

令和 3 年 5 月 18 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03905

研究課題名(和文)ニワトリの経済形質発現に関与する候補遺伝子の同定 ゲノム育種実現のために

研究課題名(英文)Identification of candidate genes of chicken economic traits

研究代表者

都築 政起 (Tsudzuki, Masaoki)

広島大学・統合生命科学研究科(生)・教授

研究者番号：70212058

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：ニワトリの成長関連形質ならびに卵関連形質を標的形質とし、single nucleotide polymorphismマーカーを用いてquantitative trait loci (QTL)解析を行った結果、成長関連形質では、24の形質に関与する10のQTLを、卵関連形質では、60の形質に関与する30のQTLを発見した。次いで、この結果に基づいて選定した候補遺伝子(成長関連形質では2つ、卵関連形質では3つ)の発現解析を行った結果、前2つの遺伝子は脚長成長に関与している可能性が示された。一方、後3つの遺伝子は、卵関連形質発現には関与していないと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ニワトリがもつ量的形質の多くは、産業界にとって重要な形質であるため経済形質と呼ばれる。本研究では、この経済形質の内、成長関連および卵関連形質に着目して、QTL解析を行い、これらの形質発現に関与している多くの遺伝子座(DNAマーカー)を発見した。本研究で使用したDNAマーカーはRAD-sequence法により開発されたSNPマーカーであるが、QTL解析用のマーカー開発にRAD-sequence法を使用した点が学術的に斬新である。また、本研究で発見された経済形質遺伝子座(DNAマーカー)は、ニワトリを効率的に改良する際のゲノム育種に活用可能であるため、ニワトリ産業界の発展に対し貢献できる。

研究成果の概要(英文)：Quantitative trait loci (QTL) analyses were performed to reveal the QTL for growth- and egg-related traits of chickens. Single nucleotide polymorphisms (SNP) were used as markers. As a result of the QTL analysis, 10 and 30 QTL were discovered for 24 growth- and 60 egg-related traits, respectively. Based on the result of the QTL analysis, candidate genes were selected (two for growth-related traits and three for egg-related traits), and expression analyses were performed. The former two genes were thought to be related to the expression of shank growth traits. On the other hand, the latter three genes did not seem to be involved in the expression of egg-related traits.

研究分野：家畜育種遺伝学

キーワード：ニワトリ 量的(経済)形質 QTL解析 候補遺伝子 発現解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究の最終目標は、ニワトリのゲノム育種を行って、欧米に劣らない我が国独自の優良原種鶏を作出し、我が国の鶏卵・鶏肉の自給率を真に向上させることにある。ここで言うゲノム育種は、遺伝子組み換えを行うものではなく、通常の雌雄の交配により行うものである。よって、将来、消費者からの忌避は起こりえない優れた方法である。ゲノム育種を行うためには、それに先立ち、量的形質遺伝子座(quantitative trait loci: QTL)解析を始めとする各種研究を行って、成長や産卵を支配している遺伝子座ならびにさらには遺伝子そのものを検出する必要がある。

本研究の背景には、我が国には国産の高性能鶏がほとんど存在しないため、真の鶏卵・鶏肉の自給率は6%未満であり、海外からの種鶏の輸入なくしては鶏卵肉の供給がほとんど行えないという事実がある。鶏卵肉は無くしてはならない重要なタンパク源である。トリインフルエンザ等の防疫問題や何らかの国家間トラブルにより輸入がストップすれば由々しき事態が発生する。早急に、我が国独自の高性能鶏を作出すべきである。

本報告書執筆者は、かつてマイクロサテライト DNA をマーカーに用いた QTL 解析研究に従事し、ニワトリの成長や卵・肉に関する多くの QTL を発見している (Tsudzuki *et al.*, 2007, Cytogenet Genome Res 117: 288-295; Goto *et al.*, 2011, Anim Genet 42: 634-641; Yoshida *et al.*, 2013, J Poult Sci 50: 198-205; Goto *et al.*, 2014a, J Poult Sci 51: 118-129; Goto *et al.*, 2014b, J Poult Sci 51: 375-386; Goto & Tsudzuki, 2017, J Poult Sci; Goto *et al.* 2019a, Mol Genet Genom 294: 243-252; Goto *et al.* 2019b, Mol Genet Genom 294: 1455-1462)。

本研究では、DNA マーカーに single nucleotide polymorphism (SNP) を用いることにより、これまでよりも一層精密な QTL 解析を遂行しようとして発想した次第である。さらに、QTL 解析に止まらず、遺伝子発現解析も行なって、ゲノム育種に直接的に応用可能な遺伝子そのものも発見しようとして発想した次第である。

2. 研究の目的

本研究では、SNP マーカーを用いた精密な QTL 解析を遂行し、成長関連形質ならびに卵関連形質を支配している量的形質遺伝子座(QTL)の染色体上の位置を正確に明らかにすること、さらには、その情報に基づいて候補遺伝子を選定し、遺伝子発現解析を行って、これらの形質を支配している遺伝子を同定することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 成長関連形質に関する QTL 解析

解析用資源家系の親世代には、オオシャモ雄 1 個体と白色レグホーン(CB 系統)雌 3 個体を用いた。白色レグホーン雌の各個体から、F₁ 雄 1 個体(#1153)と雌 6 個体を得、それらを全兄妹交配することによって、F₂ 世代を得た。F₂ 個体の総数は 290 であった。

標的形質は次の通りである。孵化時から 16 週齢までの 1 週間ごとの体重および脚長。ゴンペルツ成長曲線による、体重および脚長に関するパラメーター a, b, K, IP_T および IP₀。

Restriction site associated (RAD)-sequence 法により得た SNP マーカーの連鎖地図を、R/qtI パッケージを用いて作製した後、同じく R/qtI により複合区間マッピング法により QTL 解析を遂行した。この際、DNA マーカーには、F₂ 世代において 1:2:1 の比で分離した SNP のみを用いた。QTL 解析に用いた SNP マーカーの総数は 714 であった。

また、以上に加えて、TASSEL を用いて形質値とマーカージェノタイプ情報に基づいて Association 解析を行った。ここで用いた SNP の数は 5,687 であった。

(2) 卵関連形質に関する QTL 解析

解析用資源家系の親世代には、オオシャモ雄 1 個体(#1169)と白色レグホーン(CB 系統)雌 3 個体を用いた。ただし、用いた品種・系統は上記(1)と同じであるが、個体は全て異なっている。すなわち、上記(1)とは別家系である。各白色レグホーン雌から、(1)の場合と同様に F₁ 雄 1 個体と雌 6 個体を得、それらを全兄妹交配することによって、F₂ 世代を得た。F₂ 個体の総数は 346 であった。

標的形質は次の通りである。初産日齢、ならびに初産時、300 日齢時および 400 日齢時における、産卵率、卵殻色 (L*, a*, b* 値) 卵重、卵殻重、卵殻強度、卵殻厚 (鈍端部、鋭端部、赤道部) 卵白重、卵白高、濃厚卵白の長径・短径、卵黄色 (L*, a*, b* 値) 卵黄高、卵黄重、卵黄の長径・短径。

上記(1)と同じく、R/qtI パッケージを用いてマーカー遺伝連鎖地図を作製した後、同じく R/qtI パッケージを用いて複合区間マッピングを遂行した。ここで使用したマーカーは、やはり RAD-sequence によって開発した SNP マーカー (1,454 個) である。F₂ 世代において、1:2:1 に分

離したマーカーのみを用いた。

(3) 候補遺伝子の発現解析

(1) および(2)の解析結果とニワトリのリファレンスゲノムシーケンスおよび遺伝子データベースを照合することにより、候補遺伝子を選定し、リアルタイム PCR 法を用いて遺伝子発現解析を行った。

4. 研究成果

(1) 成長関連形質に関する QTL

孵化後 1 週齢、4 週齢、12 週齢、14-16 週齢の体重、ならびに成長曲線パラメーターの K および IP_W に関し 8 個の QTL が第 1、2、3 および 4 染色体上に発見された。また、孵化時から 6 週齢時まで、および 11-16 週齢時までの脚長、ならびに脚長成長のパラメーター a、K および IP_W に関し、7 個の QTL が第 1、3、4 および 6 染色体上に発見された。これらのうち、Association 解析の結果とも合致した QTL は 10 個であった。

(2) 卵関連形質に関する QTL

全ての形質名を羅列するとあまりに煩雑になるので控えるが、60 の卵形質に関し 30 の QTL を、第 1-11、15、18 および Z 染色体上に発見した。これは、先行研究で用いられているようなマイクロサテライト DNA マーカーではなくて、SNP マーカーを用いたことによる功績が大きいと考えられる。SNP マーカーは、マイクロサテライト DNA マーカーよりも、より広範にゲノム領域をカバーしているためである。また、SNP マーカーを用いた方が、検出 QTL の confidential interval が小さい。これは、すなわち、ニワトリに対し、より正確なマーカーアシスティド選抜が行えることを意味している。

(3) 候補遺伝子の発現解析

(1) および(2)の QTL 検出結果(染色体上の位置情報)に基づき、リファレンスゲノム情報との照合を行った結果、成長関連形質に関し 2 つ、卵関連形質に関し 3 つの候補遺伝子を選定した。これらの遺伝子に関し発現解析を行った結果、成長関連形質に関する 2 つの遺伝子は、脚長成長形質に関与している可能性が示された。一方、卵関連形質に関与すると推測された 3 つの遺伝子については、形質値との間に相関は見いだされなかった。

最後に、研究最終年度(2020 年度)には、COVID-19 ウイルス感染防御対策のために研究遂行が著しく阻害されたことは残念である。上述の 5 つの遺伝子に関し、今後さらなる研究を重ねる重要性は十分にあると考えられる。本研究では形質との相関が見いだせなかった卵関連形質に関する候補遺伝子についても、今後の研究の遂行如何によっては、当該形質への関与が見いだせる可能性は残っていると考えられる。

(総括) 本研究において、ニワトリのジーンアシスティド選抜に用いることのできる候補遺伝子までは同定できなかったことは残念であるが、マーカーアシスティド選抜に用いることが出来る QTL (SNP マーカー) が多数発見できたことは、大きな成果であったと考えられる。

< 引用文献 >

- Tsudzuki M*, Onitsuka S, Akiyama R, Iwamizu M, Goto N, Nishibori M, Takahashi H, and Ishikawa A, 2007. Identification of quantitative trait loci affecting shank length, body weight and carcass weight from the Japanese cockfighting chicken breed, Oh-Shamo (Japanese Large Game). *Cytogenet Genome Res* 117: 288-295.
- Goto T, Ishikawa A, Onitsuka S, Goto N, Fujikawa Y, Umino T, Nishibori M, and Tsudzuki M*, 2011. Mapping quantitative trait loci for egg production traits in an F_2 intercross of Oh-Shamo and White Leghorn chickens. *Anim Genet* 42: 634-641.
- Yoshida M, Ishikawa A, Goto T, Goto N, Nishibori M, and Tsudzuki M*, 2013. QTL mapping for meat color traits using the F_2 intercross between the Oh-Shamo (Japanese Large Game) and White Leghorn chickens. *J Poult Sci* 50: 198-205.
- Goto T, Ishikawa A, Yoshida M, Goto N, Umino T, Nishibori M, and Tsudzuki M*, 2014. Quantitative trait loci mapping for external egg traits in chickens. *J Poult Sci* 51: 118-129.
- Goto T, Ishikawa A, Goto N, Nishibori M, Umino T, and Tsudzuki M*, 2014. Mapping of main-effect and epistatic quantitative trait loci for internal egg traits in chickens. *J Poult Sci* 51: 375-386.
- Goto T* and Tsudzuki M*, 2017. Genetic mapping of quantitative trait loci for egg production and egg quality traits in chickens: a review. *J Poult Sci* 54: 1-12.
- Goto T*, Ishikawa A, Nishibori M, and Tsudzuki M*, 2019. A longitudinal quantitative

trait locus mapping of chicken growth traits. *Mol Genet Genom* 294: 243-252.
Goto T*, Fernandes AFA, Tsudzuki M*, and Rosa GJM, 2019. Causal phenotypic networks
for egg traits in an F₂ chicken population. *Mol Genet Genom* 294: 1455-1462.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	石川 明 (Ishikawa Akira) (20211724)	名古屋大学・生命農学研究科・准教授 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関