

りきまる かずひろ

氏名（本籍地） 力丸宗弘

学位の種類 博士（農学）

学位記番号 農博第1052号

学位授与年月日 平成25年3月27日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項

研究科，専攻 東北大学大学院（博士課程）農学研究科資源生物科学専攻

論文題目 比内鶏の発育形質に関する QTL 解析と育種への応用に関する研究

博士論文審査委員 （主査）教授 鈴木啓一

教授 豊水正昭

教授 加藤和雄

# 論文内容要旨

## 緒言

ニワトリの育種改良は、表型値と家系情報を基に BLUP 法により育種価を推定し、能力の高い個体の選抜と交配により進められてきた。しかし、育種改良対象となる形質には、産卵数など性に特異な形質、肉質など屠殺しなければならず測定にも時間を要する形質、また、遺伝率の低い形質があり、それらの形質の改良には、多くの時間と労力、コストがかかるなどの問題がある。

一方、近年の分子生物学的研究の進展により、表型値に影響を与える変異を DNA レベルで調査することが可能となり、産肉、肉質、繁殖成績などの量的形質を遺伝する遺伝子を染色体上に特定する量的形質遺伝子座 (QTL) 解析が進められてきており、QTL 解析によって得られた情報を家畜育種の手法に取り入れることで動物が生まれた時点で能力を判定できることから、改良速度を早め、コストを低減できることが指摘されてきた (Dekkers, 2004; Goddard and Hayes, 2009)。

秋田県畜産試験場 (秋田畜試) では、1973 年に社団法人「秋田県声良鶏・比内鶏・金八鶏保存会」(保存会) から種卵を導入し、貴重な比内鶏の保存を開始すると共に、比内地鶏の生産性を高めるため、体重の改良を図ってきた。これまで、秋田畜試の比内鶏集団は体重を選抜指標として選抜を進めてきており、標準鶏に近似した比内鶏本来の外形的特徴を有する鶏だけが維持されてきた保存会の比内鶏集団とは体重の差が大きいことが明らかとなっている。しかし、保存会と秋田畜試の比内鶏集団がどの程度遺伝的に分化しているのか、また、秋田畜試の比内鶏集団における改良効果と遺伝的変異がどの程度かはこれまでのところ明らかではない。さらに、今後、効率的に比内鶏の発育を改良するためには、従来の統計遺伝学手法に加えて、発育形質に影響する QTL 情報を取り入れた効率的な育種改良が期待されている。

本研究では、はじめに第一章で、秋田畜試と保存会の比内鶏集団の遺伝的類縁関係を明らかにするため、マイクロサテライトマーカーを用いて各集団内における遺伝的変異および集団間の遺伝的距離を推定した。次に、第二章では、秋田畜試の比内鶏集団の 14 週齢体重における年次の推移に伴う選抜反応と遺伝率を推定した。その結果、秋田畜試と保存会の比内鶏集団は同一集団から分化した遺伝的に近い集団であるが、集団間で特異的な対立

遺伝子が存在することが明らかとなった。また、秋田畜試の比内鶏集団は今後も発育の改良が可能であることが推察されたので、第三章では、両集団の交配による F<sub>2</sub>家系集団を対象として、発育形質に影響する QTL の探索を行い、ゲノム情報の活用の可能性を検討した。その結果、第 4 番染色体上に有意な QTL 領域が検出され、コレシストキニン A 受容体 (CCKAR) 遺伝子が候補遺伝子として特定された。そこで、第四章では、F<sub>2</sub> 家系集団における CCKAR 遺伝子ハプロタイプと発育形質の相関解析を行い、CCKAR 遺伝子の 5' 非翻訳領域 (5'-UTR) の YY1 結合部位における一塩基多型 (SNP) が CCKAR 遺伝子の発現調節に関与していることを明らかにした。第五章では、F<sub>2</sub> 家系集団における CCKAR 遺伝子の 5'-UTR の Yin Yang-1 (YY1) 結合部位における SNP と発育形質との関連性について検討を行い、秋田畜試と保存会の比内鶏種鶏群において、YY1 結合部位における SNP の遺伝子頻度が異なることを明らかにすると同時に、比内鶏の発育形質のさらなる改良のため、この SNP 情報利用の有効性を検討した。以下に本論文の概要を述べる。

## 第一章 比内鶏集団の遺伝的類縁関係

秋田畜試では、1973 年に保存会から比内鶏の種卵を導入し、貴重な比内鶏の保存を開始すると共に、体重の改良を図ってきた。しかしながら、保存会から比内鶏の種卵を導入してからすでに 30 年以上が経過しており、秋田畜試と保存会の比内鶏集団がどの程度遺伝的に分化しているのか明らかになっていない。

マイクロサテライトマーカーは、多型性に富み、検出される対立遺伝子数も多いことから、ニワトリ集団間の遺伝的な類縁関係を解析するツールとして利用されている (Sartika et al., 2004; Osman et al., 2006; Takahashi and Nakamura, 2007; Tadano et al., 2008)。そこで、本研究では、マイクロサテライトマーカーを用いて遺伝子の平均ヘテロ接合率と遺伝的距離を調べることで秋田畜試および保存会の比内鶏集団の遺伝的類縁関係を明らかにすることを目的とした。

24 本の常染色体上の 24 マーカー (Table 1) について調査した結果、秋田畜試集団では、調査した 24 座位全てが多型性を示したのに対し、保存会集団では 1 座位が単型性を示した。秋田畜試集団の平均ヘテロ接合率は 0.439、保存会集団では 0.385 と保存会集団の方が秋田

畜試集団より低かった (Table 2)。この原因として、愛好家の数および保存会の比内鶏の飼育羽数そのものが減少していること、またそれぞれの愛好家が維持している集団の規模が小さいことが原因で、集団の近交度が進み、その結果、遺伝的多様性が小さくなっていることが考えられる。また、複数の座位において、集団特異的な対立遺伝子が検出された。秋田畜試と保存会の比内鶏では、基本的に選抜基準が異なるため、遺伝子頻度の低い対立遺伝子頻度は、各集団の維持・選抜過程において、消失してしまったものと考えられる。秋田畜試集団と保存会集団間の遺伝的距離は 0.104 と算出され (Table 3)、本研究と同じマイクロサテライトマーカーを用いて推定された共通祖先系統から選抜によって分化成立した白色レグホーン種の 2 系統 (卵殻強系と弱系) 間の遺伝的距離 (0.126) (Sartika et al., 2004) よりも低い数値であり、遺伝的に離れた集団ではないことが明らかとなった。これは種卵を導入して以来、外部からの異血導入は行わず、比内鶏を維持してきた歴史を反映した妥当な遺伝的距離と思われる。秋田畜試の比内鶏集団は保存会の比内鶏集団と外貌が異なってきたが、本研究の結果から、このような外貌的な特徴や体格の変化に関わりなく、同一の集団から分化した遺伝的に近い集団であることが示唆された。

## 第二章 比内鶏の14週齢体重における選抜反応と遺伝率の推定

秋田畜試へ導入した当時の比内鶏は、飼料の利用性、産卵性ともに他の種鶏と比較して大幅に劣っていたため、その能力向上のために育種改良を開始した。その結果、導入当時 (1973 年) の 90 日齢の平均体重は雄で 974 g、雌で 889 g (豊住ら, 1974) であったが、2006 年の 14 週齢の平均体重は雄で 2.26 kg、雌で 1.75 kg にまで改良された (小松ら, 2008)。しかしながら、秋田畜試の比内鶏集団における選抜の改良と遺伝的変異がどの程度かはこれまでのところ明らかではない。そこで、本研究では、比内鶏集団の 14 週齢体重における年次の推移に伴う選抜反応を調べるとともに、さらなる発育形質の向上の可能性を探るため、14 週齢体重における遺伝率を推定することを目的とした。

4 世代にわたる家系内個体選抜の結果、14 週齢体重の世代に対する直線回帰係数はそれぞれ 51.8 g/年、35.8 g/年となったが、回帰係数は統計的に有意ではなかった (Figure 1)。しかしながら、集団全体の育種価の世代に対する直線回帰係数は 35.1 g/年と有意に増加した

(Figure 2)。REML 法による 14 週齢体重における遺伝率は 0.45 と推定され、実現遺伝率は 0.39 とやや低い値を示した (Table 4)。若齢期体重を増加させる選抜試験では、一般的に体重の増加によって産卵数が減少し、卵重が増加することが報告されているが (Siegel and Wolford, 2003)、本試験では、体重選抜による他形質に対する悪影響は認められなかった (Table 5)。これらの結果から、比内鶏の 14 週齢体重における推定遺伝率は 0.45 と中程度の値を示し、比内鶏集団内に遺伝的変異が存在ため、今後も選抜による育種改良が可能であることが推察された。

### 第三章 F<sub>2</sub>家系集団を用いた比内鶏の発育形質に関する QTL 解析

遺伝的に異なる 2 品種間交雑集団で検出された QTL 情報は、量的形質に関する遺伝子探索には効果的であるが、品種間交配によって得られた QTLs は、他の品種内で必ずしも分離しない可能性があること、また、分離したとしても純粋種内でも同様の効果を示すかは未知であることから、品種内での異なった選抜系統による交配集団を用いた研究が一般的となってきた (Jacobsson et al., 2005; Wahlberg et al., 2009; Ankra-Badu et al., 2010)。第一章では、秋田畜試と保存会の比内鶏集団は同一集団から分化した遺伝的に近い集団であるが、集団間で特異的な対立遺伝子が存在することを明らかにした。また、第二章では、秋田畜試の比内鶏集団は今後も発育の改良が可能であることを明らかにした。秋田畜試の比内鶏集団は保存会の比内鶏集団から発育を中心に改良されてきたため、この集団には発育形質に関与する遺伝子が存在していると考えられる。そこで、本研究では、保存会の比内鶏の雄と秋田畜試の比内鶏の雌を交配して F<sub>2</sub>家系集団 (Figure 3) を造成し、比内鶏の発育形質に影響する QTLs の検出を試みた。

QTL 解析の結果、4 週齢体重および 0-4 週齢の平均日増体重に影響を与える QTLs が第 1 番染色体 (HG1) 上に、10 と 14 週齢体重および 4-10 週齢、10-14 週齢の平均日増体重に影響を与える QTLs が第 1 番染色体 (HG2) および第 4 番染色体 (HG3) 上の共通領域にそれぞれ検出された (Table 6, Figure 4)。検出された QTLs は、発育の前半と後半で異なる領域に検出されたことから、ニワトリの発育に応じて時期特異的に関与する QTLs が存在することが示唆された。

発育が異なる方向に選抜されてきたブロイラー集団内において、体重あるいは増体量に影響を与える QTL が分離していることが報告されている (Jacobsson et al., 2005; Wahlberg et al., 2009; Ankra-Badu et al., 2010) が、ブロイラー集団内で検出された各 QTL が表型分散に占める割合は 1.97%~3.49%と小さいのに対し、本研究では、表型分散の 2.9%~10.0%までの比較的大きな割合を占める 2 つの highly significant QTLs (HG2 と HG3) と 1 つの significant QTL (HG1) を検出することができた。F<sub>2</sub>家系集団は同じ基礎集団から造成されているので、これらの QTL 領域内に比内鶏の発育形質に影響する鍵となる遺伝子が存在していると考えられる。

#### 第四章 F<sub>2</sub>家系集団における CCKAR 遺伝子ハプロタイプと発育形質との関連性

第三章において、発育形質に差がある比内鶏 2 系統を交配し作出した F<sub>2</sub>家系集団の QTL 解析を行った結果、体重と平均日増体重に影響を与える QTL を第 1 番染色体と第 4 番染色体上に検出した。第 4 番染色体上の QTL のピーク位置とドラフトシーケンスを対比し、発育形質に関する候補遺伝子として、ヒトの肥満の候補遺伝子 (Arya et al., 2004) である CCKAR 遺伝子を特定した。そこで、本研究では、第 4 番染色体に焦点を絞り、比内鶏の F<sub>2</sub>家系集団における CCKAR 遺伝子ハプロタイプと発育形質 (10、14 週齢体重、4-10、10-14、0-14 週齢平均日増体重) との関連性について調査を行った。

後代を得ることができた P 世代全個体 (雄 3 羽、雌 9 羽) を対象として、CCKAR 遺伝子の全 5 つのエクソンを含む領域の塩基配列を PCR ダイレクトシーケンス法によって決定し、F<sub>2</sub>家系集団に出現する CCKAR 遺伝子のハプロタイプを同定した。その結果、11 個の SNP が検出され、5 つのハプロタイプ (ハプロタイプ 1-5) が親個体で特定された (Figure 5)。統計解析が可能であった 3 つのハプロタイプについて、発育形質に対する効果の推定を行ったところ、ハプロタイプ 1 はハプロタイプ 3 および 4 より有意に優れていた。ハプロタイプが全表型分散に占める割合は 7.2-12.0%であった (Table 7)。

CCKAR 遺伝子ハプロタイプによるアミノ酸配列の違いは認められなかったことから、5'-UTR の推定 YY1 結合部位である SNP (AB604331:g.420 C > A) が CCKAR 遺伝子の発

現調節に関与している可能性があると考えられた。g.420 C > A におけるハプロタイプ1の SNPはAアリルであり、ハプロタイプ3および4はCアリルであった。これらの結果から、CCKAR 遺伝子のハプロタイプが比内鶏の発育形質改良のための選抜指標として有効であることが確認された。

## 第五章 比内鶏種鶏群における CCKAR 遺伝子多型情報を用いたさらなる選抜の有効性の検証

第四章において、CCKAR 遺伝子ハプロタイプの DNA 塩基配列を比較した結果、5'-UTR の YY1 結合部位に、発育形質との関連性が示唆される SNP (g.420 C > A) が見出された。そこで、本研究では、F<sub>2</sub>家系集団において CCKAR 遺伝子の 5'-UTR の YY1 結合部位における g.420 C > A SNP と発育形質との関連性について調査を行った。また、保存会と秋田畜試の比内鶏種鶏群における g.420 C > A の対立遺伝子頻度を調査し、多型情報を用いたさらなる選抜の有効性について検証を行った。

5'-UTR の YY1 結合部位における g.420 C > A SNP を効率的に検出するため、ミスマッチ増幅変異アッセイ法を開発し、F<sub>2</sub>個体に出現する3つの遺伝子型 (A/A, A/C, C/C) を識別した。各 SNP アリルが持つ発育形質に対する効果の推定を行ったところ、Aアリルは、10、14週齢体重、4-10、10-14、0-14週齢増体重において、Cアリルよりも有意に優れていた (Table 7)。電気泳動移動度シフト解析では、Aアリルに対応する DNA 断片は、Cアリルの DNA 断片よりも YY1 に対する強い結合親和性を示した (Figure 6)。これらの結果から、CCKAR 遺伝子発現調節において YY1 結合部位が重要な役割を果たしていることが示唆された。

次に比内鶏の発育形質のさらなる改良のため、g.420 C > A SNP 情報の利用の有効性を検討した。秋田畜試と保存会の比内鶏種鶏群の g.420 C > A SNP アリル頻度を比較した結果、Aアリルの頻度は、それぞれ 0.889 と 0.124 であった (Table 8)。アリル頻度の違いが、機会的遺伝浮動によって生ずる確率を、両系統が分岐した後の世代数と系統の有効な大きさを基に計算した結果、その確率は1%未満であった。このことから、2系統間におけるアリル頻度の違いは、発育形質を目的とした長年の選抜によって生じたものであることが示唆された。

秋田畜試種鶏群の大部分はAA型に固定されているため、g.420 C>A SNPによる選抜効果はあまり期待できないが、g.420 C>A SNP情報を用いて表型値を測定する以前に選抜を行うことによって、飼育羽数の節約が可能となることから、g.420 C>A SNPは発育の向上と生産コストの削減のための簡易的な遺伝子検査として、比内鶏の育種計画において非常に有効な遺伝子マーカーになりうると考えられる。

## まとめ

ニワトリの育種改良において、最終的な目標は、優れた産卵性もしくは産肉性を発揮する個体を作出することである。これまでの育種では、ポリジーン説に基づく育種理論により育種価を予測してきたが、QTL情報を利用することで、従来の方法よりも短期間・低コストで改良目標を達することが可能になりつつある。本研究では、責任遺伝子を同定するまでには至っていないが、発育形質に影響する候補遺伝子としてCCKAR遺伝子が特定され、5'-UTRにおけるSNPと発育形質との関連性が認められた。本研究で得られた知見は、他の肉用鶏においても同様の効果が認められていることから、効果の大きいQTL情報を指標とした効率的なニワトリの発育形質の育種改良への利用に当たって重要な情報を提示したと考える。

Table 1. Microsatellite markers used for this analysis

Marker	Forward primer (5' -> 3')	Reverse primer (5' -> 3')	Chromosome
<i>ABR0015</i>	AGTGCTGGCTGCATGGGTTA	CCGCCGCTTCCATTACAAAC	chr27
<i>ABR0028</i>	GTGCGAGGGCTTCGGATGTG	TGTGCTTGGGCTGCCGTTGG	chr6
<i>ABR0046</i>	GTGGTCCCGCCGTTTGTCTCT	GCCGTGGGAAACCGAAAGCA	chr5
<i>ABR0075</i>	CATGAAGACCACAGCAAAGGG	CAGAACTGCAACAAATCCAGAG	chr4
<i>ABR0223</i>	TTTCTCCCAGTCTTAGCAGT	ATTTACAGGCTTGACATCC	chr20
<i>ABR0228</i>	TCTGACAATCGGAGAAAGAACTCG	CCCTCCTTGTATCCCTCGT	chr8
<i>ABR0257</i>	AGACAGCAGTAGCCACCCAT	GCTCTGTCTGAGGAGGAAG	chr17
<i>ABR0258</i>	GCATGACAGAAATGCCAATA	GATCAGAACTTAACCTCCCT	chr1
<i>ABR0297</i>	ATGTTCTTTCATTTCCAGAG	GGTATCCATAGCAAGTTAGT	chr3
<i>ABR0343</i>	AGGACAATTTCTCAAAGGTT	TTTCAAAGCAATAAGAACAC	chr11
<i>ABR0378</i>	GACTTACTCACTAAGATGGAGAT	CTGTCATCATTGCTCTTGTG	chr28
<i>ABR0419</i>	TTAAACTGGAGAATATTTAACAGC	TGCTTATTTCCATTCACCAA	chr7
<i>ABR0495</i>	TTGTACTGGGTAGCATTTGA	ACTCTTTGGCCTACTTTTCC	chr10
<i>ABR0506</i>	ATCTTTATGGCTCCATCATA	TAACCATCAGGGATTACTGT	chr13
<i>ABR0526</i>	TCAATTCAGTACGTCCCAACA	GCAGGAGCTGCCTATTACAT	chr9
<i>ABR0617</i>	CCAAGAATCACATCAACGAGCAA	TGGAAGACTGGCAGGGAAGC	chr26
<i>ABR0624</i>	GAGCCTGAGGACAGAGTTCCA	CCATAGAGGTCGGCATTGTTT	chr21
<i>ABR0634</i>	TACTGAATAAAAGGAGGAAC	AATAGCCAAATAGGTACAGC	chr12
<i>ABR0645</i>	TATTGTCCTTCCAATTACAT	CACGCACTTACATACTTAGA	chr2
<i>MCW0080</i>	GAAATGGTACAGTGCAGTTGG	CCGTGCATTTCTTAATTGACAG	chr15
<i>MCW0217</i>	GATCTTTCTGGAACAGATTTCT	CTGCACTGGTTTCAGGTTCTG	chr18
<i>MCW0304</i>	TCAGTATGAGAGCTTCTCAAG	TTGTTACAAGGTCTTCTGGAG	chr19
<i>ADL0262</i>	GTGCAGACACAGAGGAAAG	TCACATGCACACAGAGATGC	chr23
<i>LEI0066</i>	GATCAGATGCATCCAAGITC	GAAGCAGGAAAATAGAAAAGGC	chr14

Table 2. Average heterozygosity in Hinai-dori lines

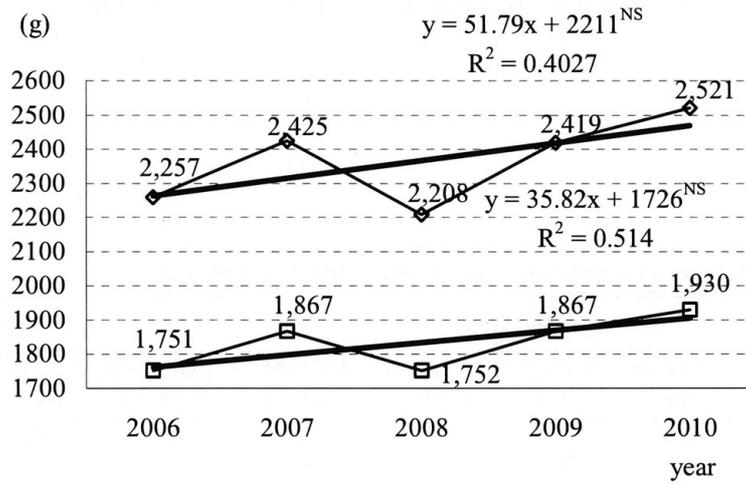
Locus	Chromosome	LES <sup>1</sup>	PS <sup>2</sup>
<i>ABR0258</i>	1	0.640	0.232
<i>ABR0645</i>	2	0.740	0.607
<i>ABR0297</i>	3	0.313	0.284
<i>ABR0075</i>	4	0.689	0.544
<i>ABR0046</i>	5	0.311	0.420
<i>ABR0028</i>	6	0.193	0.061
<i>ABR0419</i>	7	0.180	0.062
<i>ABR0228</i>	8	0.667	0.579
<i>ABR0526</i>	9	0.454	0.426
<i>ABR0495</i>	10	0.629	0.513
<i>ABR0343</i>	11	0.735	0.556
<i>ABR0634</i>	12	0.126	0.458
<i>ABR0506</i>	13	0.145	0.246
<i>LEI0066</i>	14	0.412	0.584
<i>MCW0080</i>	15	0.593	0.736
<i>ABR0257</i>	17	0.156	0
<i>MCW0217</i>	18	0.501	0.094
<i>MCW0304</i>	19	0.691	0.636
<i>ABR0223</i>	20	0.416	0.454
<i>ABR0624</i>	21	0.338	0.229
<i>ADL0262</i>	23	0.396	0.441
<i>ABR0617</i>	26	0.363	0.564
<i>ABR0015</i>	27	0.261	0.044
<i>ABR0378</i>	28	0.594	0.475
Average		0.439	0.385

<sup>1</sup>Livestock Experiment Station

<sup>2</sup>Preservation Society

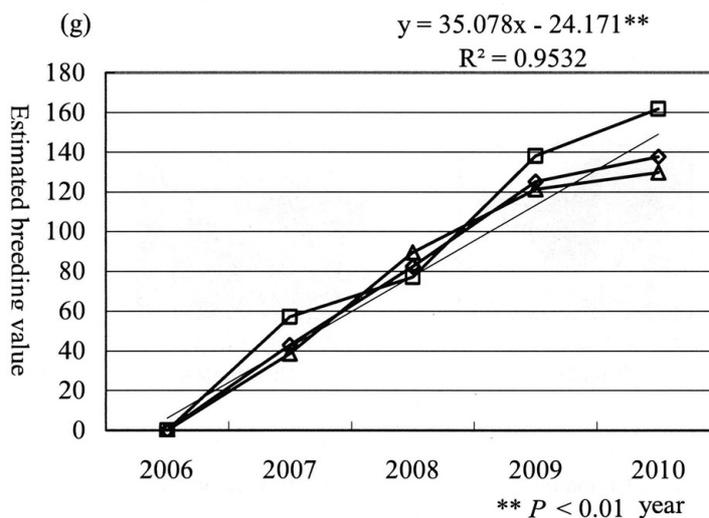
**Table 3. Genetic distance between Hinai-dori lines**

Genetic distance	0.104
------------------	-------



**Figure 1. The change of the body weight at 14 weeks of age.**

◇ : Male, □ : Female



**Figure 2. The genetic trend of body weight at 14 weeks of age.**

◇ : Whole population, □ : Male, △ : Female

Table 4. Heritability estimate for body weight at 14 weeks of age

Calcuration method	Heritability	±	SD
REML	0.45	±	0.06
Realized heritability	0.39	±	0.34

The heritability pooled the records in 2006 to 2010 was presumed.

Table 5. Hatchability and egg laying performance of Hinai-dori chickens

Year	Hatchability				Egg laying performance		
	Number of egg	Fertility (%)	Number of hatching	Hatching rate <sup>1</sup> (%)	Egg weight of 300 days	Egg-laying rate (%)	Research period
2006	1,332	76.1	936	70.3	56.5	31.2	169-448 days
2007	844	76.7	544	64.5	57.9	—	
2008	920	74.1	616	67.0	57.4	37.8	182-420 days
2009	887	84.1	696	78.5	—	36.8	175-434 days
2010	1,352	83.1	1,013	74.9	57.4	35.2	168-434 days

<sup>1</sup>Hatching rate: the rate to the number of egg

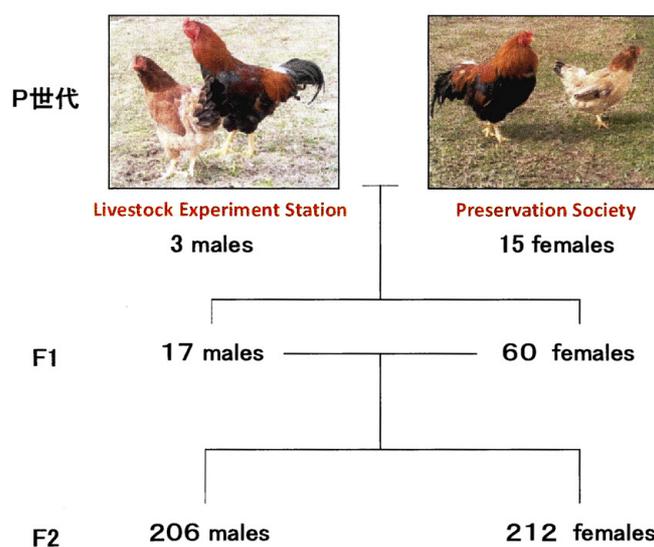


Figure 3. The structure of Hinai-dori resource population.

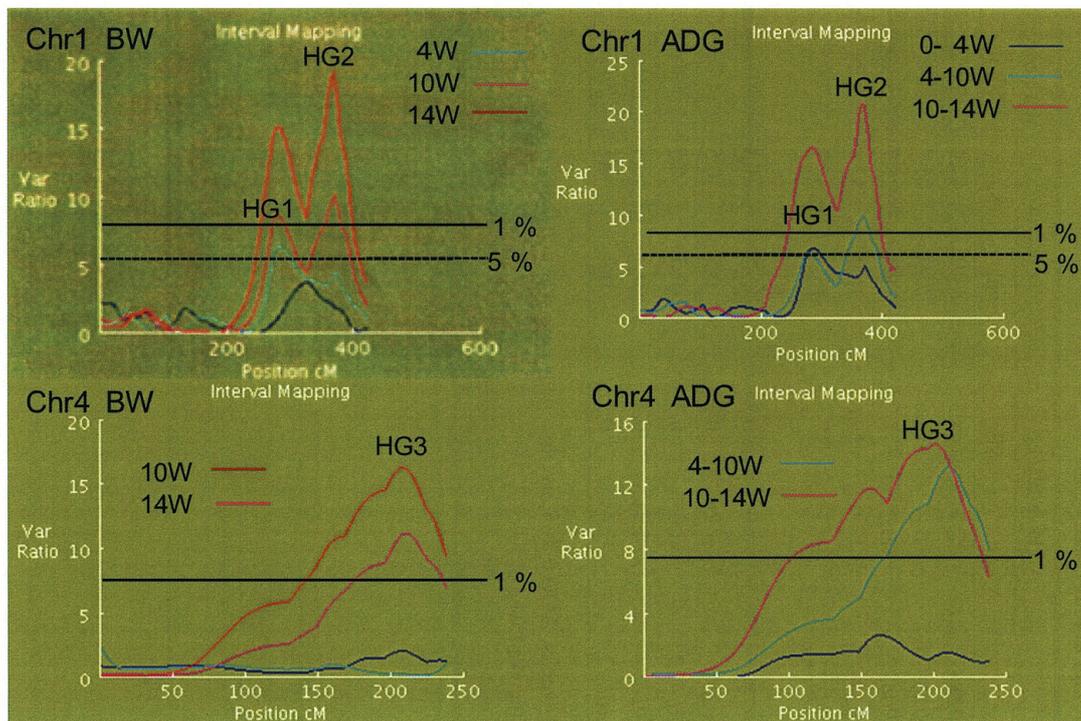


Figure 4. Evidence of significant QTLs for growth traits on chromosome 1 and 4.

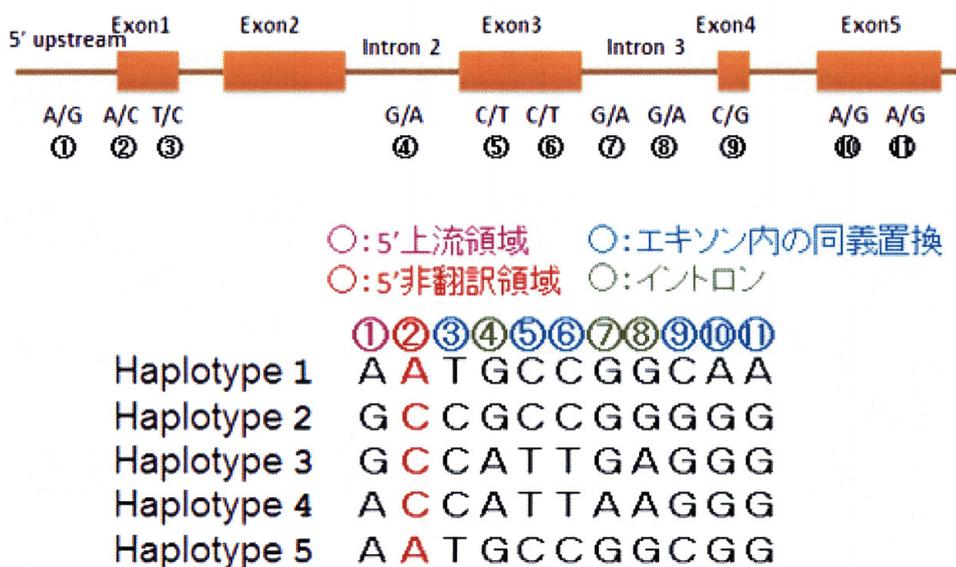


Figure 5. The haplotypes of cholecystokinin type A receptor gene.

Table 6. Phenotypic values of quantitative traits and quantitative traits loci affecting body weight and average daily gain

Trait (unit) <sup>1</sup>	Phenotypic values			Position chromosome: cM	F-value <sup>2</sup>	Flanking markers	Additive effect		Dominance effect		Variance <sup>3</sup> (%)
	n	Mean	SD				Mean	SE	Mean	SE	
BW-4wk (g)	359	235.1	36.1	chr1 : 285	6.4*	ABR0204-ABR0284	-27.7	8.5	-63.9	37.3	2.9
BW-10wk (g)	359	972.6	161.8	chr1 : 371	10.2**	ADL0198-ABR0287	-60.4	13.6	20.9	24.7	4.9
BW-14wk (g)	359	1,478.9	261.2	chr4 : 211	11.2**	MCW0240-ABR0622	-60.0	13.2	-31.7	25.7	5.4
				chr1 : 371	19.2**	ADL0198-ABR0287	-107.8	17.6	31.9	32.1	9.2
ADG 0-4wk (g/day)	359	7.2	1.3	chr4 : 208	16.3**	MCW0240-ABR0622	-99.3	17.5	-13.8	34.3	7.9
				chr1 : 286	6.8*	ABR0204-ABR0284	-1.0	0.3	-2.2	1.3	3.1
ADG 4-10wk (g/day)	359	17.6	3.3	chr1 : 371	9.9**	ADL0198-ABR0287	-1.2	0.3	0.5	0.5	4.7
				chr4 : 210	13.1**	MCW0240-ABR0622	-1.3	0.3	-0.5	0.5	6.4
ADG 10-14wk (g/day)	359	18.1	4.4	chr1 : 368	20.7**	ADL0198-ABR0287	-1.7	0.3	0.4	0.5	10.0
				chr4 : 201	14.6**	MCW0240-ABR0622	-1.4	0.3	0.7	0.5	7.1

<sup>1</sup> BW-4wk, body weight at 4-weeks; BW-10wk, body weight at 10-weeks; BW-14wk, body weight at 14-weeks; ADG 0-4wk, average daily gain between 0 and 4 weeks; ADG 4-10wk, average daily gain between 4 and 10 weeks; ADG 10-14wk, average daily gain between 10 and 14 weeks.

<sup>2</sup> \*experimental-wide significance of 5%; \*\*experimental-wide significance of 1%.

<sup>3</sup> Variance; the percentage of additive genetic variance to phenotypic variance.

**Table 7. Phenotypic values of growth traits and effects of *cholecystokinin type A receptor* haplotypes on the traits in the F<sub>2</sub> population**

Trait	n	Phenotypic values			LRT	P value	Haplotype 1		Haplotype 3		Haplotype 4		Variance	
		Mean ± SD	Mean ± SE	SE			Mean ± SE	SE	Mean ± SE	SE	Rvar	Fvar	(Rvar - Fvar) / Rvar (%)	
BW-4 week (g)	417*	231.1 ± 38.3	—	1.5	n.s.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
BW-10 week (g)	418	960.6 ± 163.5	547.9 ± 17.0	36.6	5.7 × 10 <sup>-8</sup>	547.9 ± 17.0	496.8 ± 18.2	502.7 ± 18.9	16554.7	15325.1	7.4			
BW-14 week (g)	418	1,466.9 ± 260.7	867.1 ± 23.2	57.7	1.9 × 10 <sup>-12</sup>	867.1 ± 23.2	779.2 ± 24.8	790.0 ± 25.7	31852.9	28021.5	12.0			
ADG 0-4 week (g/day)	417*	5.2 ± 1.0	—	1.5	n.s.	—	—	—	—	—	—	—	—	
ADG 4-10 week (g/day)	417*	17.4 ± 3.3	10.1 ± 0.3	46.5	4.4 × 10 <sup>-10</sup>	10.1 ± 0.3	9.0 ± 0.4	9.0 ± 0.4	6.8	6.2	9.4			
ADG 10-14 week (g/day)	418	18.1 ± 4.4	11.4 ± 0.2	50.1	7.5 × 10 <sup>-11</sup>	11.4 ± 0.2	10.1 ± 0.3	10.2 ± 0.3	7.1	6.3	11.5			
ADG 0-14 week (g/day)	418	14.6 ± 2.7	8.7 ± 0.2	57.5	2.2 × 10 <sup>-12</sup>	8.7 ± 0.2	7.8 ± 0.3	7.9 ± 0.3	3.3	2.9	12.0			

BW-4 week, BW-10 week, and BW-14 week: body weight measured at 4 weeks, 10 weeks, and 14 weeks of age. ADG 0-4 week, ADG 4-10 week, ADG 10-14 week, and ADG 0-14 week: average daily gain between 0 and 4 weeks, between 4 and 10 weeks, between 10 and 14 weeks, and between 0 and 14 weeks of age. SD: standard deviation. SE: standard error. LRT: loglikelihood ratio test statistics, n.s. not significant. Rvar: variance by using reduced model that included sex, and polygenic effects. Fvar: variance by using full model that included sex, haplotype, and polygenic effects. \* Since BW-4 weeks has a missing datum, ADG 0-4 week and ADG 4-10 week also have a missing datum, respectively.

**Table 8. Phenotypic values for growth traits and the effects of the g.420 C > A genotype in the YY1 binding site in the 5'UTR of *cholecystokinin type A receptor* gene on the traits of the F<sub>2</sub> population**

Trait	n	Phenotypic values			LRT	P value	Additive effects		Dominance effects		V <sub>snp</sub>	h <sup>2</sup>	V <sub>snp</sub> /V <sub>a</sub>	SNP effect (%)
		Mean ± SD	Mean ± SE	SE			Mean ± SE	SE	V <sub>a</sub>	V <sub>snp</sub>				
BW-4 week (g)	417*	231.1 ± 38.3	—	1.5	n.s.	—	—	—	—	—	—	—	—	
BW-10 week (g)	418	960.6 ± 163.5	49.1 ± 8.1	36.7	1.1 × 10 <sup>-8</sup>	49.1 ± 8.1	-3.4 ± 10.8	9231	1209.57	0.56	13.1	7.3		
BW-14 week (g)	418	1,466.9 ± 260.7	83.0 ± 11	55.2	1.1 × 10 <sup>-12</sup>	83.0 ± 11	-2.6 ± 14.6	18137.9	3427.02	0.57	18.9	10.8		
ADG 0-4 week (g/day)	417*	5.2 ± 1.0	—	1.3	n.s.	—	—	—	—	—	—	—		
ADG 4-10 week (g/day)	417*	17.4 ± 3.3	1.1 ± 0.2	46.2	9.3 × 10 <sup>-11</sup>	1.1 ± 0.2	0 ± 0.2	3.7	0.63	0.54	17.2	9.3		
ADG 10-14 week (g/day)	418	18.1 ± 4.4	1.2 ± 0.2	45.0	1.7 × 10 <sup>-10</sup>	1.2 ± 0.2	0 ± 0.2	1.8	0.74	0.25	42.0	10.4		
ADG 0-14 week (g/day)	418	14.6 ± 2.7	0.8 ± 0.1	55.0	1.1 × 10 <sup>-12</sup>	0.8 ± 0.1	0 ± 0.1	1.9	0.35	0.57	18.9	10.7		

BW-4 week, BW-10 week, and BW-14 week: body weight measured at 4 weeks, 10 weeks, and 14 weeks of age. ADG 0-4 week, ADG 4-10 week, ADG 10-14 week, and ADG 0-14 week: average daily gain between 0 and 4 weeks, between 4 and 10 weeks, between 10 and 14 weeks, and between 0 and 14 weeks of age. SD: standard deviation. SE: standard error. LRT: loglikelihood ratio test statistics, n.s. not significant. V<sub>a</sub>: genetic variance. V<sub>snp</sub>: SNP variance. h<sup>2</sup>: heritability. V<sub>snp</sub>/V<sub>a</sub>: the percentage of SNP variance to genetic variance. SNP effect: the percentage of SNP variance to phenotypic variance. Additive and dominance effects are genotypic value of (AA - CC)/2 and AC - (AA + CC)/2 at g.420 C > A, respectively. \* Since BW-4 weeks has a missing datum, ADG 0-4 week and ADG 4-10 week also have a missing datum.

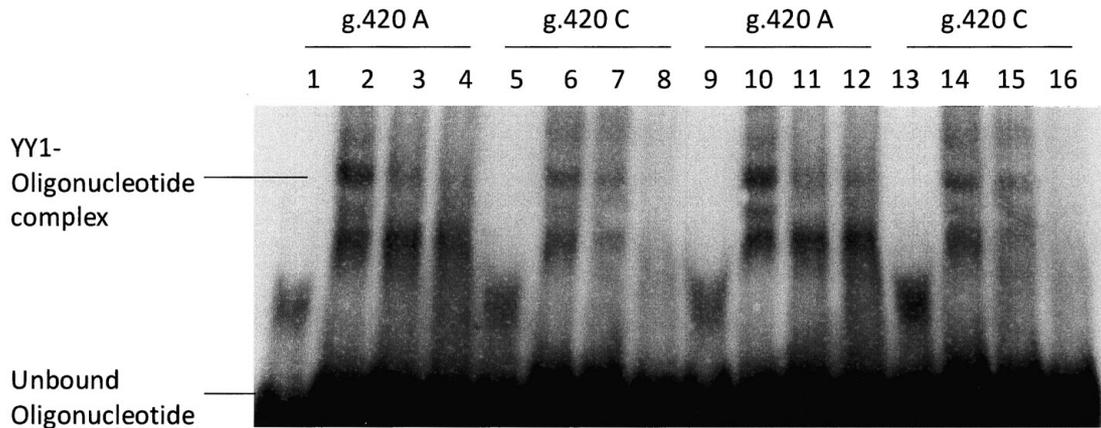


Figure 6. Electrophoretic mobility shift assay for the two alleles of the g.420 C > A site. Lanes 1-4 contain: (1) biotinylated probes; (2) biotinylated probe and YY1; (3) biotinylated probe, YY1, and 10-fold excess of an unlabeled competitor probe for g.420 A allele; (4) biotinylated probe, YY1, and 100-fold excess of an unlabeled competitor probe for g.420 A allele. Lane 5-8 contain: (5) biotinylated probes; (6) biotinylated probe and YY1; (7) biotinylated probe, YY1, and 10-fold excess of an unlabeled competitor probe for g.420 C allele; (8) biotinylated probe, YY1, and 100-fold excess of an unlabeled competitor probe for g.420 C allele. Lanes 9-16 represent results of independent duplicate experiments corresponding to lanes 1-8.

Table 9. Genotype and allele frequency of the g.420 C > A SNP in the YY1 binding site in the 5'UTR of the *cholecystokinin type A receptor* gene

Line	n	14-wk body weight, g*		g.420 A > C genotype			Allele	
				AA	AC	CC	A	C
LES	507	2023.9	± 284.5	0.781	0.215	0.004	0.889	0.111
PS	178	1199.4	± 211.4	0.017	0.213	0.770	0.124	0.876

High-growth line obtained from the Akita Prefectural Livestock Experiment Station (LES).

Low-growth line obtained from the Preservation Society (PS) of the Hinai-dori Breed.

\* The 14-wk body weight in the LES line was corrected for the effect of sex, while 14-wk body weight in the PS line was corrected for the effect of sex and hatch. The sex and hatch effects were estimated using the Best Linear Unbiased Estimator (BLUE). The assumed model for BLUE of each line was as follows: LES :  $y = \text{sex} + \text{additive} + \text{dominance} + \text{polygine} + e$ , PS :  $y = \text{sex} + \text{hatch} + \text{additive} + \text{dominance} + e$

## 論文審査結果要旨

従来、家畜の産肉、肉質、繁殖成績などの量的形質は、表型値と家系情報を基にBLUP法により推定される育種価を基に改良が進められてきた。近年、これらの形質に関与する遺伝子を染色体上に特定する量的形質遺伝子座 (QTL) 解析によって得られた情報を、従来の手法に取り入れることで、改良速度を早め、コストを低減できることが期待されている。秋田県畜産試験場 (秋田畜試) では、1973 年から比内鶏集団の維持と改良に取り組んできた。

本研究は、この秋田畜試の比内鶏集団と比内鶏保存会集団の遺伝的分化の程度と、秋田畜試の比内鶏集団における改良効果と遺伝的変異がどの程度かを明らかにし、さらに、発育形質に影響する QTL 情報を取り入れた効率的な育種改良について検討したものである。はじめに、マイクロサテライトマーカーを用い、秋田畜試で保存されている比内鶏と、保存会の比内鶏集団との遺伝的距離を推定した。その結果、遺伝的距離は 0.104 と推定され、遺伝的に近い集団であることを確認した。次に、秋田畜試の比内鶏集団の選抜形質である 14 週齢体重について遺伝率と年次に伴う選抜反応を推定した。体重の遺伝率は REML 法では 0.45、実現遺伝率は 0.39 と中程度の遺伝率であること、選抜に伴う育種価の変化は 35.1g/年と有意に上昇し、保存会集団とは体重が明らかに異なるが、体重選抜による産卵数や卵重への影響は無いことが分かった。そこで、秋田畜試と保存会の両集団の交配による  $F_2$  家系集団を作出して発育形質に影響する QTL の探索を行った。その結果、2つの高度に有意な QTL と 1つの有意な QTL を検出し、第 4 番染色体上に検出した有意な QTL 領域に、ヒトの肥満の候補遺伝子であるコレシストキニン A 受容体 (CCKAR) 遺伝子を特定した。CCKAR 遺伝子ハプロタイプによるアミノ酸配列の違いは認められなかったため、 $F_2$  家系集団における CCKAR 遺伝子ハプロタイプと発育形質の相関解析を行い、CCKAR 遺伝子の 5' 非翻訳領域 (5' -UTR) の YY1 結合部位における一塩基多型 g.420C>A SNP が、CCKAR 遺伝子の発現調節に関与していることを明らかにした。さらに、比内鶏の発育形質の更なる改良のため、g.420C>A SNP 情報の利用の有効性を検討した。秋田畜試種鶏群の大部分は AA 型に固定されていたが、発育の向上と生産コストの削減のため簡易的な遺伝子検査を行うことで、比内鶏の育種計画において非常に有効な遺伝子マーカーになりうると提案した。本研究で得られた知見は、他の肉用鶏においても同様の効果が認められていることから、QTL 情報を指標とした効率的なニワトリの発育形質の育種改良への利用に当たって重要な情報を提示するものであり高く評価される。よって、審査員一同はこれを博士 (農学) の学位授与に値するものと判定した。