

広大科研

15

12460134

0130484471

ニワトリの量的遺伝子座の染色体マッピング

—我が国初の試み—

課題番号 12460134

平成12年度—平成14年度

科学研究費補助金（基盤研究(B)(2)）

研究成果報告書

平成15年4月

研究代表者 ノ ツバ マサ オキ
都 築 政 起

広島大学図書

0130484471



大学院生物圏科学研究科助教授)

ニワトリの量的遺伝子座の染色体マッピング —我が国初の試み—

課題番号 12460134

平成 12 年度—平成 14 年度

科学研究費補助金（基盤研究(B)(2)）

研究成果報告書



平成 15 年 4 月

研究代表者 都 築 政 起

(広島大学大学院生物圏科学研究科助教授)

本冊子の構成

研究組織および研究経費

研究発表：(1) 学会誌等 (2) 口頭発表 (3) 出版物

序文

研究成果

- ・ リソースファミリーの造成
- ・ 体重形質および脚長形質の分析
- ・ 成長形質の解析～4-10 週齢の成長速度について～
- ・ 20 週齢時の体重および脚長形質ならびに
300 および 400 日齢時の卵形質の分析
- ・ 初産日齢、産卵率および卵サイズの分析
- ・ 肉質分析～肉色および剪断力価を中心として～
- ・ 肉質分析～遊離アミノ酸含量を中心として～
- ・ 肉質分析～一般成分および核酸関連物質を中心として～
- ・ リソースファミリーの親世代および F_1 世代における
マイクロサテライト DNA マーカーのタイピング
- ・ 脚長形質の QTL マッピング
- ・ 卵関連形質の QTL マッピング
- ・ 肉質関連形質の QTL マッピング
- ・ 我が国で独自に開発されたマイクロサテライト DNA マーカーの
遺伝連鎖地図

研究組織

研究代表者： 都築 政起 (広島大学・大学院生物圏科学研究科・助教授)

研究分担者： 西村 敏英 (広島大学・大学院生物圏科学研究科・教授)

西堀 正英 (広島大学・大学院生物圏科学研究科・助手)

松田 洋一 (北海道大学・先端科学技術共同研究センター・
教授)

高橋 秀彰 (独立行政法人 農業生物資源研究所・主任研究員)

交付決定額 (配分額)

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 12 年度	4,600	0	4,600
平成 13 年度	3,500	0	3,500
平成 14 年度	4,100	0	4,100
総計	12,200	0	12,200

序文

近年、各種動物において Quantitative Trait Loci (QTL)解析が盛んに行われている。しかしながら、ニワトリにおいては、世界的にみても、未だ QTL 解析結果の報告例は極めて少ない。本課題は、我が国からも、世界に向けてニワトリの QTL 解析結果を発信すべく設定されたものである。

本課題の研究計画は、次に記述する骨子から成っている。

1. ニワトリ QTL 解析用のリソースファミリーの造成
2. 各種量的形質の測定・定量
 - (1) 成長関連形質
 - (2) 卵関連形質
 - (3) 肉関連形質
3. マイクロサテライト DNA マーカーのタイピング
4. 各種形質に関する QTL 解析
5. 我が国独自のマイクロサテライト DNA マーカーの開発
ならびにその連鎖地図の作製

上記 3.および 4.においては、アメリカ合衆国農務省の Dr. H. H. Cheng より分与されたマイクロサテライト DNA マーカーを用いた。また、これとは別に、5.において、我が国独自のマイクロサテライト DNA マーカーを開発し、その連鎖地図を作製した。現在、このマーカーおよび連鎖地図を用いての QTL 解析も遂行中である。

研究発表

(1) 学会誌等

- 1) Kayang BB, Inoue-Murayama M, Takahashi H, Minezawa M, Tsudzuki M, Mizutani M, and Ito S, 2003.
Twenty-eight new microsatellite loci in chicken and cross-species amplification in Japanese quail and helmeted guinea fowl.
Anim Sci J 74 (4): in press.
- 2) 都築政起, 三橋忠由, 2001.
家禽のゲノム解析.
畜産先進技術最新研究情報・特別号 II: 23-26.
- 3) Tsudzuki M, Nishibori M, Takahashi H, Sugimoto Y, Yamamoto Y, and Tanimoto H, 2000.
Development of an F₂ resource family between Oh-Shamo (Japanese Large Game) and White Leghorn for chicken QTL analysis.
In: Proceedings of the 27th International Conference on Animal Genetics (USA), p. 51.
- 4) Takahashi H, Minezawa M, Satou M, Tsudzuki M, Inoue-Murayama M, and Matsuda Y, 2000.
New microsatellite markers in chicken.
In: Proceedings of the 27th International Conference on Animal Genetics (USA), p. 18.
- 5) Takahashi H and Tsudzuki M, 2000.
Chicken genomics – Progress and Prospects in Japan.
In: Proceedings of the International Workshop on Animal Genome Analysis (Tsukuba, Japan), with no page number.

(2) 口頭発表

- 1) 都築政起, 石川 明, 西堀正英, 山本義雄, 西堀奈穂子, 鎌田 綾, 森岡典子, 片山美恵子, 谷本一志.
ニワトリの 20 週齢脚長に関する QTL.
日本畜産学会第 101 回大会, 2003 年 3 月, 筑波
- 2) 高橋秀彰, 峰沢 満, 井上美穂, 佐々木 修, 西堀正英, 山本義雄, 石川 明, 松田洋一, 都築政起.
ニワトリ遺伝連鎖地図-Hiroshima/NIAS linkage map-の作製.
日本畜産学会第 101 回大会, 2003 年 3 月, 筑波
- 3) 都築政起 (招待講演)
家禽の QTL 解析-国産の優良原種鶏の作出を目指して.
日本畜産学会第 100 回大会・シンポジウム V, 2002 年 3 月, 武蔵野
- 4) 都築政起 (招待講演)
ニワトリの QTL 解析-成長、産卵、肉質を支配する量的遺伝子の検出を目指して.
第 30 回大阪府立大学生物資源開発センターセミナー, 2002 年 3 月, 堺
- 5) 井上大輔, 板原浩司, 西堀正英, 山本義雄, 谷本一志, 都築政起.
ニワトリ QTL 解析用家系の両親世代におけるマイクロサテライトマーカータイプの分析.
日本家禽学会 2001 年度秋季大会, 2001 年 10 月, 高知
- 6) 阿部祐也, 中村一成, 小堤聖人, 西村敏英, 西堀正英, 山本義雄, 谷本一志, 都築政起.
ニワトリの QTL 解析用家系における肉質分析-親世代の遊離アミノ酸含量について.
日本家禽学会 2001 年度秋季大会, 2001 年 10 月, 高知
- 7) 中村一成, 阿部祐也, 西堀正英, 山本義雄, 谷本一志, 都築政起.
ニワトリの QTL 解析用家系の両親および F₁ 世代における生体重量・屠体重量・屠体率について.
日本家禽学会 2001 年度秋季大会, 2001 年 10 月, 高知

- 8) 都築政起, 西堀正英, 石川 明, 高橋秀彰, 松田洋一, 杉本憲喜, 谷本一志.
日本初のニワトリの基準家系, Hiroshima 家系の完成.
日本畜産学会第 99 回大会, 2001 年 9 月, 南箕輪村
- 9) 喜田篤志, 石川 明, 蔵場修平, 桑原徹平, 西堀正英, 谷本一志, 杉本憲喜, 都築政起.
ニワトリの QTL 解析用 F₂ リソースファミリーにおける 300 日齢時の卵形質について.
日本畜産学会第 98 回大会, 2001 年 3 月, 仙台
- 10) Takahashi H and Tsudzuki M.
Chicken genomics – Progress and Prospects in Japan.
The International Workshop on Animal Genome Analysis
November, 2000, Tsukuba, Japan.
- 11) 阿部祐也, 中村一成, 小堤聖人, 西村敏英, 西堀正英, 杉本憲喜, 山本義雄, 谷本一志,
都築政起.
ニワトリの QTL 解析用家系における肉質分析—親世代および F₁ 世代における pH 値
について.
第 50 回関西畜産学会, 2000 年 9 月, 東広島
- 12) 中村一成, 阿部祐也, 小堤聖人, 西村敏英, 西堀正英, 杉本憲喜, 山本義雄, 谷本一志,
都築政起.
ニワトリの QTL 解析用家系における肉質分析—親世代および F₁ 世代が示す肉色につ
いて.
第 50 回関西畜産学会, 2000 年 9 月, 東広島
- 13) Takahashi H, Minezawa M, Satou M, Tsudzuki M, Inoue-Murayama M,
Matsuda Y.
New microsatellite markers in chicken.
The 27th International Conference on Animal Genetics, July 2000, Minnesota,
USA.
- 14) Tsudzuki M, Nishibori M, Takahashi H, Sugimoto Y, Yamamoto Y, and
Tanimoto H.
Development of an F₂ resource family between Oh-Shamo (Japanese large
game) and White Leghorn for chicken QTL analysis.

The 27th International Conference on Animal Genetics, July 2000, Minnesota, USA.

- 15) 小堤聖人, 西村敏英, 喜田篤志, 西堀正英, 石川 明, 杉本喜憲, 山本義雄, 都築政起.
ニワトリの QTL 解析用 F₂ リソースファミリーの作成—親世代および F₁ 世代における屠体重量ならびに肉質分析.
日本畜産学会第 97 回大会, 2000 年 3 月, 京都
- 16) 喜田篤志, 小堤聖人, 阿部祐也, 井上大輔, 中村一成, 西堀正英, 石川 明, 杉本喜憲, 山本義雄, 都築政起.
ニワトリの QTL 解析用 F₂ リソースファミリーの作成—親世代および F₁ 世代の 300 日齢時における卵形質について.
日本畜産学会第 97 回大会, 2000 年 3 月, 京都
- 17) 高橋秀彰, 加藤克典, 佐藤正寛, 峰沢 満, 村山美穂, 松田洋一, 都築政起.
ニワトリマイクロサテライトマーカーの大量開発
日本畜産学会第 97 回大会, 2000 年 3 月, 京都
- 18) 喜田篤志, 石川 明, 小堤聖人, 西堀正英, 杉本喜憲, 都築政起.
QTL 解析のための大シャモと白色レグホーンとの交雑 F₂ リソースファミリーの作出—両親および正逆 F₁ 世代における体重成長の特徴.
日本畜産学会第 96 回大会, 1999 年 10 月, 鹿児島
- 19) 小堤聖人, 西村敏英, 石川 明, 西堀正英, 杉本喜憲, 都築政起.
大シャモと白色レグホーンを用いたニワトリ QTL 解析用リソースファミリーの作成—親世代の腿肉および胸肉における pH ならびにミオグロビン含量について.
日本畜産学会第 96 回大会, 1999 年 10 月, 鹿児島
- 20) 小堤聖人, 西村敏英, 石川 明, 西堀正英, 杉本喜憲, 都築政起.
大シャモと白色レグホーンを用いたニワトリ QTL 解析用リソースファミリーの作成—親世代における腿肉中の遊離アミノ酸含量.
日本畜産学会第 96 回大会, 1999 年 10 月, 鹿児島
- 21) 小堤聖人, 西村敏英, 石川 明, 西堀正英, 杉本喜憲, 都築政起.
大シャモと白色レグホーンを用いたニワトリ QTL 解析用リソースファミリーの作成

- 親世代における胸肉中の遊離アミノ酸含量.
日本家禽学会 1999 年度秋季大会, 1999 年 10 月, 鹿児島
- 22) 喜田篤志, 石川 明, 小堤聖人, 西堀正英, 杉本喜憲, 都築政起.
QTL 解析のための大シャモと白色レグホーンとの交雑 F₂ リソースファミリーの作出
—両親および正逆 F₁ 世代における卵殻色および卵黄色の特徴.
日本家禽学会 1999 年度秋季大会, 1999 年 10 月, 鹿児島
- 23) 都築政起, 西堀正英, 山本義雄, 杉本喜憲.
大シャモと白色レグホーンを用いた、ニワトリ QTL 解析のためのリソースファミリー
の作出—親世代の卵殻色および卵黄色について—
日本畜産学会第 95 回大会, 1999 年 3 月, 東京
- 24) 都築政起, 西堀正英, 山本義雄, 杉本喜憲.
大シャモと白色レグホーンを用いた、ニワトリ QTL 解析のためのリソースファミリー
の作成—親世代における卵形質について—
日本家禽学会 1999 年度春季大会, 1999 年 3 月, 東京
- 25) 都築政起, 高橋秀彰, 西堀正英, 山本義雄, 杉本喜憲.
大シャモと白色レグホーンを用いた、ニワトリ QTL 解析のための標準家系の作出
— 親世代の体重、産卵率ならびにマイクロサテライトマーカータイプについて.
日本家禽学会 1998 年度秋季大会, 1998 年 11 月, 筑波
- 26) 都築政起, 高橋秀彰, 西堀正英, 山本義雄, 杉本喜憲.
大シャモと白色レグホーンを用いた、ニワトリ QTL 解析のための標準家系の作出
—親世代の成長形質ならびにマイクロサテライトマーカータイプについて.
第 48 回日本畜産学会関西支部大会, 1998 年 9 月, 高知
- 27) 都築政起.
ニワトリの肉質、成長、ならびに繁殖性に関与する QTL の解析.
第 1 回家禽ゲノム研究集会, 1998 年 3 月, 神戸

(3) 出版物

1) 都築政起, 2001.

マクロ染色体. *In*: 動物遺伝育種学事典 (動物遺伝育種シンポジウム組織委員会編集) 朝倉書店, 東京, p. 555.

2) 都築政起, 2001.

ミクロ染色体. *In*: 動物遺伝育種学事典 (動物遺伝育種シンポジウム組織委員会編集) 朝倉書店, 東京, p. 556.

3) 都築政起, 山本義雄, 2000.

QTL解析を経済形質 (有用形質) 遺伝子同定に利用する. *In*: 家畜ゲノム解析と新たな家畜育種戦略 (佐々木義之, 向山明孝 監修).

シュプリンガー・フェアラーク東京, 東京, pp. 321-325.

研 究 成 果

リソースファミリーの造成

要約

ニワトリにおいて QTL 解析を遂行するため、大シャモと白色レグホーンに基づく F₂ リソースファミリーを造成した。本ファミリーにおける F₂ 個体数は 2,930 であり、世界最大規模である。

緒言

1990 年代初頭まで、ニワトリ染色体上にマッピングされたマーカーは 100 に満たなかった。また、染色体の同定もなされておらず、染色体番号すら与えられていなかった。ところが、その後わずか 10 年足らずの間に、ニワトリ染色体上にマッピングされたマーカー数は約 2,000 にのぼった。また、全部で 39 対あるニワトリ染色体のうち、1 対の性染色体の他に 24 対の常染色体が同定されるに至った (Schmid *et al.*, 2000)。この進歩はひとえに、マイクロサテライト (Microsatellite, MS) DNA マーカーをはじめとする、各種 DNA マーカーが多数開発・利用されたことに起因する。

また、染色体地図上の DNA マーカーが充実したということは、家禽産業界で重要である各種経済形質を支配している遺伝子の染色体上の位置を知ること (Quantitative Trait Loci Analysis: QTL 解析) が可能になったことを意味する。経済形質を支配している遺伝子を把握することができれば、その知識・技術は、将来、家禽産業をさらに発展させるために、いろいろな方向で活用可能である。

ニワトリの染色体地図つくりに関する拠点が世界に 3 つ存在する。すなわち、イギリスの Compton、アメリカの East Lansing、およびオランダの Wageningen である。いずれも独自の基準家系 (標準家系) をもち、マーカーマッピングを精力的に遂行している (Groenen *et al.*, 2000)。一方、我が国は、研究先進国であるにもかかわらず、ニワトリ染色体地図つくりのための基準家系をかつてもったことがなかった。

本研究では、世界に互することを念頭に置きながら、DNA マーカーをマッピングするための基準家系としても、また量的形質に関する QTL 解析を行うためのリソースファミリーとしても、どちらにでも使いうる F₂ 家系を造成することを目的とした。

材料、方法、結果および考察

家系 (リソースファミリー) の出発点である親世代には、大軍鶏 (シャモ) と白色レグホーン (白レグ) を用いた。この 2 品種を用いたのは以下の理由による。1. シャモは我が国の特産鶏であるため、欧米とは異なる、特色ある家系

が造成できると予想できた。一方、白レグは多産であるため、能率良く子孫を得ることができると考えられた。2. シャモは、産卵数が少なく、性成熟も遅いが、大型で肉付きが良い。一方、白レグは産卵数が多く、性成熟も早い、小型で肉付きが良くない。すなわち、この2品種は両極端の形質を示すため、後のQTL解析に好都合であると考えられた。

1羽のシャモの雄を、3羽の白レグの雌に交配した。この様式からなる交配を、全部で3セット準備した(図1)。すなわち、全部で、3羽のシャモの雄と9羽の白レグの雌を親世代として用いた。それぞれの白レグ雌から得られたF₁を全きょうだい交配することにより、F₂世代を得た。この時、白レグの雌親毎に、F₁雄は1羽、F₁雌は6羽用いた。すなわち、F₂を生産したF₁雌は、全部で54羽であった。図中の右端に書かれている数字は、血液(DNA)サンプルを採取したF₂個体の数である。総計2,930であった。

世界の3大家系のうち、Comptonのものは白色レグホーンの2ラインに基づく戻し交配家系(56個体)、East Lansingのものは、赤色野鶏と白色レグホーンに基づくやはり戻し交配家系(52個体)である。一方、Wageningenのものは、ブローラー作成のための種鶏として、白色プリマスロックをもとに作られた2ラインに基づくF₂家系(456個体)である。家系の構成個体数が多いほどより詳細な地図作りが可能となる。本研究で作成したHiroshima家系は、2,930個体からなっており、欧米で作成された家系の個体数をはるかに凌いでいる。すなわち、Hiroshima家系を用いれば、欧米の場合よりもより詳細なマーカー連鎖地図の作製ならびにQTL解析が可能になると考えられる。また、2,930という個体数では多すぎるという場合には、500個体でも、800個体でも、1,000個体でも、その時の実状に合わせて使用すればよい。もちろん、解析個体数が多い程、正確なデータが得られることは言うまでもない。必要な場合には、いつでも、より精密な解析が出来るように、ということを念頭に、筆者はこの家系を造成した。

文献

Groenen MAM *et al.*, 2000. A consensus linkage map of the chicken genome. *Genome Res* 10: 137-147.

Schmid M *et al.*, 2000. First report on chicken genes and chromosomes 2000. *Cytogenet Cell Genet* 90: 169-218.

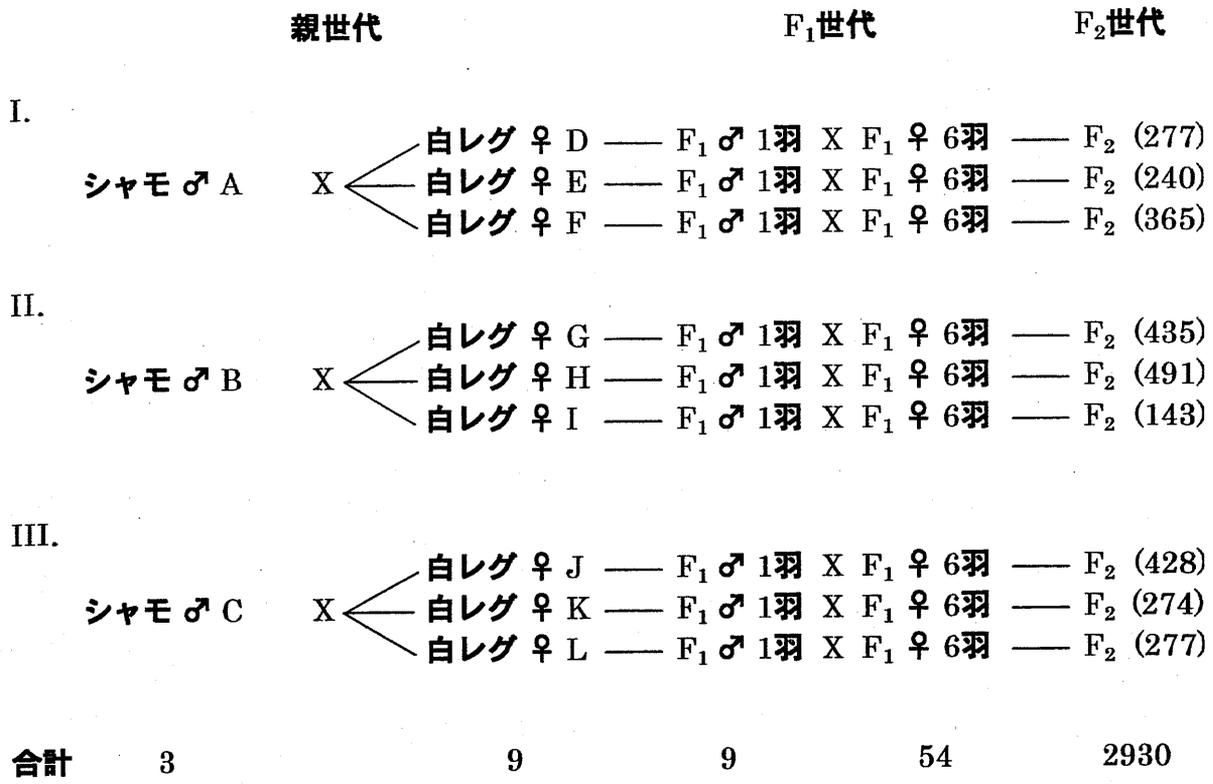


図1. ニワトリQTL解析のための、大シャモと白色レグホーンに基づくF₂家系