0.04) b	4.40 (0.07)	0.39
ハム・ミノルタ a	8.61 (0.10)	8.77 (0.20)	8.93 (0.17) a	8.45 (0.28) b	0.25
ハム・ミノルタ b	4.35 (0.10)	4.41 (0.17) a	4.66 (0.14) b e	4.11 (0.24) b f	0.07
ハム・ミノルタ l	47.31 (0.22)	47.67 (0.44) a	48.12 (0.36) e	46.69 (0.61) b f	0.08
ハム pH	5.66 (0.01)	5.69 (0.01)	5.69 (0.01)	5.67 (0.02)	0.60
Hcw	195.0 (0.67)	194.7 (1.36) c	195.1 (1.15) c	199.0 (2.03) d	0.13
Hpro 脂肪	12.91 (0.12)	12.76 (0.25) a	13.07 (0.22) b	13.11 (0.36)	0.45
Hpro 肉	52.95 (0.57)	53.14 (0.74) a	53.95 (0.64) b	53.03 (1.03)	0.43
Hpro 肋骨	13.17 (0.25)	12.00 (0.53) c	13.06 (0.44) d a	11.93 (0.71) b	0.09
Japcs	3.30 (0.03)	3.27 (0.07) c a	3.40 (0.06) d	3.41 (0.10) b	0.17
l_binwt	20.90 (0.12)	20.97 (0.21)	20.81 (0.18)	21.01 (0.31)	0.72
l_blswt	7.20 (0.05)	7.18 (0.08) a	7.21 (0.07) a	7.04 (0.11) b	0.30
LM%	46.79 (0.08)	47.03 (0.18) a	46.92 (0.15) a	46.67 (0.23) b	0.35
ロイン・ミノルタ a	6.69 (0.06)	6.71 (0.12)	6.72 (0.10)	6.93 (0.19)	0.56
ロイン・ミノルタ b	2.94 (0.06)	3.04 (0.08)	2.96 (0.07)	3.05 (0.12)	0.57
ロイン・ミノルタ l	44.32 (0.14)	44.48 (0.29) c a	43.96 (0.25) d	43.97 (0.43) b	0.21
ロイン pH	5.69 (0.01)	5.69 (0.01)	5.70 (0.01) a	5.68 (0.02) b	0.46
マーブリング	1.71 (0.03)	1.66 (0.05) a	1.73 (0.04) b	1.66 (0.08)	0.35

用いた危険率：a, b－0.3；c, d－0.1；e, f－0.05；g, h－0.01；i, j－0.005；k, l－0.001；m, n－0.0005；o, p－0.0001

【表１１】

表 11－商業上の人造集団における肉質および生産形質に対する GNAS 効果の分析

		Ls 平均(s.e.)			
形質	平均(s.e.)	11	12	22	P 値
Ccw	202.2 (1.07)	204.9 (3.55) e c	197.3 (1.77) f	198.4 (1.84) d	0.14
dirtywt	247.4 (1.41)	248.9 (4.87) c a	240.4 (2.57) d	240.7 (2.71) b	0.24
ドリップ%	2.16 (0.13)	2.23 (0.49)	1.99 (0.24) a	2.36 (0.27) b	0.38
締まり	2.61 (0.11)	3.39 (0.30) c	2.78 (0.12) d	2.71 (0.16) d	0.14
Gcaloc_f	12.93 (0.23)	13.31 (0.76) a	13.07 (0.45) c	12.30 (0.46) b d	0.19
Gcdays	164.4 (0.76)	158.3 (2.55) a	162.2 (1.40) b	162.3 (1.51) b	0.30
gcendwt	113.5 (0.49)	113.4 (1.56) a c	111.3 (0.88) b	110.4 (0.90) d	0.23
Gcldg	669.3 (2.87)	675.4 (8.51) a	663.7 (4.67) b	661.0 (4.76) b	0.30
Gctdg	879.1 (4.56)	885.5 (15.0) a	866.5 (8.13) b	862.8 (8.25) b	0.39
gcus_md	67.14 (0.47)	67.36 (1.32) e a	64.42 (0.76) f	65.17 (0.78) b	0.10
h_binwt	25.57 (0.19)	26.52 (0.48) c e	25.67 (0.21) d	25.16 (0.25) c f	0.02
h_blswt	5.19 (0.04)	5.39 (0.15) a	5.20 (0.07) b	5.12 (0.08) b	0.23
ハム・ミノルタ a	8.64 (0.14)	9.25 (0.53) a	8.54 (0.21) b	8.74 (0.25)	0.42
ハム・ミノルタ b	4.09 (0.15)	5.19 (0.44) c	4.36 (0.18) d	4.29 (0.21) d	0.18
ハム・ミノルタ l	47.42 (0.44)	49.11 (1.68)	47.84 (0.75)	47.69 (0.85)	0.73
ハム pH	5.68 (0.01)	5.62 (0.05) a	5.69 (0.02) b	5.68 (0.03) b	0.34
Hcw	204.1 (1.05)	205.2 (3.43) e a	197.6 (1.85) f	199.1 (1.91) b	0.13
Hpro 脂肪	13.54 (0.19)	13.00 (0.63)	13.14 (0.34)	13.14 (0.35)	0.98
Hpro 肉	62.67 (0.79)	63.27 (1.95) a	59.89 (1.03) b	60.28 (1.04) b	0.29
Hpro 肋骨	14.86 (0.55)	8.88 (2.23) g e	15.91 (0.86) h	14.99 (1.06) f	0.02
Japcs	3.25 (0.06)	2.98 (0.19) e c	3.47 (0.10) f	3.35 (0.10) d	0.08
l_binwt	22.53 (0.19)	23.17 (0.50) e	21.91 (0.22) f	22.67 (0.26) e	0.01
l_blswt	8.13 (0.08)	8.43 (0.23) e	7.94 (0.10) f c	8.19 (0.12) d	0.06
LM%	47.43 (0.15)	48.16 (0.58) a	47.36 (0.25) b	47.69 (0.32)	0.34
ロイン・ミノルタ a	6.69 (0.09)	7.20 (0.32) a	6.83 (0.18) b	6.84 (0.19) b	0.52
ロイン・ミノルタ b	2.94 (0.07)	3.09 (0.18)	3.03 (0.10)	3.09 (0.10)	0.86
ロイン・ミノルタ l	45.27 (0.19)	44.86 (0.64)	45.16 (0.35)	45.19 (0.36)	0.89
ロイン pH	5.73 (0.01)	5.72 (0.03)	5.73 (0.02)	5.73 (0.02)	0.95
マーブリング	2.21 (0.07)	2.22 (0.20)	2.37 (0.10)	2.27 (0.11)	0.64

用いた危険率：a, b－0.3；c, d－0.1；e, f－0.05；g, h－0.01；i, j－0.005；k, l－0.001；m, n－0.0005；o, p－0.0001

【表１２】

表 12－商業上のランドレースおよび人造集団における肉質と生産形質に対する GNAS 効果の分析

		Ls 平均(s.e.)			
形質	平均(s.e.)	11	12	22	P 値
dirtywt	245.5 (0.72)	243.5 (1.84) a	244.4 (1.38)	245.9 (1.80) b	0.53
Hcw	198.0 (0.59)	197.6 (1.47) a	197.9 (1.11) a	199.7 (1.42) b b	0.40
Ccw	195.8 (0.61)	195.3 (1.49) a	195.8 (1.11) a	197.4 (1.44) b b	0.46
l_binwt	21.34 (0.11)	21.50 (0.23) a	21.22 (0.17) b c	21.65 (0.22) d	0.11
l_blswt	7.45 (0.04)	7.57 (0.09)	7.55 (0.07)	7.54 (0.09)	0.95
ロイン・ミノルタ l	44.63 (0.11)	44.80 (0.29) a	44.40 (0.22) b	44.59 (0.29)	0.30
ロイン・ミノルタ a	6.69 (0.05)	6.73 (0.14)	6.74 (0.10)	6.81 (0.13)	0.87
ロイン・ミノルタ b	2.94 (0.04)	3.17 (0.08)	3.09 (0.06) a	3.20 (0.08) b	0.36
japcs	3.29 (0.03)	3.24 (0.08) e a	3.40 (0.06) f	3.34 (0.07) b	0.05
マーブリング	1.84 (0.03)	1.92 (0.06)	1.98 (0.05)	1.96 (0.06)	0.58
締まり	2.74 (0.06)	3.20 (0.09) a	3.07 (0.07) b a	3.22 (0.09) b	0.15
ロイン pH	5.70 (0.01)	5.71 (0.01)	5.71 (0.01)	5.71 (0.01)	0.72
h_binwt	23.61 (0.14)	24.17 (0.24)	24.19 (0.18) a	23.90 (0.24) b	0.50
h_blswt	4.58 (0.03)	4.86 (0.05) a a	4.79 (0.04) b	4.77 (0.05) b	0.25
ハム・ミノルタ l	47.34 (0.20)	48.23 (0.52) a	48.31 (0.39) a	47.47 (0.51) b b	0.26
ハム・ミノルタ a	8.62 (0.08)	8.79 (0.22)	8.80 (0.16)	8.58 (0.21)	0.58
ハム・ミノルタ b	4.28 (0.08)	4.73 (0.18) a	4.79 (0.13) c	4.48 (0.18) b d	0.23
ハム pH	5.67 (0.01)	5.69 (0.02)	5.69 (0.01)	5.68 (0.02)	0.69
ドリップ%	2.67 (0.08)	2.43 (0.20)	2.40 (0.14) a	2.63 (0.19) b	0.47
Hpro 脂肪	13.10 (0.10)	12.89 (0.27) a a	13.25 (0.21) b	13.26 (0.26) b	0.30
Hpro 肉	55.89 (0.49)	58.12 (0.78)	58.43 (0.61)	57.94 (0.76)	0.77
Hpro 肋骨	13.52 (0.23)	12.65 (0.62) g	14.13 (0.47) h c	13.05 (0.63) d	0.01
LM%	46.93 (0.07)	47.37 (0.20) a a	47.18 (0.16) b	47.11 (0.21) b	0.39
gcaloc_f	12.94 (0.13)	12.94 (0.33) e	12.87 (0.25) e	12.10 (0.32) f f	0.04
gcendwt	113.0 (0.27)	112.7 (0.70) a	112.4 (0.54)	111.8 (0.69) b	0.52
gcdays	161.0 (0.53)	154.3 (1.11) c c	156.1 (0.85) d	156.8 (1.09) d	0.13
gcldg	672.5 (1.67)	669.8 (3.91)	668.7 (2.97)	667.4 (3.84)	0.89
gctdg	891.3 (2.89)	890.0 (6.91)	888.7 (5.22)	887.4 (6.78)	0.96
Gcus_md	63.22 (0.32)	62.33 (0.69)	62.47 (0.52)	62.12 (0.68)	0.88

用いた危険率：a, b－0.3；c, d－0.1；e, f－0.05；g, h－0.01；i, j－0.005；k, l－0.001；m, n－0.0005；o, p－0.0001

【表１３】

表 13－商業上のランドレース集団における肉質および生産形質に対する MC3R 効果の分析

		Ls 平均(s.e.)			
形質	平均(s.e.)	11	12	22	P 値
dirtywt	244.9 (0.81)	245.1 (1.76)	246.3 (1.33)	245.3 (1.66)	0.78
Hcw	194.9 (0.66)	195.1 (1.46)	195.9 (1.11)	194.8 (1.36)	0.74
Ccw	192.7 (0.67)	192.6 (1.49)	193.4 (1.13)	193.1 (1.41)	0.90
l_binwt	20.92 (0.12)	20.94 (0.25)	20.81 (0.19)	20.90 (0.23)	0.85
l_blswt	7.22 (0.05)	7.08 (0.09) a	7.22 (0.08) b	7.16 (0.09)	0.32
ロイン・ミノルタ l	44.38 (0.14)	44.06 (0.33)	44.10 (0.26)	44.32 (0.31)	0.75
ロイン・ミノルタ a	6.69 (0.06)	6.84 (0.14)	6.73 (0.10)	6.68 (0.13)	0.64
ロイン・ミノルタ b	3.01 (0.05)	3.11 (0.09)	3.05 (0.07)	3.09 (0.09)	0.83
japcs	3.33 (0.03)	3.47 (0.08) a	3.35 (0.06) b	3.40 (0.07)	0.36
マーブリング	1.72 (0.03)	1.68 (0.06) c	1.67 (0.04) e	1.82 (0.05) d f	0.04
締まり	2.74 (0.07)	2.95 (0.09) a	2.85 (0.07) b	2.89 (0.08)	0.55
ロイン pH	5.68 (0.01)	5.69 (0.01)	5.69 (0.01)	5.69 (0.01)	0.88
h_binwt	22.99 (0.15)	22.68 (0.27) a	22.89 (0.20) a	23.20 (0.25) b	0.31
h_blswt	4.38 (0.03)	4.32 (0.05) e	4.45 (0.04) f c	4.36 (0.05) d	0.02
ハム・ミノルタ l	47.40 (0.22)	47.71 (0.52)	48.00 (0.41) a	47.30 (0.49) b	0.40
ハム・ミノルタ a	8.67 (0.10)	8.72 (0.22)	8.72 (0.16)	8.93 (0.20)	0.62
ハム・ミノルタ b	4.44 (0.09)	4.57 (0.20)	4.54 (0.15)	4.62 (0.19)	0.93
ハム pH	5.66 (0.01)	5.67 (0.02) a	5.69 (0.01) b	5.69 (0.01) b	0.43
ドリップ%	2.78 (0.09)	2.68 (0.20) a	2.69 (0.15) a	2.41 (0.18) b	0.36
Hpro 脂肪	12.96 (0.12)	13.23 (0.27)	13.10 (0.21)	13.00 (0.25)	0.78
Hpro 肉	54.96 (0.34)	54.63 (0.81) a	55.61 (0.65) b	55.17 (0.76)	0.46
Hpro 肋骨	13.33 (0.25)	12.39 (0.58) a	13.24 (0.46) b c	12.22 (0.56) d	0.17
LM%	46.78 (0.07)	46.70 (0.18)	46.88 (0.15)	46.92 (0.17)	0.55
gcaloc_f	12.87 (0.15)	12.53 (0.37)	12.75 (0.29)	12.78 (0.34)	0.83
gcendwt	112.6 (0.33)	111.6 (0.74) c	112.9 (0.57) d	112.5 (0.70)	0.22
gcdays	158.2 (0.74)	157.9 (1.05) a	156.3 (0.81) b	157.7 (1.20) a	0.32
gcldg	675.0 (2.10)	658.1 (4.65) e a	668.4 (3.57) f	665.1 (4.04) b	0.11
gctdg	902.5 (3.67)	885.4 (8.23) c a	902.3 (6.28) d	896.2 (7.15) b	0.16
Gcus_md	60.43 (0.39)	60.71 (0.87)	60.51 (0.64)	59.91 (0.72)	0.67

用いた危険率：a, b－0.3；c, d－0.1；e, f－0.05；g, h－0.01；i, j－0.005；k, l－0.001；m, n－0.0005；o, p－0.0001

【表１４】

表14－商業上の人造集団における肉質および生産形質に対するMC3R効果の分析

		Ls 平均(s.e.)			
形質	平均(s.e.)	11	12	22	P 値
dirtywt	248.5 (1.45)	243.2 (2.61)	244.1 (3.51)	244.4 (19.9)	0.97
Hcw	204.5 (1.06)	201.8 (1.72)	200.8 (2.63)	199.9 (17.3)	0.94
Ccw	202.7 (1.09)	200.9 (1.73)	200.9 (2.60)	195.9 (17.3)	0.96
l_binwt	22.46 (0.19)	21.96 (0.24)	22.04 (0.31)	22.35 (1.57)	0.96
l_blswt	8.13 (0.08)	7.86 (0.11) e a	8.26 (0.14) f	8.66 (0.69) b	0.06
ロイン・ミノルタ l	45.17 (0.19)	45.20 (0.33)	44.72 (0.49)	43.01 (3.03)	0.56
ロイン・ミノルタ a	6.67 (0.09)	6.73 (0.18) a	7.08 (0.25) b	6.55 (1.39)	0.38
ロイン・ミノルタ b	3.03 (0.07)	3.35 (0.09)	3.29 (0.13)	3.70 (0.86)	0.83
japcs	3.30 (0.05)	3.41 (0.10)	3.42 (0.13)	2.95 (0.67)	0.79
マーブリング	2.22 (0.07)	2.25 (0.09)	2.23 (0.13)	2.34 (0.70)	0.98
締まり	2.81 (0.11)	3.07 (0.12)	3.21 (0.14)	3.31 (0.64)	0.69
ロイン pH	5.73 (0.01)	5.73 (0.02)	5.74 (0.02) a	5.57 (0.15) b	0.51
h_binwt	25.65 (0.20)	25.64 (0.23)	25.92 (0.30)	25.83 (1.43)	0.74
h_blswt	5.19 (0.04)	5.15 (0.07)	5.21 (0.09)	5.41 (0.43)	0.77
ハム・ミノルタ l	47.41 (0.43)	48.23 (0.77)	48.05 (1.00)	46.93 (4.48)	0.95
ハム・ミノルタ a	8.52 (0.13)	8.82 (0.25)	8.44 (0.33)	9.46 (1.41)	0.48
ハム・ミノルタ b	4.27 (0.15)	5.08 (0.19)	4.84 (0.25)	5.11 (1.24)	0.73
ハム pH	5.68 (0.01)	5.68 (0.03)	5.66 (0.04)	5.56 (0.13)	0.65
ドリップ%	2.13 (0.12)	2.05 (0.23)	2.26 (0.29)	2.55 (1.18)	0.77
Hpro 脂肪	13.69 (0.19)	13.73 (0.32)	13.49 (0.48)	10.82 (2.88)	0.57
Hpro 肉	63.65 (0.52)	62.66 (0.88) a	64.80 (1.35) b	62.68 (8.23)	0.35
Hpro 肋骨	14.49 (0.52)	13.92 (0.94) a	14.47 (1.08) a	6.01 (5.02) b	0.25
LM%	47.25 (0.16)	47.00 (0.26)	47.33 (0.30)	48.04 (1.34)	0.56
gcaloc_f	12.83 (0.23)	12.68 (0.42)	13.21 (0.59)	12.79 (3.37)	0.69
gcendwt	113.7 (0.50)	112.5 (0.81) c	110.1 (1.24) d	114.0 (8.40)	0.20
gcdays	163.1 (0.84)	157.2 (1.38) c	161.5 (1.98) d	153.7 (10.6)	0.14
gcldg	673.0 (3.15)	667.0 (4.33) a	655.7 (6.88) b	698.1 (43.1)	0.23
gctdg	878.3 (4.71)	870.3 (7.23) a	853.3 (11.9) b	905.9 (77.6)	0.38
Gcus_md	66.57 (0.48)	64.24 (0.71)	63.16 (1.01)	64.13 (5.94)	0.60

用いた危険率：a, b－0.3；c, d－0.1；e, f－0.05；g, h－0.01；i, j－0.005；k, l－0.001；m, n－0.0005；o, p－0.0001

【０１４１】

表14は、商業上の人造集団における種々の形質に対するMC3R遺伝子型の効果を示している。MC3R遺伝子型を保有するわずか1個体の動物がこの集団中で検出されたため、比較は本質的にはMC3Rの遺伝子型11と12の間でなされる。

【表１５】

表15－商業上のランドレースおよび人造集団における肉質と生産形質に対するMC3R効果の包括的分析

		Ls平均(s.e.)			
形質	平均(s.e.)	11	12	22	P値
dirtywt	246.0 (0.72)	245.3 (1.46)	246.1 (1.52)	245.0 (2.01)	0.81
Hcw	198.2 (0.59)	199.1 (1.14)	199.2 (1.21)	198.1 (1.61)	0.78
Ccw	196.0 (0.60)	196.7 (1.15)	196.9 (1.22)	196.5 (1.63)	0.96
l_binwt	21.35 (0.11)	21.33 (0.19)	21.25 (0.19)	21.28 (0.24)	0.92
l_blswt	7.47 (0.04)	7.45 (0.08) e a	7.63 (0.08) f	7.57 (0.10) b	0.10
ロイン・ミノルタl	44.65 (0.11)	44.55 (0.24)	44.56 (0.25)	44.79 (0.33)	0.75
ロイン・ミノルタa	6.68 (0.05)	6.77 (0.11)	6.75 (0.11)	6.64 (0.15)	0.70
ロイン・ミノルタb	3.02 (0.04)	3.24 (0.06)	3.23 (0.07)	3.25 (0.09)	0.96
japcs	3.32 (0.03)	3.44 (0.06) a	3.33 (0.06) b	3.37 (0.08)	0.26
マーブリング	1.86 (0.03)	1.96 (0.05) c	1.95 (0.05) e	2.09 (0.07) d f	0.09
締まり	2.75 (0.06)	3.14 (0.07)	3.08 (0.07)	3.12 (0.09)	0.74
ロインpH	5.70 (0.01)	5.71 (0.01)	5.71 (0.01)	5.71 (0.01)	0.97
h_binwt	23.72 (0.14)	24.00 (0.19) c	24.17 (0.20) a	24.48 (0.26) d b	0.25
h_blswt	4.60 (0.03)	4.74 (0.04) e	4.84 (0.05) f a	4.76 (0.06) b	0.08
ハム・ミノルタl	47.40 (0.20)	47.96 (0.43)	48.34 (0.44) a	47.68 (0.57) b	0.40
ハム・ミノルタa	8.63 (0.08)	8.65 (0.16)	8.64 (0.17)	8.83 (0.22)	0.63
ハム・ミノルタb	4.39 (0.08)	4.74 (0.15)	4.76 (0.15)	4.83 (0.20)	0.91
ハムpH	5.66 (0.01)	5.68 (0.01)	5.68 (0.01)	5.69 (0.02)	0.89
ドリップ%	2.58 (0.07)	2.39 (0.15)	2.48 (0.15) a	2.18 (0.20) b	0.29
Hpro脂肪	13.19 (0.10)	13.51 (0.21)	13.37 (0.22)	13.25 (0.29)	0.72
Hpro肉	57.72 (0.32)	59.42 (0.61) c	60.67 (0.64) d	60.32 (0.83)	0.20
Hpro肋骨	13.60 (0.23)	13.24 (0.51) a	13.96 (0.49) b e	12.66 (0.65) f	0.09
LM%	46.88 (0.07)	46.91 (0.16) a	47.13 (0.15) b	47.19 (0.20) b	0.30
gcaloc_f	12.86 (0.13)	12.58 (0.27)	12.86 (0.29)	12.90 (0.37)	0.64
gcendwt	113.0 (0.28)	112.5 (0.58)	112.9 (0.61)	112.7 (0.81)	0.86
gcdays	160.2 (0.57)	155.3 (0.91)	155.1 (0.96)	156.0 (1.48)	0.80
gcldg	674.3 (1.75)	666.0 (3.22) a	670.8 (3.42) b	669.6 (4.37)	0.49
gctdg	893.3 (2.93)	886.5 (5.62)	892.9 (5.99)	890.7 (7.70)	0.67
Gcus_md	62.92 (0.33)	61.47 (0.65)	60.83 (0.64)	60.55 (0.80)	0.54

用いた危険率：a,b－0.3；c,d－0.1；e,f－0.05；g,h－0.01；i,j－0.005；k,l－0.001；m,n－0.0005；o,p－0.0001

【０１４２】

これらの商業上の系統において決定された結果は、色と関連する形質（ロイン（loin）およびハム・ミノルタ・スコア(ham Minolta score)）、他の肉質形質、ならびに成長および肥満との強い関連性を示唆する。これらは全てブタ肉産業で価値のある形質である。これらのマーカーを一緒に使用してもよく、このストラテジーでは、肉質形質のみならず、成長および肥満形質についての選別も可能であろう。

【０１４３】

実施例４

色、ラブ・ロイン・ハンター（lab loin hunter）、ラブ・ロイン・ミノルタ（lab loin minolta）、平均乳酸および平均解糖ポテンシャルを含む、肉質についての様々な量的形質遺伝子座（QTL）をブタの第17染色体（SSC17）上で検出した（Malekら，2001）。最初のQTLについては図1を参照のこと。本発明者らはSSC17 QTL領域に3つの遺伝子をマッピングした：PKIG（プロテインキナーゼインヒビターγ）、PTPN1（プロテインチロシンホスファターゼ、非レセプター1型）およびPPP1R3D（プロテインホスファターゼ1、調節サブユニット3D）。これらの結果に従い、さらに3つの遺伝子を同一のSSC17 QTL領域にマッピングした：CTSZ（カテプシンZ）、GNAS（グアニンヌクレオチド結合タンパク質G（S）、αサブユニットーアデニル酸シクラーゼ刺激性Gタンパク質α）およびMC3R（メラノコルチン3レセプター）。

【０１４４】

上述した6つの遺伝子のSSC17マップ中の位置が与えられると、SSC17上にこのQTL領域を詳細マッピングすることに努力が注がれた。観察された表現型変異の原因遺伝子をSSC17上で探し出すために、ヒトおよびブタゲノム間の利用可能な比較マップを用いて、いくつかの位置候補遺伝子を研究用に選択した。

【０１４５】

合計9個の更なる遺伝子、すなわちMMP9[マトリックスメタロプロテイナーゼ9（ゼラチナーゼB、92kDaゼラチナーゼ、92kDa IV型コラゲナーゼ）]、ATP9A（ATPアーゼ、クラスII、9A型）、CYP24A1（シトクロムP450、ファミリー24、サブファミリーA、ポリペプチド1）、AURKA（オーロラキナーゼA）、DOK5（ドッキングタンパク質5）、RAE1[RAE1 RNAエクスポート1ホモログ（S.ポンベ）]、SPO11 [DSB様と共有結合したSPO11減数分裂タンパク質（S.セレビシエ）]、RAB22A（RAB22A、RAS発がん遺伝子ファミリーのメンバー）およびPCK1[ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ1（可溶性）]を分析した。

【０１４６】

これらの遺伝子のマップ位置が与えられると、これらをSSC17のブタ肉質形質QTL中で検出された変異を説明するための良好な候補遺伝子とみなした。これらの遺伝子中の多型のためのPCR-RFLP試験を開発し、これを用いて、これらの遺伝子の大部分を色、ラブ・ロイン・ハンター（lab loin hunter）、ラブ・ロイン・ミノルタ（lab loin Minolta）、平均乳酸および平均解糖ポテンシャルのSSC17 QTLピークの下にマッピングした。これらのQTLはSSC17上の約70～107cMの領域にわたっている。

【０１４７】

マップ上の遺伝子の位置は以下の通りである：PKIGは70.4cM、MMP9は72.6cM、PTPN1は80.4cM、ATP9Aは83.6cM、CYP24A1は85.3cM、DOK5は88.3cM、MC3Rは88.3cM、AURKAは90.4cM、SPO11は97.4cM、RAE1は98.9cM、RAB22Aは100.3cM、GNASは102.5cM、CTSZは103.4cM、そしてPPP1R3Dは107.5cMに位置する。2つの遺伝子（PCK1およびC20orf43）のマップ位置はまだ決定されていない。PCK1はRAE1とRAB22Aの間に位置すると予想される。解析した16個全ての遺伝子の変異体がいくつかの経済的形質に及ぼす効果は、アイオワ州立大学のバークシャーxヨークシャー交雑種で調査した（表16）。

表 16—ISU ブタの資源集団における種々の成長、胴体組成および肉質形質との関連性の結果

	PKIG	MMP9	PTPN1	ATP9A	CYP24A1	DOK5	MC3R	AURKA	SPO11	RAE1	PCK1	RAB22A	GNAS	CTSZ	PPP1R3D
平均背脂肪	0.2111	**0.0171**	0.2122	0.1279	**0.0482**	**0.0191**	**0.0643**	**0.0184**	**0.0726**	**0.0915**	0.2706	0.212	0.9694	0.2462	0.1059
胴体重	0.8243	0.5551	0.3084	0.7018	0.7148	0.5038	**0.0893**	**0.0286**	0.3126	0.3317	**0.0252**	0.7802	0.7506	0.3839	**0.0968**
コレステロール	0.8197	0.9055	0.8768	0.8607	**0.0518**	0.2322	0.5107	0.584	0.9165	0.9878	0.9638	0.8952	0.7917	0.7515	0.5105
最終肋骨背脂肪	0.321	**0.0046**	0.3322	0.1566	0.1175	**0.0577**	0.3568	0.1378	0.1634	0.1155	0.2199	0.4736	0.9713	0.481	0.1851
ロイン・アイ面積	0.479	0.1722	0.1749	0.6434	0.3872	0.5588	**0.0002**	**0.0003**	0.3391	0.3223	0.4353	0.8051	0.8501	0.4606	**0.0087**
身長	**0.0454**	0.2806	0.1294	**0.059**	**0.0988**	0.1048	0.7108	0.8736	0.1034	0.2249	**0.0971**	0.1906	0.7328	0.3637	0.9074
腰部背脂肪	0.3446	**0.0537**	0.4087	**0.0699**	**0.0506**	**0.0137**	**0.0618**	**0.0365**	**0.0957**	0.1429	0.2463	**0.0649**	0.7376	**0.075**	**0.0831**
マーブリング・スコア	0.3508	**0.0235**	**0.0164**	0.1006	0.7645	**0.0221**	0.7956	0.912	0.6907	0.8043	0.7126	0.9821	0.6636	0.7897	0.1714
第10肋骨背脂肪	0.1929	**0.0452**	0.2011	0.6511	0.1108	0.1548	0.0511	**0.012**	0.1682	0.1486	0.7022	0.6631	0.7501	0.4659	0.2744
総脂質%	**0.0869**	0.3125	0.7891	0.3109	0.3081	**0.087**	0.9587	0.615	0.5485	0.6163	0.7122	0.9087	0.2782	0.9773	0.5371
一日平均増体量	**0.064**	**0.0792**	0.2511	0.5607	**0.0853**	0.8057	0.7461	0.868	0.2441	0.5103	0.8671	**0.008**	0.5062	0.503	0.1219
一日増体試験	0.8494	0.4577	0.1485	0.1801	**0.037**	0.25	**0.0152**	**0.0305**	0.6122	0.9286	0.8214	0.5476	0.6492	0.5692	**0.0103**
平均ドリップ	0.4317	0.3022	**0.0673**	**0.0052**	**0.0016**	**0.0106**	0.7524	0.898	0.427	0.2356	0.3645	0.4989	**0.0079**	**0.0449**	0.7416
出生時体重	0.7328	0.3094	0.1691	0.8458	0.7723	0.3449	**0.0077**	**0.007**	0.1855	0.32	0.1789	0.2773	0.6668	0.2643	**0.0249**
色	0.1028	0.4384	0.4277	**0.0439**	**0.0104**	**0.0462**	0.4415	0.2338	0.1335	0.1481	0.1014	**0.005**	**0.0098**	**0.0049**	0.7563
締まりスコア	0.6369	0.8726	0.2	0.2449	0.8777	0.1702	0.426	0.6876	0.9797	0.8247	0.8221	0.7006	0.4368	0.8751	0.8338
I型繊維	0.3143	0.8995	0.3465	0.1569	0.3519	**0.0455**	0.9595	0.9568	0.6975	0.3557	0.6124	0.8608	0.7141	0.5117	0.1068
II型繊維率	0.1832	**0.0265**	0.8432	0.9583	0.3594	0.4061	**0.0016**	**0.0023**	0.5204	0.6035	0.4669	0.3354	0.3416	0.9076	0.9058
ハム・ハンター	0.6692	0.2932	0.9792	0.831	0.2075	0.6505	0.518	0.6689	**0.0352**	**0.0049**	0.4592	**0.0463**	0.7496	0.7693	0.2836
ハム・ミノルタ	0.4596	0.1567	0.9985	0.8223	0.1658	0.481	0.5497	0.7318	**0.0485**	**0.0127**	0.5998	**0.0443**	0.8835	0.7703	0.2757
ハムpH	0.474	0.8325	0.8837	0.5111	0.9265	**0.0644**	0.8317	0.7792	0.1909	**0.0203**	0.2481	0.3977	0.9717	0.7565	0.2582
ホーメル・ロイン・ハンター	0.4859	0.5177	**0.0893**	0.5586	0.1635	0.8097	0.8303	0.6833	0.2213	0.2141	0.3089	**0.0358**	0.2908	0.3707	0.5178
ホーメル・ロイン・ミノルタ	0.1753	0.7414	0.341	0.3322	0.3984	**0.0208**	0.3765	0.7036	0.7	0.9217	0.2027	0.569	0.2328	0.4654	**0.0782**
ホーメル・ロインmin. pH	0.4426	0.241	0.7292	0.137	0.4714	0.1404	0.3898	0.7525	0.3943	0.2321	0.6744	0.2462	0.5182	0.9979	0.8604
ラブ・ロイン・ハンター	0.1414	0.1913	0.5686	**0.0059**	**0.0025**	**0.0224**	0.4971	0.8216	0.1385	0.2398	0.2019	**0.0027**	**0.0237**	**0.0055**	0.9191
ラブ・ロイン・ミノルタ	0.115	0.2036	0.5364	**0.0026**	**0.0027**	**0.0092**	0.5311	0.8726	0.1185	0.207	0.1823	**0.0013**	**0.0195**	**0.003**	0.9586
ラブ・ロインpH	0.8086	0.874	0.836	0.1524	0.2711	0.3596	0.8869	0.8904	0.719	0.6875	0.8944	0.5542	0.8297	0.6126	0.904
離乳児体重	0.1102	**0.0679**	0.1871	0.5732	**0.0811**	0.7177	0.4003	0.694	0.2718	0.5334	0.9554	**0.0052**	0.6199	0.3849	**0.0651**
水分保持能	**0.0555**	0.6584	0.1967	0.1017	0.2445	0.5639	0.3261	0.5959	0.7244	0.8413	0.7853	0.586	**0.0753**	0.1775	0.4714
平均インストロンカ	0.1496	0.8037	0.5758	0.3247	0.3433	0.4511	0.5945	0.4172	0.2529	0.2393	0.851	**0.0958**	0.1863	0.1792	0.5643
チュー・スコア	0.9039	0.367	0.457	0.4152	0.1367	0.2807	0.7436	0.6801	0.532	0.4024	0.8294	0.1955	**0.0312**	0.1051	0.4717
フレイバー・スコア	0.6111	0.5987	0.5793	**0.0143**	0.5194	**0.0116**	0.1383	0.1849	0.7288	0.6746	0.3857	0.1552	0.2907	**0.0072**	0.4142
ジューシー・スコア	0.6949	0.9672	0.3216	**0.0246**	0.3035	0.758	0.3364	0.4277	0.8433	0.7165	0.7232	0.1874	0.6349	**0.0034**	0.6381
オフ・フレイバー・スコア	0.4235	0.6999	0.6563	**0.0945**	0.6348	**0.0136**	0.1119	0.3564	0.6389	0.4124	0.7374	0.5313	0.755	0.1822	0.3466
クッキング・ロス	0.919	0.8192	0.5624	0.3491	0.172	0.6246	0.817	0.6831	**0.0262**	**0.0338**	**0.0416**	**0.0368**	0.8986	**0.0197**	0.7415
テンダーネス	0.5385	0.8673	0.4155	0.1779	0.2619	0.3811	0.8192	0.6919	0.1468	**0.0869**	0.5639	**0.0593**	**0.0803**	**0.0696**	0.9105
平均グリコーゲン	0.6995	0.8379	0.2134	0.5389	0.2884	0.3759	**0.0688**	0.1753	0.775	0.6295	0.3844	0.31	0.5007	0.4841	0.4856
平均解糖ポテンシャル	0.8384	0.9815	**0.059**	**0.0556**	0.1342	0.3624	**0.0379**	0.1213	0.824	0.573	0.9926	0.9504	0.2944	0.2987	0.9866
平均乳酸	0.925	0.9362	**0.0913**	**0.036**	0.1303	0.1311	**0.0887**	0.2078	0.5795	0.2609	0.7906	0.7685	0.3163	0.3314	0.8646

有意な効果（P<0.1）は太字で示される。成長、肥満および肉質と関連する染色体領域は、それぞれ橙色、緑色および紫色で強調されている。種々の形質に対する各遺伝子の個々の効果は黄色で強調されている。肥満形質は平均背脂肪、コレステロール、最終肋骨背脂肪、腰部背脂肪、マーブリング・スコア、第10肋骨背脂肪であり、成長形質は胴体重、ロイン・アイの厚さ、身長、1日平均増体量、一日増体試験、出生時体重、I型繊維、II型繊維率、および離乳児体重であり、残りの形質は肉質形質である。

【０１４８】

結果は強い関連性がSSC17における数種の遺伝子とQTL形質との間に存在することを示している。さらに、成長および肥満形質に対する付加的かつ非常に顕著な効果も検出され、同時に他の肉質形質とのいくつかの関連性も検出された。

【０１４９】

PKIGおよびMMP9は主に肥満および成長形質との関連性を示した。この染色体領域は一日平均増体量と有意に関連していた。さらに、PKIGは身長に対する有意な効果を有することも示された。MMP9は、最終肋骨、背脂肪、第10肋骨および平均背脂肪を含むいくつかの背脂肪形質に著しく影響し、またマーブリング・スコア（marbling score）に対する影響をも有していた。

【０１５０】

SSC17上のQTLピークに近接して位置する遺伝子を解析したとき、幾つかの遺伝子、すなわちPTPN1-ATP9A-CYP24A1-DOK5を含む染色体領域（80.4cM～83.6cM）と、全てのQTL形質との間で有意な関連性が検出された。実際に、PTPN1-ATP9A染色体領域（80.4cM～83.6cM）が平均解糖ポテンシャルおよび平均乳酸と有意に関連することを示し、ATP9A-CYP24A1-DOK5を含む領域（83.6cM～88.3cM）は色、ラブ・ロイン・ハンターおよびラブ・ロイン・ミノルタに対する有意な効果を有していた。さらに、この区間はその他の重要な肉質形質、すなわち平均ドリップにも影響を及ぼした。さらに、ATP9A-CYP24A1（83.6cM～85.3cM）領域が身長（成長形質）および腰部背脂肪（肥満形質）と関連することも見出された。ATP9Aは3つの更なる肉質形質（フレイバー（flavor）、オフ・フレイバー（off flavor）およびジューシー・スコア（juiciness score））にそれぞれ影響を及ぼし、一方CYP24A1変異体は平均背脂肪、一日平均増体量および試験中の一日平均増体量に対して有意な効果を有していた。

【０１５１】

QTLピーク下にマッピングされた一部の遺伝子は、全てのQTL形質とは関連性を示さなかった。しかし、CYP24A1-DOK5-MC3R-AURKAを含む領域（85.3cM～90.4）は平均背脂肪および腰部背脂肪に対する有意な効果を有していた。さらに、DOK5は最終肋骨背脂肪、マーブリング・スコアおよび総脂質%、ならびに他の肉質形質（ハムpH、フレイバー・スコアおよびオフ・フレイバー・スコア）に著しく影響した。

【０１５２】

染色体領域MC3R-AURKA（88.3cM～90.4cM）は、いろいろな成長形質（胴体重、ロイン・アイ面積（loin eye area）、試験中の一日平均増体量、出生時体重、II型繊維率）および肥満形質（平均背脂肪および腰部背脂肪測定値）に対するかなり顕著な効果を有していた。さらに、MC3Rは2つのQTL形質（平均解糖ポテンシャルおよび平均乳酸）、ならびに関連の形質（平均グリコーゲン含有量）と有意に関連していた。

【０１５３】

SPO11およびRAE1は肥満形質（平均背脂肪および腰部背脂肪）だけでなく、いろいろな肉質形質（ハム・ハンター、ハム・ミノルタおよびクッキング・ロス）とも関連することが見出された。PCK1は2種類の成長形質（身長および胴体重）および1種類の肉質形質（クッキング・ロス）に影響した。この形質は染色体領域SPO11-RAE1-PCK1-RAB22A（97.4cM～100.3cM）によって著しく影響される。

【０１５４】

RAB22A-GNAS-CTSZを含む染色体領域（100.3cM～103.4cM）は一部のQTL形質（色、ラブ・ロイン・ハンター、ラブ・ロイン・ミノルタ）および2種類の別の肉質形質（平均ドリップおよびテンダーネス・スコア）に著しく影響した。さらに、RAB22Aはハム・ハンター、ハム・ミノルタおよび平均インストロン力（average instron force）（全てが肉質形質）にそれぞれ影響した。さらに、この遺伝子は成長形質（一日平均増体量、離乳時体重）および肥満形質（腰部背脂肪）に対する有意な効果をも有していた。GNASおよびCTSZはそれぞれ、水分保持能、クッキング・ロスおよびチュー・スコア、フレイバー・スコアおよびジューシー・スコアを含む様々な肉質形質に影響した。

【０１５５】

腰部背脂肪は染色体領域CTSZ-PPP1R3D（103.4cM～107.5cM）によって著しく影響された。最後に、PPP1R3Dは種々の成長形質（胴体重、ロイン・アイ面積、試験中の1日平均増体量、出生時体重および離乳時体重）と有意に関連した。

【０１５６】

これらの全ての結果は、これらのマーカーが肉質および成長形質の点で改善されたブタの選別に使用することができることを示している。

【０１５７】

ISUブタ資源集団において実施された研究に加えて、9個の遺伝子の効果を数種の商業上の純粋系統および人造系統においても解析した。結果を表17に示す。

【表１７】

表17－商業上ブタの資源集団における、PKIG、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、MC3R、RAE1、RAB22A、GNASおよびCTSZ遺伝子型と種々の成長、胴体組成および肉質形質との関連性

	PKIG	PTPN1	ATP9A	CYP24A1	MC3R	RAE1	RAB22A	GNAS	CTSZ
dirty wt	0.89	0.4	**0.02**	0.79	0.81	0.52	0.4	0.53	0.51
hcw	0.87	**0.04**	0.15	0.73	0.78	0.55	0.5	0.40	0.86
ccw	0.56	**0.05**	0.31	0.9	0.96	0.82	0.63	0.46	0.84
L_binwt	**0.01**	0.41	0.41	0.37	0.92	0.65	0.44	0.11	0.36
L_blswt	**0.06**	0.44	0.25	0.48	0.1	0.6	0.11	0.95	0.81
ﾛｲﾝ･ﾐﾉﾙﾀ I	**0.06**	0.62	0.45	0.3	0.75	0.16	0.43	0.30	0.34
ﾛｲﾝ･ﾐﾉﾙﾀ a	**0.05**	0.93	0.98	**0.09**	0.7	0.46	0.43	0.87	0.69
ﾛｲﾝ･ﾐﾉﾙﾀ b	0.77	0.92	0.59	0.69	0.96	0.91	0.4	0.36	0.4
japcs	**0.02**	**0.05**	0.8	0.56	0.26	0.41	0.23	**0.05**	0.22
ﾏｰﾌﾞﾘﾝｸﾞ	**0.04**	0.82	0.63	0.36	**0.09**	0.3	0.8	0.58	0.26
締まり	0.11	0.94	**0.01**	0.14	0.74	**0.04**	0.7	0.15	0.61
ﾛｲﾝ pH	0.34	**0.05**	0.64	0.39	0.97	0.54	0.17	0.72	0.96
h_binwt	0.45	0.93	0.5	0.81	0.25	0.24	0.37	0.50	0.5
h_blswt	0.66	0.15	0.95	0.25	**0.08**	0.48	0.75	0.25	0.57
ﾊﾑ･ﾐﾉﾙﾀ I	0.69	0.28	0.24	0.45	0.4	0.21	0.25	0.26	**0.02**
ﾊﾑ･ﾐﾉﾙﾀ a	0.6	0.71	0.66	0.34	0.63	0.54	0.82	0.58	0.81
ﾊﾑ･ﾐﾉﾙﾀ b	0.91	0.99	0.66	0.64	0.91	0.45	0.38	0.23	0.12
ﾊﾑ pH	0.74	0.44	0.65	0.17	0.89	0.83	0.18	0.69	0.76
ﾄﾞﾘｯﾌﾟ%	0.95	0.15	0.38	0.15	0.29	0.63	0.18	0.47	0.98
Hpro 脂肪	0.18	0.29	0.4	0.2	0.72	0.54	0.28	0.30	0.5
Hpro 肉	0.14	0.58	0.47	0.13	0.2	0.9	**0.08**	0.77	0.6
Hpro 肋骨	0.99	0.44	0.41	0.98	**0.09**	0.12	0.3	**0.014**	0.76
LM%	0.44	0.57	0.86	0.38	0.3	0.32	0.51	0.39	0.75
aloc_f	0.46	0.16	0.84	0.31	0.64	0.75	**0.02**	**0.04**	**0.051**
endwt	0.95	0.91	0.52	0.74	0.86	0.3	0.54	0.52	**0.005**
days	0.91	0.59	0.63	0.71	0.8	0.94	0.94	0.13	**0.02**
LDG, g/d	0.95	0.63	0.45	0.91	0.49	0.38	0.36	0.89	**0.06**
TDG, g/d	0.94	0.67	0.25	0.44	0.67	0.2	0.57	0.96	**0.04**
US_MD	0.85	0.68	0.77	0.82	0.54	0.47	0.37	0.88	0.6

有意な効果（P<0.1）は太字で示される。成長、肥満および肉質形質と関連する染色体領域は橙色、緑色および紫色でそれぞれ強調される。

【０１５８】

これらの商業上の系統において決定された結果は、色に関連する形質（ロインおよびハム・ミノルタ・スコア）および他の肉質形質、ならびに成長および肥満との強い関連性を示唆している。これらは全てブタ肉産業において価値のある形質である。本発明者らは、この産業がこうした情報を利用し得る最良の方法が、これらの遺伝子の全てを遺伝マーカーとして同時に使用することであると考えている。このストラテジーを用いるならば、肉質形質のみならず、成長および肥満形質についても選別が可能になる公算が非常に高い。特にPKIG、MMP9、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、AURKA、PCK1、RAB22A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3Dをマーカーとして使用して、改善された成長関連形質を選別することができる。さらに、MMP9、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、AURKA、SPO11、RAE1、RAB22A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3Dをマーカーとして用いて、改善された肥満関連形質を選別することもできる。最後に、PKIG、PTPN1、ATP9A、CYP24A1、DOK5、MC3R、SPO11、RAE1、PCK1、RAB22A、GNAS、CTSZおよびPPP1R3Dをマーカーとして用いて、改善された肉質形質を選別することもできる。したがって、改善された成長、肥満および肉質形質の選別を助けるために、SSC17の肉質QTL領域にマッピングされた遺伝子を単独でまたは組合せて遺伝マーカーとして使用することが保証される。

【０１５９】

全てのPCR試験は先に列挙した条件を用いて実施した。以下は先のデータを作成するの

に用いたプライマー、塩基変化および制限酵素のリストである。全てのデータは切断された対立遺伝子について記録される。塩基変化を含むプライマーによって増幅された領域の配列を図3～5および7～18に示す。

【０１６０】

遺伝子	プライマー配列	酵素	塩基変化
PKIG	F: 5'-GCTTGCATGATGGAGGTC-3' R: 5'-GGGCAGCTTAGGACTTGG-3'	Dde I	C/T
MMP9	F: 5'-AGCCCCGCTCCCTATTTT-3' R: 5'-GAGTTGCCTCCCGTCACC-3'	Msp I	C/G
PTPN1	F: 5'-ACATTTCCACTATACCACA-3' R: 5'-TAAATCTGGGACCATGTAA-3'	Nae I	C/T
ATP9A	F: 5'-TGGTTCTGGACAAAGATGTCA-3' R: 5'-ACACAAGAGCATTTCGAGGG-3'	Afl III	C/T
CYP24A1	F: 5'-ACGATACGCTGGTAAATGCC-3' R: 5'-CATAGCCCTCCTTGCGATAG-3'	Alw NI	A/G
DOK5	F: 5'-AACAGAGACTTTTCCCCCCTA-3' R: 5'-GTTTTTTGTTTATGAAAGAGG-3'	Bse RI	C/T
AURKA	F: 5'-AGATGATAGAAGGCCGGATG-3' R: 5'-GTGATCCAGGGGTGTTCG-3'	Taa I	A/G
SPO11	F: 5'-AACCCAGACCGTTCCTAATG-3' R: 5'-GATAATCTGATGAGAGGAAGGTCAA-3'	Mse I	G/T
RAE1	F: 5'-GGCAGCCAACCACAGATAA-3' R: 5'-GGACCGTAAGCAGCACTCTC-3'	Bst UI	G/T
PCK1	F: 5'-GGCACGTCAGCGGTAAGT-3' R: 5'-GATCTCGTCCGCCTCCTC-3'	Bcc I	A/G
RAB22A	F: 5'-GGGTGCCTGAGTGAGGAAAG-3' R: 5'-TTGCATGGATGGAGTCGG-3'	Taq I	A/T
PPP1R3D	F: 5'-GGACCTGGAGTTCACCCTGC-3' R: 5'-GCGCTAGCAGGAAGGGTGG-3'	Nae I	A/G

【０１６１】

参考文献

本文を通して引用された全ての参考文献は、参照によりその全体を本明細書に組み入れる。

Chen, A. S., Marsh, D. J., Trumbauer, M. E., Frazier, E. G., Guan, X. M., Yu, H., Rosenblum, C. I., Vongs, A., Feng, Y., Cao, L., Metzger, J. M., Strack, A. M., Camacho, R. E., Mellin, T. N., Nunes, C. N., Min, W., Fisher, J., Gopal-Truter, S., MacIntyre, D. E., Chen, H. Y., Van der Ploeg, L. H. T., 2000. Inactivation of the mouse melanocortin-3 receptor results in increased fat mass and reduced lean mass. Nature Genetics, 26, 97-102.

Deussing, J., von Olshausen, I., Peters, C., 2000. Murine and human cathepsin Z: cDNA-cloning, characterization of the genes and chromosomal localization. Biochimica et Biophysica Acta, 1491, 93-106.

Malek, M., J. C. M. Dekkers, H. K. Lee, T. J. Baas, and M. F. Rothschild. 2001. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. I. Growth and body composition. Mammal. Gen. 12:637-645.

Malek, M., J. C. M. Dekkers, H. K. Lee, T. J. Baas, K. Prusa, E. Huff-Lonergan, and M. F. Rothschild. 2001. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. II. Meat and muscle composition. Mammal. Gen. 12:630-636.

Russo, V., Fontanesi, L., Davoli, R., Nanni Costa, L., Cagnazzo, M., Buttazzoni, L., Virgili, R., Yerle, M., 2002. Investigation of candidate genes for meat quality in dry-cured ham production: the porcine cathepsin B (CTSB) and cystatin B (CSTB) genes. Animal Genetics, 33, 123-131.

Santamaria, I., Velasco, G., Pendas, A.M., Fueyo, A., Lopez-Otin, C., 1998. Cathepsin Z, a novel human cysteine proteinase with a short propeptide domain and a unique chromosomal location. Journal of Biological Chemistry, 273(27), 16816-16823.

Schalin-Jantti, C., Valli-Jaakola, K., Oksanen, L., Martelin, E., Laitinen, K., Krusius, T., Mustajoki, P., Heikinheimo, M., Kontula, K., 2003. Melanocortin-3 receptor gene variants in morbid obesity. International Journal of Obesity, 27, 70-74.

Yu, S., Gavrilova, O., Chen, H., Lee, R., Liu, J., Pacak, K., Parlow, A. F., Quon, M. J., Reitman, M. L., Weinstein, L. S., 2000. Paternal versus maternal transmission of a stimulatory G-protein α subunit knockout produces opposite effects on energy metabolism. Journal of Clinical Investigation, 105(5), 615-623.

Yu, S., Castle, A., Chen, M., Lee, R., Takeda, K., Weinstein, L. S., 2001. Increased insulin sensitivity in $G_s\alpha$ knockout mice. Journal of Biological Chemistry, 276(23), 19994-19998.

【図面の簡単な説明】

【０１６２】

【図１】SSC17上の肉質と関連するQTLを証明するF比（F-ratio）曲線を示す。ｘ軸は連鎖マップ上の相対位置を示す。ｙ軸はＦ比を表す。ｘ軸上の矢印はマーカーが存在する位置を示している。対象の形質が示される：AVGP=平均解糖ポテンシャル；AVLAC=平均乳酸；COLOR=色；LABLM=ラブ・ロイン・ミノルタ（Lab Loin Minolta）；LABLH=ラブ・ロイン・ハンター(Lab Loin Hunter)。

【図２】図2Aは、酵素AlwNIによる予測された消化パターンを示す、ブタカテプシンZ(CTSZ)遺伝子の330bp断片のPCR-RFLPを示す。図2Bは、酵素BbsIによる予測された消化パターンを示す、ブタGNAS遺伝子の321bp断片のPCR-RFLPを示す。図2Cは、酵素MnlIによる予測された消化パターンを示す、ブタMC3R遺伝子のPCR-RFLPを示す。

【図３】ブタにおけるCTSZのコンセンサス配列を示す。
【図４】ブタにおけるGNASのコンセンサス配列を示す。
【図５】ブタにおけるMC3Rのコンセンサス配列を示す。
【図６】第17染色体上にマッピングされた遺伝子のマップを規定する。
【図７】ブタにおけるPKIGのコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図８】ブタにおけるMMP9のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図９】ブタにおけるPTPN1のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図１０】ブタにおけるATP9Aのコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図１１】ブタにおけるCYP24A1のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図１２】ブタにおけるDOK5のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図１３】ブタにおけるAURKAのコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図１４】ブタにおけるSPO11のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図１５】ブタにおけるRAE1のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図１６Ａ】ブタにおけるPCK1のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図１６Ｂ】図16Aの続き。
【図１６Ｃ】図16Bの続き。
【図１７】ブタにおけるPAB22Aのコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図１８】ブタにおけるPPP1R3Dのコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される。
【図１９】本発明による第17染色体のQTLの詳細マッピングを示す。

【図１】

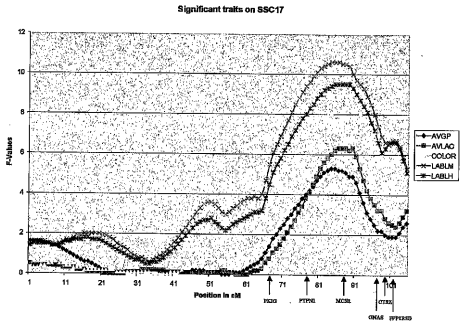


Fig.1

【図２Ａ】

***AlwNI* expected pattern**

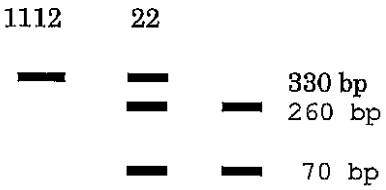


Fig.2A

【図２Ｂ】

***BbsI* expected pattern**

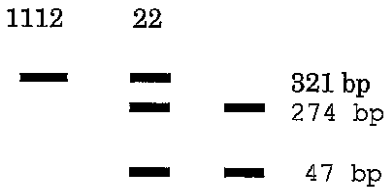


Fig.2B

【図２Ｃ】

***MnlI* expected pattern**

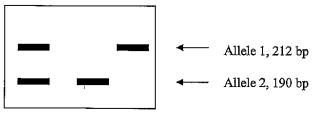


Fig.2C

【図３】

CONSENSUS SEQUENCE OF CTSZ IN PIG

#1	GCGGGCGCGG CGCGGGCCGG CCTCCACTTC
#31	CGCCCGGGCT GCAGCTGCTA CCGGCCCCTG
#61	CGCGGGGGAC CAGCGGACCC AGTTGGGGCA
#91	CAGGTCGGGG ACGGGGGGGC YGCCCRACTG
#121	CCGGGGCCTC GCGCGCTCTC CCGCCTCTAG
#151	GGACCCTGCC GCCTCTTTGG GGCGCCCTGC
#181	CCCCCTTGAC CTCTGCGGGT CAATGCAGCC
#211	CTTTGCTGCG GGGGCAGTTT CTCTCCCATT
#241	TGCGGCCTGG GCCAAAAGCC CCGTCAGCGC
#271	AGGAGGCAGG CCAGCCGCAC CTGCCCGGCA
#301	TTTGGGGCAT CTGGGGCCTT GCTGGGGGAG
#331	CGGCCCGGCT CCTGCCTGGT TGCGGGGCGC
#361	GGGGAGGGAA TGCGCTGCCT CCTGGATATT
#391	NTGGGAGGGT GGGGGTCTGC CCGCCCTCTC
#421	ACTTGGGGGA GGGGAGAGGG CTGCCCGTGC
#451	CCCCCACCCC TGCGCCAGGA GCCCCCGTGC
#481	TGATTCTGCC CGTGGTGATC TGTTCCCAGG
#511	ACGTACCCCC GGCCTCATGA GTACCTGTCC
#541	CCATCGGATC TGCCCARGAG CTGGGACTGG
#571	CGCAACGTGA A

The position of a single nucleotide polymorphism is indicated with a bold and underlined letter.

R = A or G
Y = T or C
N = A or C or G or T

Fig.3

【図４】

CONSENSUS SEQUENCE OF GNAS IN PIG

1	ATGCACCCCT TCTCASAGGG CAGAGGATGC AGAGYCTTCT TTCCAAGCCA
51	GTCAGCATTT TTGCTCCAGG TTGGCAATGA TTAACACTTG GGTTGGTTTT
101	GGTGAGACCG CTTAATCTGA GACTTTGTTT TAGGACCTGC TCCGCTGCCG
151	CGTCCTGACT TCTGGAATCT TTGAGACCAA GTTCCAGGTG GACAAAGTCA
201	ACTTCCAGTA AGTAAACGGT TCCTTTTTTT WAGAAAGAAA AATAGGTTTC
251	TCGAGGTCCC CCCGCAGTGA GCATGGTGGA CCATGGTAGC CCTTGTGGTG
301	ACCAGGCGTC CTCTCTCTCC TGCAGCATGT TTGACGTCGG TGGCCAGCGT
351	GACGAGCGCC GCAAATGGAT CCAATGCTTC AATGGTATGG AAGCCCTGGG
401	CTTCTCTGCT CTTTAAGGCT ATTTCCCCCC CCCC:CCCC: CCCCCCGATG
451	GTTCAGGCTC ATGGTCACTC CTAACACTGC ATCGTCTTTC TCTCTTGTGC
501	CGAAGACGTG ACCGCCATCA TTTTCGTGGT CGCCAGCAGC AGCTACAACA
551	TGGTCATTCG GGAGGACAAC CAGACCAACC GCCTGCAGGA GGCCCTGAAC
601	CTCTTCAAGA GCATCTGGAA CAACAGGTTT GTGCGGTGAC CCCCCGGCGT
651	CCTCCCCACG GAGCTCGAGG CCCTGGATCT GCATGGTGCA GGGGAAGGAG
701	TYCCTGTGCA GGCACCCCAG CCCCCTGCAG AGAGGGCGCC CCCCTTCCCG
751	GGCGCTGACC CCGCT

The position of a single nucleotide polymorphism is indicated with a bold and underlined letter.
R = A or G
Y = T or C
N = A or C or G or T

Fig.4

【図５】

CONSENSUS SEQUENCE OF MC3R IN PIG

1 CCATGTACCTCTTCCTCTGCAGCCTGGCCGTGGCCGACCTGCTGGTGAGC

51 GTGTCCAACGCCCTGGAGACCATCATGATCGCCGTGGTCAACAGCGACGC

101 CCTGACCTTCGAGGACCAGTTCGTCCAGCACATGGACAACGTCTTCGACT

151 CCATGATCTGCATCTCGCTGGTGGCCTCCATCTGCAACCTCTTGGCCATC

201 GCCGTGGACAGGTACGTCACCATCTTCTACGCGCTGCGCTACCACAGCAT

251 CATGACCGTGCGGAAGGCGGGGGCCCTGATCGCGGCCATCTGGGTGTGCT

301 GCGGCGTCTGCGGCGTGGTCTTCATCGTCTACTCCGAGAGCAAGATGGTC

351 ATCGTGTGCCTYGTCGTCATCTTCTTCGCCATGCTGCTCCTCATGGGCAC

401 CCTCTACGTGCACATGTTTCTCTTCGCCCGGCTGCACGTCCAGCGCATCG

451 CCGCGCTGCCGCCCGCCGACGGGGGGCCCCCCCCGCAGCGCTCGTGCCTG

501 AAGGGGGCCGTGACCATCTCCCTCCTGCTGGGGGTCTTCATCTTCTGCTG

551 GGCCCCCTTCTTTCTCCACCTGGTTCTCATCA

The position of a single nucleotide polymorphism is indicated with a bold and underlined letter.

R = A or G
Y = T or C
N = A or C or G or T

Fig.5

【図６】

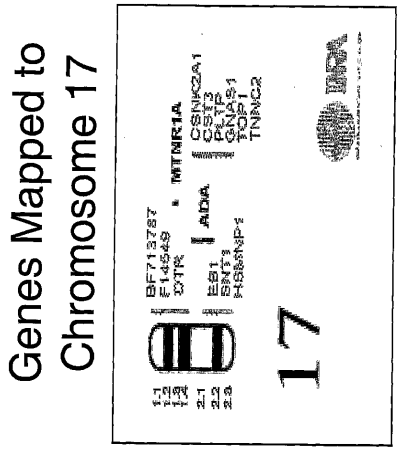


Fig.6

【図７】

CONSENSUS SEQUENCE OF PKIG IN PIG

GCTTGCATGATGGAGGTCGAGTCCTCCTACTCGGACTTCATCTCCTGTGACCGGACGGGCCGTCG
GAACGCCGTTCCTGACATCCAGGGAGACTC{C/T}GAGGCCGTGAGCGTKMGGAAGCTGGCTGGT
GACATGGGCGAGCTGGCCCTCGAGGGGGCAGGTGAGCACCCACGGTCTTCAGGCCCTCCTGGTG
TGAGAGACCCTCTCCTGGGCTCCAGGGCTGGCCTCCAAGTCCTAAGCTGCCC

Fig.7

【図８】

CONSENSUS SEQUENCE OF MMP9 IN PIG

CAGACGGCTACCGCTGGTGCGGCACCACYGCCAACTACGACCAGGACAAGCTTTATGGCTTCTGC
CCTACCCGAGGTACCTCTGCCCCGCCTACCTGATTCAGCCCCGCTCCCTATTTTCGCGTTGGTCCC
CGAGCATGGCTCTTCCACCCATYGRTTTGTCGTTCCACTCCTCATCGGCCCTCGGGATCACCTTGA
CTCTGCCCGCCATCGCCATAGCTCCTCCCTCTGCCTTCCAATTGYTGCCGCCGCGTCCGCGGAAGC
TTGGCCTTTTAGCCCAGCTGGCAGCCTCTCCATGGGTCTCCAGCCCCAGGCCCCGCCCATCAGCCT
AGCCC{CG}GTCTCAGCTGTGCCCCACAACGCCCCCTAGGCTTTTAAAATGGGCCTCCAAGATTYT
CTTGCTCCTCGATTGGCCCAMCTCTGGCTCCTTTTTGGACCCGTCCCTTTGGCTTAACCTGGGGGG
CTCTGGGTCTCTCCAGCTGACTCGACGGTGACGGGAGGCAACTCGGCGGGGGACCTGTGCGTCTT
CCCCTTCACCTTCCTGGGCAAGGAGTACTCGGCCTGCACCA

Fig.8

【図９】

CONSENSUS SEQUENCE OF PTPN1 IN PIG

ACATTTCCACTATACCACATGGCCTGACTTTGGAGTCCCCGAATCGCCAGCCTC
ATTCCTGAACTTTCTTTTCAAAGTCCGTGAGTCGGGGTCCCTCAGCCTGGAGCAY
GGCCCCATYGTGGTGCACTGCAGTGCCGG{C/T}ATCGGCAGGTCGGGGACCTTC
TGTCTGGCTGACACTTGCCTCTTGCTGGTAAGAAGGCCCTTGAAGACCCAGGGA
AGAGAAGGGACCACACTTGAACCTCCACTCTGGCTTGGCCAGAGCCTCTCCGTT
AGTGTTTCTGCAGTAAACTAGCTTTGACCTTCACTTTTTAACAGCTTCCCTCCTG
TGAAAGGAGCCTTTCCCCAAATAGCTTCGTTTGAARGGATGCTCTTAATTTTATT
GTGGAAGCTGGGAAGATCCAAAGAATCCCCTTCCCTCTGATTTTTTTCCCCTTAC
ATGGTCCCAGATTTA

Fig.9

【図１０】

CONSENSUS SEQUENCE OF ATP9A IN PIG

GTGTTTTCTCTGGTTCTGGACAAAGATGTCAAGTCAGAAGTCGCCATGCTGTAC
CCCGAGCTCTACAAGGATCTCCTCAAGGTTCGTGGAGCCCCCTCCTCCCCTCCCC
AGCCCTCATTTCTTCTTCCGTCTCTCCATCTCTCCTTCTCGCACCGTATTTCACAC
ACACCCTCCGTGTCCAATGTGAA{C/T}ACGTGACCTGGAGGCTTTCTTACCTTGG
GGAGGAAGGCCTGGGAGGTAATATTTCTTCTTAAAGTAACCTATGCACACGTAG
AGAATATTAAACTGTGCAGGGATATGAAATGAAAACAGACCAACTAGGACTTT
TTAAAAAGCCCCCAAGAGTCTCATTTCATAGCTGCAGCTTGTGTCTATCCCTCGA
AATGCTCTTGTGTGCACTTCTGAAAACATGTGGGTGAGTAATTTCATGTATCTGT
CCTCCAGGGGTTTTTAATAAAGAGCATTTGTTTCTATCTGGTATTCACTCTCTTT
AAAACACATAATTTCTCGAATGTATTTAGGTGTGTGCGTGCCACTTTTTCGAGGC
AAACAGGCAGCTTGTCTTGTCTGGTGGGTGAAGAGTGGCTTAAGGGCGGCTGGA
GGAGCCCGCGGTCACCTGCTCTGTCTTCCTCTCCCTCCCTCAGGGGCGGCCGTTG
TCCTACAAGACATTCTTAATCTGGG

Fig.10

【図１１】

CONSENSUS SEQUENCE OF CYP24A1 IN PIG

ACTACAGCAGCTGCGCAGCCTGGGGCAGCCCCCCAGACCCGTGACATCTACGGC
TTGCGTGCCCCGACGGTCGAAGGAGGTGCCTCTCTGCCCAATGGAGCAACCCGG
CGAGACGCAAGACGCGGCCGCCCTGCCGGGTCCCACCAGGTGGCCACTGCTGG
GCAGCCTGCTGGAGATTCTCTGGAAAGGGGGGCTCAAGAAACAGCACGATACG
CTGGTAAATGCCTCGTCGCACCCCAAGTCCCTCCCGCTCCCTGCCTTGTCTCCA
CATCCTCCCCGAAGCGTGGAGCTGGGGCGCGCGGTGCACGGTGCGCTCAGGGG
TCCCAGCTCCAGCGGTCCCAGCTCCAGCGGTCCCCGGCCCCCCGGGAGGAAGGA
GGCGGGAGGAGGGAGAAGCGCTCTCCTGACCGCAGGGGATGCGCCCTGACCTC
GCACCTGCCCGGCTCGCTGCAGGCGGAGTACCACAGGAAGTATGGCAAGATTTT
CCGCATGAAGTTGGGTTCCTTCGACTCCGTGCACCTGGGCTCGCCGTGCCTGCTG
GAAGCGCTCTACCGCACCGAGAGCGCGCACCCCCAGCGGCT{A/G}GAGATCAA
ACCGTGGAAGGCCTATCGCGACTATCGC

Fig.11

【図１２】

CONSENSUS SEQUENCE OF DOK5 IN PIG

ATCGAACAGAGACTTTTCCCACCTACCCATCTGAGCACTG:ACTGAACTGGCCAG
:AATTGTTGTG:ACACGCTTGAG:ATGTGTCAGCCACAG:ATCCACCCGGGAGGTC
AAAGGATGA:CCCCGAGGGAAGCGAGGAAGATGCTCCACGTCCTGGCCGACTGT
GTGGTCCTTGGGAAATTGCAATACTCTCCTTGTCTTTTTC{C/T}TCCCCCCCCCCT
TTTTCATAAACAAAAAACCCTTAGCTTAATTGAAACCTGCTCTATAGATAACGA
CATTTGGTTCCCTCTTCTTCGACAGCTGGACA:GAAAGGAGGTGATGCCGCAAAA
TGTTTTT:CTATTGTCGGTATCCCTGCCCTTTGCGCTT:CTCTGACTCTGTCCTTTTG
CGGATTCTTGTGATTTTCCTTCCAA

Fig.12

【図１３】

CONSENSUS SEQUENCE OF AURKA IN PIG

AGAGATGATAGAAGGCCGGATGCATGACGAGAAGGTGGATCTCTGGAGCTTGG
GGGTGCTTTGCTATGAATTCCTGGTTGGGAAGCCCCCCTTTGAGGCAAACACGT
ACCAAGAGACCTACAAAAGGATATCCCGGGTAAGGTGTCACTAGGAGGACCCA
TGGTTCTGTTAGCACGTCCTCGTCAGCCTCAGCTGGGGCTGCGAGCTGGCGGTG
CCCTTCTCTCCAAGCCCCTTTGTGACTGTCACTTACTGTGCACTTATCCAGGTGG
AATTCACCTTCCCTGACTTTGTGCCCGAGGGAGCCAGGGACCTCATCTCAAGAC
T{A/G}TTGAAGCACAACCCCAGCCACAGGCCCACCCTCAAGGAGGTGCTCGAAC
ACCCCTGGATCACCGC

Fig.13

【図１４】

CONSENSUS SEQUENCE OF SPO11 IN PIG

AAAGAGACCTTATGTTGCTTGCCAACCRTTTTGGAGAAAAGAAGTATGGTTCTT
TTTAAAATTCAAATGTTACGTGTTTTATTGCCTTTCCTTCAGGAGTGGCTATTTA
TATAATATTTTGAAACTATCCTTCTTGAGTTTTTATATAAACAGCAACTAATGTG
TGTATTTTTTGGCAGCAAATGGTTGTTGAAACATTGAACTGTGAATGATAATAA
AATCAGCCGGGTAGAGCTGAGCTAGTTTTACCCTCATCATAGTTCTGTACCCATT
GTCTATGGCTGTGTCATAGTTCATGGGGAAAAAGAAGAGAAGGAAATTCTTAA
GAACCCAGACCGTTCCTAATGATTAAACACATCC{G/T}AACTGTTATTTTTAGCT
GTAGCAGCTCTAGAATATTCTGGCTGACCTAAAGTTCAGTGCCCAGTTTTGGAG
ACTAAAACAAATCTAGATTTACCAGTTTGAGTTGACACAACTRTAGCAAAGGGC
TCTGGGATGATTGTATTTACTTTTATTGACAGATGGAAAT:CATGGCAGACTCTA
AAATGAAGGCAGAGATTCAAGCTTTGACCTTCCTCTCATCAGATTATCTTTCCG

Fig.14

【図１５】

CONSENSUS SEQUENCE OF RAE1 IN PIG

TGTTTGGCAGCCAACCACAGATAATCACAACCCTATGAAGGTACC{G/T}CGTAA
AGCTTCATGGGGCTTGCAGCACCTRTGCAGGCCAGGTTTCCCATGTCTGTGACA
GCGGGAGAGCCCAGGTGGTTTGGGAACTTCCTTCAGGGTGAAAACTCTGGGAGT
TTGTCTAGCCTGCCTTCTCARATGCCAGAGCGCAGGCACTGTGTGTGCCCTGGA
CTRATGTCCTGTTYCCCCTGATAGCCCCGATCCCCGGAATCACTTGAGGTGCTCG
TTAAAACTGCAGGTTCCCAGGACCCAGCCCACAACTGTTGCGTCAGGATTTCTT
TGGAAGAGGGGTGGAGGAAGGGGCGCAGGTGTGAACTGGGGGGCTAGCCACA
GGTGTGGGCCTGCCTTTGAGAGTGCTGCTTACGGTCCCAGCGGGGCCAGTATTT
TCACTGGCTTATTTACACCCCCCCCTTTTTATTAACAAAGTAAGGATGGTCTCA
TTCAGTCAGTCCTTGAGCACCATTAGGTGTTTAGTGGGAAAGAAAGTAATTTTG
AATTAAATTTTGGTGATGCGTATGTTTTAACATGGACTTCTTCCACCCCAGGATA
TTGAAGTAACATCCTCTCCTGACGATAGCATTGGTGTCTATCTTTAGCCCACCCA
CCT

Fig.15

【図１６Ａ】

CONSENSUS SEQUENCE OF PCK1 IN PIG

CACTCGGCCAAAGTCGTCCGGGGCACCCTGGACAGCCTGCCCCAGGCCGTGCGG
GATTTCGTGGAGAGCAGCGCCAAGCTGTGCCAGCCTGACCAAATCCACATCTGC
GATGGCTCCGAGGAGGAGAACCAGCAGCTGCTGAGCCACATGGAGGAAGAGGG
TGTCATCAAGAGGCTGAAGAAGTATGACAACTGGTGAGTCCCGCCCCGGCCCCC
GTGGTGGCTTCCCTGTCCCCAGCGAGCGAGCTGCAGGTGGGAAGAGGTGGAAG
AGGGGCTGTGTGGTTCGCAGGCTCTTGAAAAACTTAACCAAAGAGTCAGAAAC
GCATAGTCTTAATTTTATGATATTGGCAGAGCAGCCCAAGGTCTCAGGGAGAGG
GCGCGTGCAGGCCCTCTTTGCATTTAGATCCTTGATCAAAACCAAGGTCAGACC
ATCCCTGTCCTCGACGACTCGCCCCTAGTCTATGAAAGGTCCCCCGACCGAGTG
CCAGTCGGCGTGGCTGTGTCCACACGGACGGACCATCATCTGTGAGCCCGGCAC
CTGCCAGGTGTGGGAAGAACGTGCTAATGAGTAAACGGGTCCCATCCGGAAGG
ATGGGGGGTCCAGGGCATGGGGGGTAGCAGCACAGCCCTCTCCCGTCCCAACCT
GGGTGTTTTGATTTTTGCAGCTGGTTGGCTCTCACAGACCCCAGGGACGTGGCC
AGAATTGAAAGCAAGACGGTCATCATTACTCAGGAGCAAAGGGATGCGGTGCC
CATCCCCAGAAGCGGCCTCAGCCAGCTGGGTCGCTGGATGTCCCCGGAGGACTT
CGAGAAAGCCTTCAATGCCCGGTTTCCGGGGTGCATGAAGGGTGAGTGAAACCT
TTACCTGATTGGGTGAAATATCAGCGAAACTTTTCTCATCGATCTGGCCTCATGG
TAGTTGTAATAGAACCTCCCGTGGCCTCAGCGAGCTTTAAATTCCGTGTGTGAA
ATGGGCCGTGTATTGACACTGCCCAGCGCAGTGTGGCTGGATAGACTGACTTGC
GTGGCCATGGAAACAGTTTCCACGCACGCAGCGCGAAGACAGCTTGGAGGGAC
CCAGCTGCGCGTTGGTGAAAAGTCTTTCATTTGGGGGCTCTGTTCACTCTCCAGT
GGGCTCCTCCAAATCGGGGAGGGGTGTCCAGCGGCAAARGGGCGTGTTGTCCA
AGGGGGATCAGGAGGAGGGTCGCCGGGGACACCGGGGGTGGCGGCTGGGGAG
TCCGGGGTGACCCCTCACCCGNTGCCCCCTNCTGCCCCCGCAGGTCGCACGNTN
TATGTCATCCCGTTCAGCATGGGGCCCCTGGGCTCGCCCCTGTCCAAGATTGGC
ATCGAGCTGACGGACTCGCCCTACGTGGTGGCCAGCATGCGCATCATGACGCGG
ATGGGCTCGGCCGTCCTGGACGCGCTGGGGGCGGGCGAGTTCATCAAGGGCCTC
CACTCCGTGGGGTGCCCCCTGCCTTTGAAAAGTAAGCAGGTGCATTTCCAAATC
GACAGCTGGAGTTGGGAAAAAAGGCGTTTCCGTTGTTGCCCAGTGGAAACGCAT
CTGACTAGGAACCATGAGGTTGTGGGTTCGATCCCTGGCCTCGCTCAANGGGTT
AAGGATCCNGCGTTGCCGTGAGCTGTGGTGCAGGTTGCACATGCATCTCGGATC
CTGTGTTGCTGTGGCTGTGGNGTAAGCCAGCAGCTACAGCTCCAATTAGNCCCN
TAGCCTGGGAACCTCCACCTGCTGCAGTTGNGGCCCTAAAANNCAAAAAAAAA
GAAAAAAAAAGATAGCTTCAGCTTTGAACCCAGGTGGATGCTAATGTGGGGCG
TGTCCTCCTGTGCAGAGCCCTTGGTTAACAACTGGGCCTGTAACCCAGAGCTGA
CGCTCATTGCCCACCTGCCCGACCGCCGAGAAATCATCTCCTTCGGGAGCGGGT
ACGGCGGGAACTCACTCCTTGGGAAGAAGTGCTTTGCCCTGAGGATGGCCAGCC
GGCTGGCCAAGGAGGAGGGGTGGCTGGCAGAGCACATGCTGGTAAGATGCAGG
AAATCCTAAATGTGCGAGGCAGGGGGCGGGGGAGGCAGGGAGGAGGCGTGTA
CCCCCCTCCCTACAGTTCCTACCAGGCAAGAGCCTGTGGGCTCCCAGGACAGAT
GTAGAAACTCCACCCGTACTTCTGAGTGGCTCCCGGGCACCCTCCTAGGCCAAA
GCATTGACCTCCGGGACAGAAGGGAGCCGAGAGCTTAAGGAGAAGTCTTGTCT

Fig.16A

【図１６Ｂ】

CCAACAGATCCTGGGCGTAACCAACCCCGAGGGCCAGAAGAAATACTTTGCCG
CAGCTTTTCCCCAGCGCCTGCGGGAAGACCAACCTGGCTATGATGAACCCCACG
CTCCCGGGCTGGAAAGTGGAGTGCGTGGGGGACGACATCGCCTGGATGAAATT
CGACCAACAAGGTGACCCTTTGAGGCTCCCGTGCTGATGATTCGAATTGGCTCG
CAGTGAGGTTTTGGCTTTCACGCGTCCAGGGTGTCGGGGTTGGGCTTCTTCCAGT
TCTTGCCAAAGTGTGGACATCCGCATTCTGCCAGCCTTCTTTAACCTCCTGGCCA
GTCTGGGTGGAAATGGGGCCCTGTATGGGTGTTCGTTTACACAGTAAATGGATT
AAAACCTTGTGGTGGGACAGTGGTGAGGAAGAAAGAGTCTACATGACTAATAA
TGCTCGGACGAGAAAGGAGACGTAGACTCGAGGGAGGAGGGAAAAAATGAAA
GATTTGAGAATCTGGGACAGAAACTAGCGTGGCCGGAACGGAGATTATTCGTC
ATGCCTTGCCTGGGACTTACCTCCACCGGCCGGTTTGAAACTCTCCAGGTAATTT
ACGGGCCATCAACCCAGAGAACGGGTTTTTGGCGTCGCTCCCGGAACCTCTGT
GAAGACAAACCCCAATGCCATCAAAACCATCCAAAGCAACACCATCTTCACCA
ACGTGGCCGAGACCAGCGACGGGGGCGTTTACTGGGAAGGCATCGACCAGCCG
CTGGCCCCGGRCATCAAGCTCACTTCCTGGAAGGGCACAGAGTGGGACCCCAA
GGATGGTAAGGCCCCCCGGGAGGCCCGGTGCCCCCACCTACAGGCCTGTGTGTC
GGCAGCTGCTCAGGGCGTCTTCTCTCTGGCTGTTGTAGGGGAACCTTGCGCTCA
CCCCAACTCGCGGTTCTGCACCCCTGCCAGCCAGTGCCCCATCATCGACCCTGC
CTGGGAGGCCCCGGAAGGCGTGCCCATTGAGGGCATCATCTTCGGAGGGCACC
GCCCTGCTRGTGAGGCTCCCCTGCCCTCGGGCTGGGWGCTCGGGGGTATCGCTA
NCCGAGTGGGGGGGGGAGCGTGATCCTCTTTCCTGNGACTTGTCGGAGGGTGCC
AGGGATCCAGAGCTTCCCTCCCCAAACCACAGGGGAAGAAGCAGGCCCCAGCG
CAGAACCCCGTCTCTGGGCTACCCAGCACNCCTGGCTCCTGGGANGCTGTACCN
NCCTTGACTTCAACCNCCCGCTGTAACTTACGACGTGGCCGCATGTGCCCTTCGC
TCTGGGGAGGCAGAATCAGCCCTGTTAGACAGACTCTGCTCTGCCGTCTCTACC
ATGTCTGAGATNCCGCCCCGAGGGCTCTGGGCATCGAGGCCGTTAAGGAACACT
TCTTTACCTACTAAAGGCGTACCCTCTGGTGTACGAGGCTCTCAGCTGGCAGCA
CGGCGTGTTTGTGGGGGCGGCCATGAGGTCCGAGGCCACCGCGGCTGCGGACC
ACAAGGGTGAGAAAACAAGGAGGGCAGCGCTGCCCTTTCTTCTCTGTGTGT:CTC
TCTGTTTCTGTATGTCTCTCTCTGTTTCTGTCTCTGTGTGTCGCTCTTTCTCTCGAT
ATATGTCTCTCTGTGTCTTTATCTCTGTCTGCCTGTCTCTTTCCATCTCTGTGTGT
CTCTCTCTATGTGTCTTTCTATCTCTGCCTCTCTCTGTTTCTCTGTCTTCTCTCTGT
CTCTGTGTGTCTACATGTCTCTCCGCGTCTCTCCATCTCTGTCTCTGATGTCTCTC
TGTCTCCCTGTGTCTCTTTATCTCTCTCTGTCTCTCCATGTCTGTCTCTGTCTTGCT
GTCTCTGTGTCTCTCTGTGTCTGTGTCTCTGTCCTCTCTCTGTCTCTGTTCCC
CATGTCTCTCTGTCTGTCTCTATCTCTCTTCCCTGAGTCTCTGTCTCTGTGTCTAT
CTCTGTTTCTCTATCTCTCTCTTGCTGCTTTTGTCTCTGTGTCTCTCTGTGTCTGTC
TCTCTGTTCTCTCTCTGTCTCTGGGTCTCCCTATGTCTCTGCATCTCTCTGTCCCT
GTCCTTCCCCGTATCTCTCTGTCTCTCTGTCCCTGTGTCTCTCTGTCTCTGTGCTC

Fig.16B

【図１６Ｃ】

CTCGCATCTCTGTCTCTCTGTACCTGTGTCTCTCTGTCCCTGTCCTTCCCCGCATC
TCTCTGTCTCTCTGGCCGTGTGTCCCTCTGTCTCTGTCCGTCCCCGCATCCCTCTG
TACGTGTAGGGAGGCAGAGAAAGTCACGGGGCACGTCAGCGGTAAGTGGCGTG
CCCGGCGTCCCGTGGGGCATCCCTCACCAGCCGAGCCTCCTGTCTGCAGGCAAA
GTGATTATGCACGACCCCTTCGCCATGCGGCCGTTCTTCGGCTACAACTTCGGCA
AATACCTGGCCCACTGGCTCAGCATGGCCCAGCACCCGGCGGCCAAGCTGCCCA
AGATCTTCCACGTCAACTGGTTCCGGAAGGACAAGGACGGCAGGTTCCTCTGGC
CGGGCTTCGGCGAGAACTGCCGGGTGCTGGCGTGGATGTTCGACCGCGTCCAGG
GGAAGGGCGGCGCCAGGCTCACGCCCATCGGCTACGTCCCCGAGGAGGCCGCC
CTGGACCTGCGGGGCGTGGAGGCC{A/G}TCCGCGTGAGCGAGCTCTTCYWNCTC
TCCAAGRAGNTMTGGGAGGAGGAGGCGGACGAGATCCACAAGTACCT

Fig.16C

【図１７】

CONSENSUS SEQUENCE OF RAB22A IN PIG

GCTATATCGTCTATGACATCACAAAAGAAGTAAGGCTTACCCTTTTCTCCAGAC
GGTTTTGAGAACTCTGTTTGGGTTGCTAGGGTCTCCAGTTGCTTTCTTCCTCTGT
GTTGCAGGAGACATTTTCAACCTTAAAGAACTGGGTGAAAGAGCTGCGACAGC
ATGGCCCGCCTAATATCGTGGTCGCCATTGCAGGAAATAAGTGTGATCTTATCG
ACGTAAGGTGAGTGAGTGGCGCGGGAGGTGACGCTGCTGACTGCGTGTGTGCCT
TTTCCTCCAGAGCAATATCCAGTATAAGAATCTTGCTTTTATTTTATCTCTGACA
TTGAAAAATTCCCCCTTGTTGTTTGGTTGGAGTCCCGAAGTTTCAAACTGAATGA
GAGTTCAGACATTTGGAGCTAATTAGATTGTATATCGAGACAGGTGTGTGATTT
ATTTCGGCGTCGGCTGCGTCATACTTGACATTATCTGAGATGAGTGCAGCCCTC
GGCTCCCGTGACCCCGGGTGCCTGAGTGAGGAAAGCGGTTTGAGGAAAGCGCG
TTTGTTGGCAGTTTCTCTGGACCGCTTCCCTGCTTCCCGAAGGCAGGGCTGTGCT
TTGAAGGGAGAGGCGGCCCGGGCAGTCTCTGACGGTCCCCTCCGCTGCCGTCG{
A/T}CACTCGTCGTCTGCGCCAGGGCGCTCTGGGCTCTGTGTTCTTCATCCGCAGT
AGTGGCAGGATGGGGAGGGCCGCCTGTGTGGGCTCCTTCCCCAGCCGTGGCGAC
CCTCTCTGGCATCATGAACCTGGGGAGTTGCTGGGTGGCGGGGATCCCGTTAGG
CTCTCGATGGGGCAGAATTTCTGATTTGTGATTTGTTGCCTTGCAGGGAGGTCCT
GGAGAGAGACGCCAAGGACTACGCCGACTCCATCCATGCAA

Fig.17

【図１８】

CONSENSUS SEQUENCE OF PPP1R3D IN PIG

GGACCTGGAGTTCACCCTGCAGTGCCTGGTGCCCGACTTCCCGCCGCCCGTCGAGGCCCCGGATT
TCGGAGAGCGCCTGGGGCCGCAGCTCGTGTGCCTGGAGCGCGTCACCTGCTCGGACCTGGGCATC
AGCGGTACCGTGCGCGTGCGCAACGTGGCCTTCGAGAAGCAGGTGGCCGTGCGCTACACCTTCTC
GGACTGGCAGAGTGCGCACGAGGCGGGGGCGAGGTGGCGCGGGCC{G/A}GCGGGCGCTGAGGG
CGCCGAGGACGTCTTCGCCTTCGGCTTCCCGGTCCCACCCTTCCTGCTAGCGCTCGGCTCNGCG

Fig.18

【図１９】

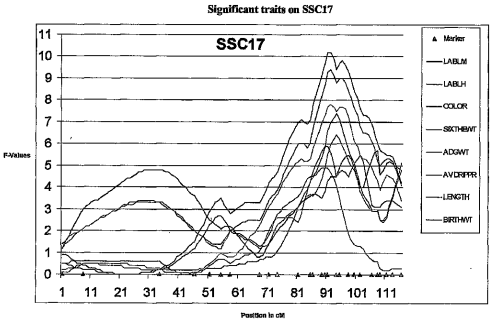


Fig.19

【手続補正書】
【提出日】平成18年7月26日(2006.7.26)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００７５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００７５】
突然変異は配列番号31で指定されるブタCTSZ遺伝子のエキソン2で検出された。RFLPはアミノ酸変化（リシンからアルギニンへ）を引き起こすA/G置換を検出する。Alw NIによる増幅したCTSZ断片の消化は、図2Aに示されるRFLPをもたらした。ホモ接合の対立遺伝子1の遺伝子型は330塩基対（bp）の制限断片を生じたが、ホモ接合の対立遺伝子2の遺伝子型は260および206bpの制限断片を生じた。ヘテロ接合12の遺伝子型は330、260および70bpの3種類全ての断片を示した。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００７６
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００７６】
T/C置換は配列番号32で指定されるGNASのイントロン7で検出された。RFLPはコード領域のエキソン1にT/C置換を検出するが、アミノ酸の変化は生じない。Bbs Iによる消化は図2Bに示されるRFLPをもたらした。ホモ接合の対立遺伝子1の遺伝子型は321塩基対（bp）の制限断片を生じたが、ホモ接合の対立遺伝子2の遺伝子型は274および47bpの制限断片を生じた。ヘテロ接合12の遺伝子型は321、274および47bpの3種類全ての制限断片を生じた。

【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００７７
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００７７】
T/C置換は配列番号33で指定されるMC3R中のエキソン1のコード領域で検出されたが、この突然変異はアミノ酸変化を引き起こさなかった。表18は同定された様々な別の多型を示す。
【手続補正４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００８２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００８２】
また遺伝子型と表現型との関連性を検出する方法であって、a) 本発明の遺伝子型タイピング方法に従って、形質陽性集団における少なくとも1つの候補遺伝子関連マーカーを遺伝子型タイピングするステップ;b) 本発明の遺伝子型タイピング方法に従って、対照集団における候補遺伝子関連マーカーを遺伝子型タイピングするステップ；およびc)遺伝子型と表現型との間に統計的に有意な関連性が存在するか否かを判定するステップを含み得る、上記方法が提供される。さらに、本発明の遺伝子型と表現型との関連性を検出する方法は、本明細書に記載される追加の限定を含む方法、あるいは単独でまたは任意の組合せで特定された以下のものを包含する。好ましくは、候補遺伝子関連マーカーは配列番号31から57の1以上に存在し、さらに好ましくは、Alw NI、Bbs I、Dde I、Msp I、Nae I、Afl III、Alw NI、Bse RI、Taa I、Mse I、Bst UI、Bcc I、Taq I、Nae IおよびMnlIよりなる群から選択される。ステップa)およびb)のそれぞれの前記遺伝子型タイピングは、前記集団の各ブタに由来する生体サンプルまたはその部分サンプルにおいて別々に実施される。表現型は動物の成長、肥満および肉質の特性を含む形質であることが好ましい。
【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１３２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１３２】
実施例１
カテプシンZ（CTSZ）PCR-RFLP試験
AlwNI多型
プライマー

CT04F : 5’ GGC ATT TGG GGC ATC TGG G 3’ (配列番号1)
CT04R : 5’ ACT GGG GGA TGT GCT GGT T 3’ (配列番号2)

PCR条件：
ミックス1：

10X Promegaバッファー	1.0μL
25mM $MgCl_2$	0.4μL
dNTPミックス（2mM）	0.5μL
25 pmol/μL CT04F	0.1μL
25 pmol/μL CT04R	0.1μL
滅菌2回蒸留水	6.83μL
Taqポリメラーゼ（5U/μL）	0.07μL

ゲノムDNA（12.5ng/μL）	1.0μL

10μLのミックス1とDNAとを反応チューブ中で一緒にし、鉱油で重層した。以下のPCRプログラムを行った：94℃で3分；94℃で30秒、62℃で30秒、および72℃で30秒を35サイクル；その後72℃で5分間の最終伸長。4μLのPCR反応物を標準的な1%アガロースゲル上で調べ、増幅の成功とクリーンな陰性対照を確認した。産物の大きさは約330塩基対であった。以下の手順を用いて消化を行った：

AlwNI消化反応	10μL反応
PCR産物	5.0μL
10X NEBバッファー4	1.0μL
AlwNI酵素(10U/μL)	0.5μL
滅菌2回蒸留水	3.5μL

バッファー、酵素および水でカクテルを調製し、5μLを、DNAを含む各反応チューブに添加した。37℃で少なくとも4時間インキュベートするが、一晩の消化が好ましい。4μLのローディングダイ(loading dye)と6μLの消化PCR産物とを混合し、総量を3%アガロースゲルにロードした。予測されたAlwNIパターンを図2Aに示す。

【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１３３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１３３】

実施例2

GNAS PCR-RFLP試験

BbsI多型

プライマー

GN03F : 5' AAG CAG GCT GAC TAC GTG 3' (配列番号3)
GN03R : 5' TCA CCA CAA GGG CTA CCA 3' (配列番号4)

PCR条件：

ミックス１：

10X Promegaバッファー	1.0μL
25mM $MgCl_2$	0.8μL
dNTPミックス（2mM）	0.5μL
25pmol/μL GN03F	0.1μL
25pmol/μL GN03R	0.1μL
滅菌2回蒸留水	6.43μL
Taqポリメラーゼ（5U/μL）	0.07μL
ゲノムDNA（12.5ng/μL）	1.0μL

10μLのミックス1とDNAとを反応チューブ中で一緒にし、鉱油で重層した。以下のPCRプログラムを行った：94℃で3分；94℃で30秒、60℃で30秒、および72℃で30秒の35サイクル；その後72℃で5分間の最終伸長。4μLのPCR反応物を標準的な1%アガロースゲル上で調べ、増幅の成功とクリーンな陰性対照を確認した。産物の大きさは約321塩基対であった。消化は以下の手順を用いて行った：

BbsI消化反応	10μL反応
PCR産物	4.0μL
10X NEBバッファー2	1.0μL
BbsI酵素(5U/μL)	0.5μL
滅菌2回蒸留水	4.5μL

バッファー、酵素および水を用いてカクテルを調製し、6μLを、DNAを含む各反応チューブに添加した。37℃で少なくとも4時間インキュベートするが、一晩の消化が好ましい

。4μLのローディングダイと6μLの消化PCR産物とを混合し、総量を3%アガロースゲルにロードした。予測されたBbsIパターンを図2Bに示す。
【手続補正７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１３４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１３４】
実施例3
MC3R PCR-RFLP試験
MnlI多型
プライマー：
Forward: 5' GCC TCC ATC TGC AAC CTC T 3' (配列番号5)
Reverse: 5' AGC ATG GCG AAG AAG ATG AC 3' (配列番号6)

PCR条件：
ミックス1

10X PCRバッファー	1.0μl
$MgCl_2$（25mM）	0.6μl
dNTP（2.5mM）	0.5μl
フォワード（25 pmol/μl）	0.1μl
リバース（25 pmol/μl）	0.1μl
Taqポリメラーゼ（5U/μl）	0.07μl
2回蒸留水	7.63μl
ゲノムDNA	1.0μl

ミックス1とDNAとをPCR反応チューブ中で一緒にし、鉱油で重層した。以下のPCRプログラムを行った：94℃で3分；94℃で30秒、54℃で1分、および72℃で1分30秒の36サイクル；その後72℃で10分間の最終伸長。2μlのPCR反応物を1.6%アガロースゲル上で調べ、増幅の成功と陰性対照における望ましいクリーンな結果を確認した。
消化は以下の手順によって実施することができる：
MnlI消化反応液：

PCR産物	4.0μl
NEバッファー2	1.0μl
BSA（10mg/ml）	0.1μl
MnlI（20U/μl）	0.2μl
2回蒸留水	4.7μl

PCR産物、バッファー、酵素および水のカクテルを調製した。少なくとも4時間インキュベートするが、37℃で一晩が好ましい。消化産物とローディングダイ（2：5）とを混合し、3% NuSieveアガロースゲルで泳動した。予測されたMnlIパターンを図2Cに示す。
【手続補正８】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１６０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１６０】

遺伝子	プライマー配列	酵素	塩基変化
PKIG	F: 5'-GCTTGCATGATGGAGGTC-3' (配列番号７) R: 5'-GGGCAGCTTAGGACTTGG-3' (配列番号８)	Dde I	C/T
MMP9	F: 5'-AGCCCCGCTCCCTATTTT-3' (配列番号９) R: 5'-GAGTTGCCTCCCGTCACC-3' (配列番号１０)	Msp I	C/G
PTPN1	F: 5'-ACATTTCCACTATACCACA-3' (配列番号１１) R: 5'-TAAATCTGGGACCATGTAA-3' (配列番号１２)	Nae I	C/T
ATP9A	F: 5'-TGGTTCTGGACAAAGATGTCA-3' (配列番号１３) R: 5'-ACACAAGAGCATTTCGAGGG-3' (配列番号１４)	Afl III	C/T
CYP24A1	F: 5'-ACGATACGCTGGTAAATGCC-3' (配列番号１５) R: 5'-CATAGCCCTCCTTGCGATAG-3' (配列番号１６)	Alw NI	A/G
DOK5	F: 5'-AACAGAGACTTTTCCCCCCTA-3' (配列番号１７) R: 5'-GTTTTTTGTTTATGAAAGAGG-3' (配列番号１８)	Bse RI	C/T
AURKA	F: 5'-AGATGATAGAAGGCCGGATG-3' (配列番号１９) R: 5'-GTGATCCAGGGGTGTTCG-3' (配列番号２０)	Taa I	A/G
SPO11	F: 5'-AACCCAGACCGTTCCTAATG-3' (配列番号２１) R: 5'-GATAATCTGATGAGAGGAAGGTCAA-3' (配列番号２２)	Mse I	G/T
RAE1	F: 5'-GGCAGCCAACCACAGATAA-3' (配列番号２３) R: 5'-GGACCGTAAGCAGCACTCTC-3' (配列番号２４)	Bst UI	G/T
PCK1	F: 5'-GGCACGTCAGCGGTAAGT-3' (配列番号２５) R: 5'-GATCTCGTCCGCCTCCTC-3' (配列番号２６)	Bcc I	A/G
RAB22A	F: 5'-GGGTGCCTGAGTGAGGAAAG-3' (配列番号２７) R: 5'-TTGCATGGATGGAGTCGG-3' (配列番号２８)	Taq I	A/T
PPP1R3D	F: 5'-GGACCTGGAGTTCACCCTGC-3' (配列番号２９) R: 5'-GCGCTAGCAGGAAGGGTGG-3' (配列番号３０)	Nae I	A/G

【手続補正９】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１６２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１６２】
【図１】SSC17上の肉質と関連するQTLを証明するF比（F-ratio）曲線を示す。ｘ軸は連鎖マップ上の相対位置を示す。ｙ軸はＦ比を表す。ｘ軸上の矢印はマーカーが存在する位置を示している。対象の形質が示される：AVGP=平均解糖ポテンシャル；AVLAC=平均乳酸；COLOR=色；LABLM=ラブ・ロイン・ミノルタ（Lab Loin Minolta）；LABLH=ラブ・ロイン・ハンター(Lab Loin Hunter)。
【図２】図2Aは、酵素AlwNIによる予測された消化パターンを示す、ブタカテプシンZ(CTSZ)遺伝子の330bp断片のPCR-RFLPを示す。図2Bは、酵素BbsIによる予測された消化パターンを示す、ブタGNAS遺伝子の321bp断片のPCR-RFLPを示す。図2Cは、酵素Mn1Iによる予測された消化パターンを示す、ブタMC3R遺伝子のPCR-RFLPを示す。
【図３】ブタにおけるCTSZのコンセンサス配列（配列番号31）を示す。

【図４】ブタにおけるGNASのコンセンサス配列（配列番号32）を示す。
【図５】ブタにおけるMC3Rのコンセンサス配列（配列番号33）を示す。
【図６】第17染色体上にマッピングされた遺伝子のマップを規定する。
【図７】ブタにおけるPKIGのコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号34及び35）。
【図８】ブタにおけるMMP9のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号36及び37）。
【図９】ブタにおけるPTPN1のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号38及び39）。
【図１０】ブタにおけるATP9Aのコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号40及び41）。
【図１１】ブタにおけるCYP24A1のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号42及び43）。
【図１２】ブタにおけるDOK5のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号44及び45）。
【図１３】ブタにおけるAURKAのコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号46及び47）。
【図１４】ブタにおけるSPO11のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号48及び49）。
【図１５】ブタにおけるRAE1のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号50及び51）。
【図１６Ａ】ブタにおけるPCK1のコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号52及び53）。
【図１６Ｂ】図16Aの続き。
【図１６Ｃ】図16Bの続き。
【図１７】ブタにおけるPAB22Aのコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号54及び55）。
【図１８】ブタにおけるPPP1R3Dのコンセンサス配列を示す。一塩基多型の位置は太字で示される（配列番号56及び57）。
【図１９】本発明による第17染色体のQTLの詳細マッピングを示す。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US04/16418

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(7) : C12Q 1/68
US CL : 435/6
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
U.S. : 435/6

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
Please See Continuation Sheet

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MALEK et al. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in pig. II. Meat and muscle composition. Mammalian Genome, 2001, Volume 12, pages 637-645.	1, 3, 25
X	ANDERSSON-EKLUND et al. Genet. Res., Camb, 2000, Vol. 75, pages 223-230, see especially Table 3.	1, 17
A	KOMISAREK et al. The Polish "Pig Genome Mapping" project. XI. Ag-NOR markers of Chromosome 10 and tentative localization of quantitative traits loci for tender loin weight and carcass length. Animal Science Papers and Reports, 1999, Volume 17, Number 4, pages 173-180.	1-5, 17-19, 25-28

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
22 September 2005 (22.09.2005)

Date of mailing of the international search report
25 OCT 2005

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. (571) 273-3201

Authorized officer
Juliet Switzer
Telephone No. 571 272 1600

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US04/16418

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please See Continuation Sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: 1-5,17-19 and 25-28

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US04/16418

BOX III. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING
This document is supplemental to the response filed by applicant 6/9/05, a copy of which was faxed to the examiner 7/7/05. Applicant indicated that they desired Groups 5 and 7 to be searched, indicating that group 5 would be the "main invention." However, according to the PCT rules, the first named invention "Group 1" is the main invention. In a follow-up conversation between the examiner and Heidi Nebel, it was agreed that Groups 1, 5 and 7 would be searched and considered, and that a total of $2000 in fees would be paid.

Group 1, claims 1-2 and claims 3, 4, 5, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with glycolytic potential and average lactate.

Group 2, claims 1-2 and claims 6-9, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with color, lab loin hunter, average drip and/or lab loin Minolta.

Group 3, claims 1-2 and claims 10-12, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with length and/or lumbar backfat, wherein the marker is within the region of 83cM and 85cM of porcine chromosome 17.

Group 4, claims 1-2 and claims 13-15, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with lumbar backfat, wherein the marker is within the region of 85cM and 90cM of porcine chromosome 17.

Group 5, claims 1-2 and claims 17-19, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with growth and fat traits.

Group 6, claims 1-2 and claims 20-25, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with cooking loss.

Group 7, claims 1-2 and claims 25-28, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with color, lab loin hunter, lab loin Minolta, average drip, and/or tenderness.

Group 8, claims 29-31, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with growth traits, wherein the marker is within the region of chromosome 17 being between 103cM and 107cM.

Group 9, claims 32-39, drawn to a method for identifying an allele that is associated with growth traits within region of chromosome 17 between 70 to 170cM.

Group 10, claims 1-2 and claims 40-42, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with average daily gain.

Group 11, claims 1-2 and 43-45, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with marbling score.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US04/16418

Group 12, claims 1-2 and 46-49, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with backfat.

Group 13, claims 1-2 and 50-52, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with average backfat, ham hunter, and/or ham Minolta.

Group 14, claims 1-2 and 52-56, drawn to a method of selecting a first pig by marker assisted selection of a quantitative trait locus associated with Aloca back fat thickness.

The inventions listed as Groups 1-14 do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The techincal feature which joins all of the groups is the fact that they comprise steps of assaying for a marker of a quantitative trait locus associated with growth traits within a particular region of procine chromosome 17. This however, is not a special technical feature in view of the prior art. Andersson-Eklund et al. teach a method which comprises determining the presence of a locus in a first pig where the locus is located on chromosme 17 in a region of approximately 87cM and is genetically linked to a polymorpisc genectic marker. The growth traits screened for by Andersson-Eklund et al. include a variety of measurements of femur length and weitht, see Table 3, for example. The groups, therefore are not joined by a special technical feature in view of the prior art since at least one QTL on chromosome 17 associated with a growth trait was known at the time the invention was made. Thus, the claims are separated into groups based on the section of chromosme 17 where the QTL is located and based upon the particular traits assayed for in the claims.

There are 14 total groups. Group 1, claims 1-5 is the first mentioned group which will be searched in accordance with the PCT rules.

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
word search agricola, biosis, caplus, EAST: ptpn1, atp9a, mc3r, rab22a, ctsz, chromosome 17, qtl, ssc17, glycolytic potential, lactate growth, fat tenderness, color, minolta, hunter

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＵＮＩＸ
２．Ｍａｃｉｎｔｏｓｈ

(72)発明者 ロスチャイルド，マックス エフ.
アメリカ合衆国 ５００１１ アイオワ州，エームズ，ラブ オブ メカニクス ３１０
(72)発明者 ラモス，アントニオ マルコス コスタ ドゥ アマラル
アメリカ合衆国 ５００１１ アイオワ州，エームズ，ラブ オブ メカニクス ３１０
(72)発明者 キム，クワン スク
アメリカ合衆国 ５００１１ アイオワ州，エームズ，ラブ オブ メカニクス ３１０

Ｆターム(参考) 4B024 AA10 AA11 CA01 CA05 CA09 CA11 CA20 FA10 HA11
4B063 QA01 QA13 QQ03 QQ42 QQ52 QR32 QR35 QR55 QR62 QS25
QS34 QX02