

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18781

研究課題名(和文) 体重に特色のある独自の系統を用いたウズラの成長を支配する量的形質遺伝子座の探索

研究課題名(英文) Analysis of quantitative trait loci affecting growth traits in Japanese quail using a unique F2 population

研究代表者

只野 亮 (TADANO, Ryo)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：70614048

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、ウズラの成長に関わる遺伝子座の探索を目的として、体重に大きな差異のある2つの系統を親世代とした資源家系の造成、資源家系の3世代にわたる個体毎の成長形質(体重ならびに脚長)の測定、RADシーケンシングによるSNPマーカーの探索を実施した。その結果、親世代とした2系統の間で遺伝子マッピングに使用できるゲノムワイドなSNPマーカーを多数(約42,000)開発することができた。これらのSNPマーカーは、今後ウズラの成長に関与する遺伝子座を明らかにする上で、有効なツールになり得ると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, I carried out production of F2 resource population derived from two lines differing in body size, phenotypic measurement, and development of SNP markers for future analysis of QTL affecting growth of Japanese quail. Around 42,000 SNP markers were obtained from parental generation using RAD sequencing. These markers will be a useful tool for mapping of QTL associated with quail growth.

研究分野：動物ゲノム多様性学

キーワード：ウズラ 成長形質 SNPマーカー 資源家系 マッピング

1. 研究開始当初の背景

(1) ウズラは、全国で推定 600 万羽が飼育されており、卵肉生産において重要な家禽となっているが、遺伝子マッピングに必要な DNA マーカーが十分に開発されておらず、経済的に重要な形質（成長など）に関する遺伝子座は特定されていない。

(2) 遺伝子マッピングでは、対象とする形質に大きな差異のある系統を親世代として資源家系を造成することが望ましいとされる。これまでに筆者は、全国の商業用ウズラの遺伝子プールの中から成長形質（体重）に大きな違いのある 2 つの系統を探索した。

(3) 近年の家畜・家禽の遺伝子マッピングでは、一塩基多型に基づくゲノムワイドな DNA マーカーである SNP マーカーの利用が主流となっている。

(4) この SNP マーカーを作成する手法として近年注目されているのが、次世代シーケンサーを用いた RAD シーケンシング（以下、RAD-Seq）である。これは、制限酵素で断片化した多数のゲノム DNA の特定領域を高い精度で読み、さらに複数の個体間で、これらの領域を比較して一塩基多型を検出することができるため、大量（数千～数万）の SNP マーカーを作成し、遺伝子型判定も同時に行える手法である。

2. 研究の目的

本研究では、ウズラの成長を支配する遺伝子座のマッピングにむけて、(1) 資源家系の造成、(2) 成長形質のデータ収集、(3) SNP マーカーの作成と遺伝子型の判定、以上 3 つを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 資源家系の造成

体重（成長）に大きな差のある A 系統と B 系統（図-1）を親世代とし、得られた F1 同士を全きょうだい交配することで、最終的に 200 個体以上の F2 を生産する。



図-1. 資源家系の親世代として用いた A 系統（右）と B 系統（左）。写真は、共に 8 週齢時の雌個体。

(2) 成長形質のデータ収集

体重および脚長を測定する。体重（0.01g まで）については、動物用天びんを用い、孵化 1 日齢、1 週齢、5 週齢、10 週齢、20 週齢、30 週齢、40 週齢の 7 つの時期に測定を行う。脚長（0.01mm まで）については、デジタルノギスを用い、5 週齢以降から体重と同様の週齢で測定する。

(3) SNP マーカーの作成と遺伝子型の判定

資源家系の親世代と F1 個体を対象に、RAD-Seq を用いて SNP マーカーの探索と遺伝子型の判定を行う。得られた SNP マーカーは、参照ゲノム配列（*Coturnix japonica* 2.0）にマッピングし染色体上での位置を明らかにする。

また、親と F1 の間で遺伝子型を比較し正確に遺伝しているかを確認する。本研究での RAD-Seq は、外部機関への委託解析により行う。

4. 研究成果

(1) 資源家系の造成

A 系統の雌 3 個体（個体番号 No.80、88、91）、B 系統の雄 1 個体（No.70）を親世代として交配を行い、合計 36 個体の F1 を作出した。次に、母親が異なる 3 つの家系の中からそれぞれ 3 ペアの F1 を選び、全きょうだい交配を行い、合計で 383 個体の F2 を作出した（図-2）。

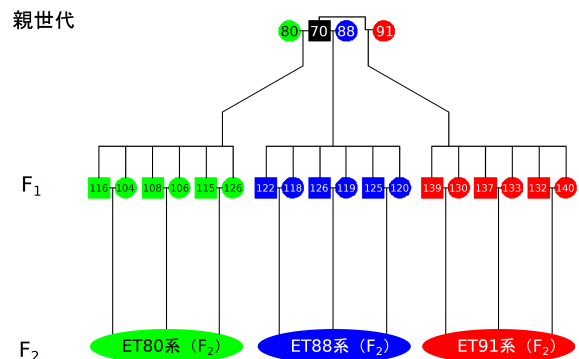


図-2. 本研究で作成した資源家系。親世代と F1 で四角は雄、円は雌の個体を示す。数字は個体番号を示す。F2 の ET とは、A 系統を意味する。

(2) 成長形質のデータ収集

現在までに、親世代と F1 個体に関しては、データ収集をすべて完了した。また、F2 個体の一部に関しても、収集を完了している。体重ならびに脚長のデータの一例を示すと、5 週齢時の体重（平均値 ± 標準誤差）は、F1（雌）と F2（雌）でそれぞれ $165.90 \pm 2.66\text{g}$ と $160.21 \pm 5.39\text{g}$ であった。また、40 週齢時の体重は、F1 と F2（いずれも雌）でそれぞれ $255.07 \pm 6.62\text{g}$ と $236.98 \pm 5.33\text{g}$ であった。

5 週齢時の脚長（平均値 ± 標準誤差）は、F1（雌）と F2（雌）で $29.37 \pm 0.11\text{mm}$ と 28.59

±0.27mmであった。また、40週齢時の脚長は、F1とF2(いずれも雌)でそれぞれ29.23±0.17mmと28.49±0.35mmであった。

体重に関しては、F1集団と比較して、F2集団で個体ごとに大きくばらつく傾向がみられた。

(3) SNP マーカーの作成と遺伝子型の判定

4個体の親と36個体のF1の合計40個体について、SNPマーカーの探索と遺伝子型の判定を行った。その結果、親世代のA系統の雌3個体とB系統の雄1個体の間で、合計で42,223箇所の一塩基多型が検出でき、SNPマーカーとして利用できることが判明した。さらに、親とF1の間で確認をしたところ、これらのマーカーでは遺伝子型の判定結果に矛盾はみられなかった。

さらに、マーカーを参照ゲノム配列にマッピングしたところ、合計で31の染色体(連鎖群も含む)に位置しており、最もサイズの大きな1番染色体には、9,280のSNPマーカーを位置付けることができた(図-3と図-4)。

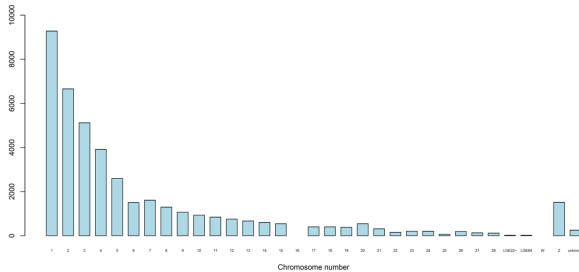


図-3.本研究で作成したSNPマーカーの染色体ごとの数(合計42,223)。縦軸がマーカー数、横軸は染色体番号を示す。

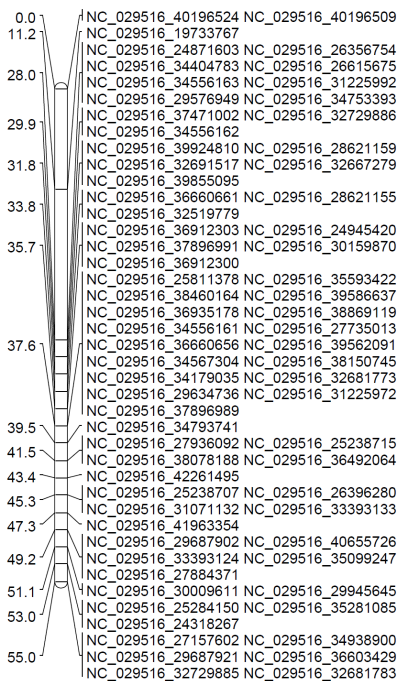


図-4.作成したSNPマーカーの一部を用いた第1染色体の遺伝子地図。

また、親とF1個体の遺伝子型判定の正確性を確認するために、SNPマーカーの遺伝子型(3,836箇所)に基づき系統樹を作成した(図-5)。その結果、3つの家系ごとに明確なクラスターが形成された。

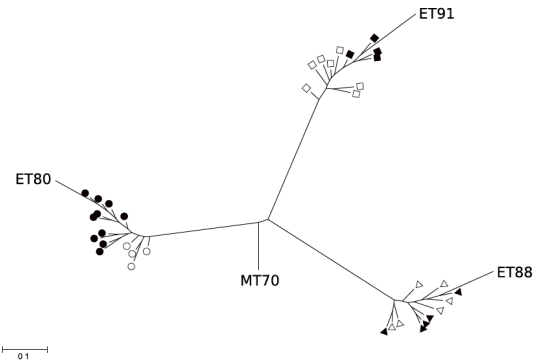


図-5.4個体の親と36個体のF1のSNPマーカーの遺伝子型を用いて作成した系統樹。親の4個体は、英字と数字で示しておりETはA系統、MTはB系統を意味する。ET80、ET88、ET91を親に持つF1個体は、それぞれ円、三角、四角で示している(黒は雄、白は雌の個体を示す)。

さらに、今後行う予定であるF2個体のSNPマーカーの遺伝子型判定のために、一部の個体について血液試料の採取とDNA抽出も実施した。

(4) 総括と今後の展望

本研究では、成長形質が大きく異なるウズラ系統を用いて資源家系を造成し、各個体の形質データを収集し、マッピングに必要なSNPマーカーを作成した。

特に、SNPマーカーの作成では、染色体領域の広範囲にわたり分布する多数(約42,000)のマーカーを開発することができた。今後、このようなマーカーを使用することでマッピングの精度が高められ、さらに形質に関与する遺伝子座の近傍にあるマーカーを発見できる可能性も高まると考えられる。

したがって、マーカーアシスティド選抜や浸透交雑、すなわちウズラのDNAマーカー育種の実現性が高まると考えられる。具体的には、マーカーを指標として高生産性(高成長)遺伝子を持つ個体を確実に選抜したり、従来の系統に高生産性遺伝子を導入することが可能となり、ウズラの育種改良に大きく貢献することが期待できる。

本研究では、資源家系の造成と形質データの収集に関してはF2世代まで進めることができた。一方で、残された課題としては、作成したF2個体のSNPマーカーの遺伝子型判定があり、これが急務となる。そのため、さらに研究を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Shimma K, Tadano R. Genetic differentiation among commercial lines of laying-type Japanese quail. The Journal of Poultry Science. 査読有、2018.
DOI: 10.2141/jpsa.0170213

〔学会発表〕(計1件)

新聞清仁、永野 惇、只野 亮. RAD シーケンシングを用いたニホンウズラにおけるゲノムワイド SNP マーカーの作成. 日本家禽学会 2017 年度秋季大会. 2017 年 9 月 5 日. 信州大学 (長野県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

只野 亮 (TADANO, Ryo)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号: 70614048