

広大科研

19

16380189

0100453503

ニワトリの成長・産卵・肉質を支配する
量的形質遺伝子座のゲノムマッピング

16380189

平成16年度～平成18年度科学研究費補助金

(基盤研究 (B)) 研究成果報告書

平成19年5月

広島大学図書

0100453503



研究代表者 都 築 政 起

学・大学院生物圏科学研究科 教授

<はしがき>

本研究は、ニワトリがもつ主要な3つの経済形質、すなわち、「成長関連形質」、「卵関連形質」ならびに「肉関連形質」の発現に関与している量的形質遺伝子座の染色体上の位置を明らかにすることを試みたものである。「成長関連形質」では、0～20週齢時の体重および脚長など37形質を、「卵関連形質」では、産卵率、外部的卵形質（卵重や卵殻色等）、内部的卵形質（卵黄や卵白のサイズ等）など33形質を、「肉関連形質」では、肉のpH値、肉色、肉のミオグロビン含量など29形質を対象に quantitative trait loci (QTL)解析を遂行した。

その結果、「成長関連形質」では、14、16 および 20 週齢時脚長、20 週齢時体重および 20 週齢時屠体重量に関する QTL を、「卵関連形質」では、400 日齢時産卵率、300 日齢時卵重、300 日齢時卵殻色 L*値、300 および 400 日齢時卵黄重に関する QTL を、「肉関連形質」では、モモ肉 pH 値、非破壊モモ肉色 b*値、非破壊ササミ色 b*値、ならびにササミのミオグロビン含量に関する QTL を、それぞれ significant level で検出することができた。脚長に関する QTL、各種肉関連形質に関する QTL の発見は世界初の事例であると思われる。特に、20 週齢時の脚長に関しては、significant QTL を 3 つ、suggestive QTL を 1 つ発見することができたが、これら 4 つの QTL が示した genetic variance は 98.4% に達した。すなわち、本研究において、脚長形質発現に関し major effect をもつ QTL のほぼ全てを発見し得たことになる。このような優れた結果が得られたのは、本研究で用いた資源家系が、日本の特産鶏である大シャモに基づいた、世界的にみてもユニークな家系であることに起因すると考えられる。今後、解析個体数ならびに使用 DNA マーカー数を増加させて QTL 解析を遂行することにより、さらに多くの形質についてさらに多くの QTL が高精度で検出されることが期待される。

広島大学図書

0100453503



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教授）

研究分担者： 石 川 明 （名古屋大学大学院生命農学研究科助教授）

交付決定額（配分額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 16 年度	5,500,000	0	5,500,000
平成 17 年度	5,400,000	0	5,400,000
平成 18 年度	4,700,000	0	4,700,000
総 計	15,600,000	0	15,600,000

研 究 発 表

(1) 学会誌等

Tsudzuki M, Onitsuka S, Akiyama R, Iwamizu M, Goto N, Nishibori M, Takahashi H, and Ishikawa A, 2007 (invited paper). Identification of quantitative trait loci affecting shank length, body weight and carcass weight from the Japanese cockfighting chicken breed, Oh-Shamo (Japanese Large Game). *Cytogenetics and Genome Research*: in press.

Iwamizu M, Ishikawa A, Nishibori M, Yokoyama J, Ono T, and Tsudzuki M, 2006. Quantitative trait loci affecting egg-related traits of chickens. In: *Proceedings of the XIIth AAAP Animal Science Congress* (CD version with no page number; full paper style).

(2) 口頭発表

Tsudzuki M, Uchiyama N, Iwamizu M, Nishibori M, Yamamoto Y, and Ishikawa A. QTLs affecting egg production rate in Chickens. The 29th International Conference on Animal Genetics. September 2004 (Tokyo, Japan).

Tsudzuki M (invited). QTL affecting egg production. Workshop (poultry gene mapping) in The 29th International Conference on Animal Genetics. September 2004 (Tokyo, Japan).

内山徳広, 岩水正浩, 石川 明, 西堀正英, 山本義雄, 都築政起. ニワトリの 400 日齢時産卵率に關与する QTLs. 日本家禽学会 2004 年度秋季大会, 2004 年 9 月 東広島

中原崇博, 上田和寛, 西堀正英, 都築政起. 日本鶏、外国鶏およびこれらの交雑 F₁ における体重成長の比較. 日本家禽学会 2004 年度秋季大会, 2004 年 9 月 東広島

岩水正浩, 内山徳広, 石川 明, 西堀正英, 山本義雄, 都築政起. ニワトリの 14 週齢時脚長および 300 日齢時卵重に關する QTL 解析. 第 54 回關西畜産学会, 2004 年 9 月 高松

都築政起. DAN マーカーを利用したわが国独自の原種鶏の開発—眞の鶏自給率の向上を目指して. 広島大学リエゾンフェア, 2004 年 10 月 東京

都築政起 (招待講演) ニワトリの育種改良における DNA 解析の現状と応用. 平成 16 年度種鶏孵卵衛生管理研修会, 2004 年 11 月 白河

岩水正浩, 内山徳広, 石川 明, 西堀正英, 都築政起. ニワトリの卵関連形質に關する QTL 解析. 第 55 回關西畜産学会, 2005 年 9 月 松山

山崎雅史, 岩水正浩, 石川 明, 横畑 悠, 西堀正英, 都築政起. ニワトリの肉関連形質に關する QTL 解析. 第 55 回關西畜産学会, 2005 年 9 月 松山

岩水正浩, 内山徳広, 石川 明, 西堀正英, 都築政起. ニワトリ 400 日齢時の卵関連形質に関する QTL 解析. 日本家禽学会 2005 年度秋季大会, 2005 年 11 月 熊本

都築政起, 山崎雅史, 岩水正浩, 石川 明, 西堀正英. ニワトリの脚長形質に関する QTL. 日本畜産学会第 106 回大会, 2006 年 3 月 福岡

都築政起, 西村敏英, 西堀正英. 大シャモと白色レグホーンにおける肉質の差異. 日本家禽学会 2006 年度春季大会, 2006 年 3 月 福岡

都築政起 (招待講演) ニワトリの育種改良への DNA 解析の応用～マーカーアシスト育種による新たな優良国産鶏の効率的創出をめざして. 国産鶏普及協議会第 20 回通常総会記念講演, 2006 年 6 月 東京

都築政起, 岩水正浩, 西村敏英, 西堀正英, 高橋秀彰, 石川 明. 鶏肉の pH 値および色に関する quantitative trait loci. 第 56 回関西畜産学会大会, 2006 年 8 月 堺

Iwamizu M, Ishikawa A, Nishibori M, Yokoyama J, Ono T, and Tsudzuki M. Quantitative trait loci affecting egg-related traits of chickens. The XIIth AAAP Animal Science Congress, September 2006 (Busan, Korea).

都築政起, 鬼塚慎一, 秋山 隆太郎, 岩水正浩, 後藤直樹, 西堀正英, 高橋秀彰, 石川 明. ニワトリの 20 週齢体重および屠体重に関する Quantitative Trait Loci. 日本家禽学会 2006 年度秋季大会, 2006 年 9 月 仙台

都築政起, 鬼塚慎一, 秋山 隆太郎, 岩水正浩, 後藤直樹, 西堀正英, 高橋秀彰, 石川 明. 20 週齢ニワトリの脚長、体重および屠体重量に関する量的形質遺伝子座. 第 7 回日本動物遺伝育種学会大会, 2006 年 11 月 鹿児島

(3) 出版物

なし

研究成果による工業所有権の出願・取得状況

該当なし

研 究 成 果

- Identification of Quantitative Trait Loci Affecting Shank Length, Body Weight and Carcass Weight from the Japanese Cockfighting Chicken Breed, Oh-Shamo (Japanese Large Game)
- ニワトリの「成長関連形質」に關与する量的形質遺伝子座のゲノムマッピング
- Quantitative Trait Loci Affecting Egg-Related Traits of Chickens
- ニワトリの「卵関連形質」に關与する量的形質遺伝子座のゲノムマッピング
- ニワトリの「肉関連形質」に關与する量的形質遺伝子座のゲノムマッピング

**Identification of Quantitative Trait Loci
Affecting Shank Length, Body Weight
and Carcass Weight from the Japanese
Cockfighting Chicken Breed, Oh-Shamo
(Japanese Large Game)**

Abstract. We performed a quantitative trait locus (QTL) analysis to map QTLs controlling shank length, body weight, and carcass weight in a resource family of 245 F₂ birds developed from a cross of the large-sized, native, Japanese cockfighting breed, Oh-Shamo (Japanese Large Game), and the White Leghorn breed of chickens. Interval mapping revealed three significant QTLs for shank length on chromosomes 1, 4 and 24 at the experiment-wise 5 % level, and a suggestive shank length QTL on chromosome 27 at the experiment-wise 10 % level. For body weight, two QTLs, one is significant and the other suggestive, were identified on chromosomes 4 and 24, respectively. As expected, QTLs for carcass weight, which was highly correlated with body weight ($r = 0.95$), were detected at the same chromosomal locations as the body weight QTLs detected. Interestingly, the chromosomal locations containing these body weight and carcass weight QTLs coincided with those of two of the four shank length QTLs detected. No QTL with an epistatic interaction effect was discovered for any trait. The total contribution of all detected QTLs to genetic variance was 98.4 %, 27.0 % and 25.9 % for shank length, body weight and carcass weight, respectively, indicating that most shank length QTLs have been identified but many body weight and carcass weight QTLs have been overlooked by the present analysis because of a low coverage rate of the 88 microsatellite markers used here (approximately 48% of the whole genome).

Introduction

The majority of economic traits in domestic animals exhibit quantitative variation that is controlled by many quantitative trait loci (QTLs) with relatively small effects and is modified by environment. Mapping QTLs to chromosomal regions leads to marker-assisted selection (Lande and Thompson, 1990; van der Beek and van Arendonk, 1996), which results in increasing of products and working efficiency in the field of livestock production. Although QTL mapping had been impossible for long time, development of DNA markers such as microsatellites and computer technology have made it possible to map QTLs in various kinds of experimental and industrial animals (Mackay, 2001; Barton and Keightley, 2002; Roehe et al., 2003; Andersson and Georges, 2004; Khatkar et al., 2004; Purvis and Franklin, 2005; Flint et al., 2005). In chickens, both the development of a large number of microsatellite markers and the construction of their consensus linkage map (Groenen et al., 2000; Schmid et al., 2000) allow researchers to map QTLs. Information on QTLs affecting body weight, growth, and carcass composition traits, egg quality and egg production traits, and disease susceptibility (resistance) or immune response trait has been accumulated by 2004 (summarized by Hocking, 2005). After that, growing body of literature related to chicken QTL analysis is publishing on body composition and production-related traits (Hansen et al., 2005; Honkatukia et al., 2005; Jacobsson et al., 2005; Jennen et al., 2005; Navarro et al., 2005; Schreiweis et al., 2005ab; Lagarrigue et al., 2006; McElroy et al., 2006; Park et al., 2006), disease-related traits (McElroy et al., 2005; Robie et al., 2005; Tilquin et al., 2005; Siwek et al., 2006), and behaviour traits (Schutz et al., 2004; Jensen et al., 2005). Finding of QTLs for egg-related traits and body/carcass-related traits will contribute to layer and broiler industries, respectively, through future marker-assisted selection. Detection of QTLs for feed efficiency and disease resistance will contribute to both layer and broiler industries. The utility of already found QTLs begins to be verified by performing actual marker-assisted selection (Pakdel et al., 2005).

In almost all studies for QTL mapping, F₂ or backcross resource populations were

constructed using common commercial layer and/or broiler lines (McElroy et al., 2006). In the present study, we used Oh-Shamo (Japanese Large Game) (Fig. 1) and White Leghorn breeds as parental breeds to create an F₂ resource population because the use of genetically different parental breeds is thought to result in efficient finding of distinguished QTLs. The characteristics of the two breeds are greatly different in many points from each other (Roberts, 1997; Tsudzuki, 2003). First, the origin of Oh-Shamo and White Leghorn is greatly different. Oh-Shamo is a native Japanese breed, the ancestors of which are thought to have been introduced from Thailand around the end of the 16th century or the beginning of the 17th century. In contrast, White Leghorn has its origin in Italy. Second, Oh-Shamo is originally a game bird for cockfighting with large body size (adult male, 4-7 kg; adult female, 3-5 kg). Besides the heavy body weight, this breed is characterized by erect body shape with large height (about 70-80 cm in adult males) and long legs. Accordingly, body weight and body shape are quite different between Oh-Shamo and White Leghorn. Furthermore, it is well known in Japan that the meat of Oh-Shamo is very delicious. On the contrary of the benefit in meat volume and quality, egg production rate in this breed is very low as compared with the White Leghorn breed. The phenotypic differences mentioned above strongly hold out hope that gene constitution and microsatellite marker genotypes are greatly different between the two breeds.

Shank length is an important trait for meat-type chicken industry. Moderately short shanks are desirable, as too long legs give rise to leg problems in heavy-weight chickens (Deeb and Lamont, 2002). Furthermore, shank length relates to working efficiency in processing plants (Yamamoto A, personal communication). Finding QTLs for shank length will contribute to improvement of health control for broilers in hen houses and efficient management in processing plants. Of course, it is apparent that the detection of QTLs for body weight and carcass weight is useful to improve efficiently meat-type chickens. In addition to these industrial demands, the detection of such QTLs would contribute to basic scientific fields in which the molecular mechanisms of bone and/or body growth regulation are studying.

In this article, we describe the chromosomal regions harboring QTLs for shank

length, body weight, and carcass weight that found in the unique F₂ resource population constructed from Oh-Shamo and White Leghorn breeds of chickens. To our knowledge, this is the first report treating with shank length QTLs.

Materials and methods

Animals

We mated an Oh-Shamo male (Fig. 1) to three White Leghorn females. Subsequently, we mated an F₁ male to six F₁ females in full-sib matings. A total of 245 F₂ birds were produced. Feed and water were supplied for *ad libitum* consumption. Birds were fed a starter diet (crude protein (CP) 20 %, metabolic energy (ME) 2900 Kcal/kg) up to 6 weeks of age under 24-h illumination. From the 7th to 10th week, and from the 11th to 16th week, a grower diet (CP 17 %, ME 2850 Kcal/kg) and a developer diet (CP 15 %, ME 2800 Kcal/kg) were given, respectively. After 16 weeks of age, layer diet (CP 17 %, ME 2800 Kcal/kg) was supplied. After 6 weeks of age, birds were kept in the condition of a 14-h light: 10-h dark photoperiod.

Trait measurements

At 20 weeks of age, shank length, body weight, and carcass weight were measured. For shank length, the distance from the hind corner of the hock joint to the first scale of the third (middle) toe was measured with a vernier caliper. After deep anesthesia with CO₂ gass, the blood vessels of the neck were cut and the body was suspended to bleed out. The bled-out body was steeped into hot water (60 °C) for 30 seconds and immediately plucked in an automatic wet defeathering machine. Head was removed at the boundary between the head and neck, and shanks and toes were also removed by cutting the hock joint. The trachea, esophagus, and all viscera, excepting kidney, were also removed, and carcass weight was measured. Birds used in the present study were treated according to the rules described in *Standards Relating to the Care and Management of Experimental Animals* (Prime Minister's Office, Japan, 1980) and

Guide for the Use of Experimental Animals in Universities (The Ministry of Educations, Science, Sports, and Culture, Japan, 1987).

Marker genotyping and linkage map construction

Eighty-eight microsatellite markers spanning 24 autosomes and the Z chromosome were employed, which are listed in Table 1. These markers were selected from Comprehensive Mapping Kits #1, #2, and #3 supplied by the Poultry Genome Cordinators (<http://poultry.mph.msu.edu>) and were fully informative between Oh-Shamo and White Leghorn breeds. Genomic DNA extraction and polymerase chain reaction procedure were performed as described previously (Osman et al., 2005). Marker genotyping was completed using an ABI 310 DNA sequencer and Genescan (version 2.1) and Genotyper (version 2.5) softwares (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

A marker linkage map was constructed with the computer software, Map Manager QTXb20 (Manly et al., 2001). Recombination frequencies (%) were converted into genetic distances in cM using the Kosambi map function. The total map length was 1840 cM, and average marker spacing was 29 cM. A marker coverage rate in this study was approximately 48 % of the whole genome (relative to 3800 cM, Schmid et al., 2000).

QTL analyses

Prior to QTL analyses, exploratory statistical analysis was performed with the statistical discovery software JMP version 6.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) to reduce the effects of four environmental factors (sex, birthday, sire, and dam) on shank length and two weight traits. These factors were treated as fixed effects in a linear model. The interaction of sex and dam was additionally included in the model. The fixed effects significant at the nominal 5 % level were used for data adjustment. That is, the effects of sex, birthday and dam were significant for shank length, and those of sex and dam for both body weight and carcass weight. Next, the data adjusted were subjected to the Shapiro-Wilk's W-test of JMP to test the trait distributions for normality.

The data for shank length fitted to a normal distribution ($P = 0.68$). But those for body weight and carcass weight did not fit, so they were subjected to the Box-Cox scale transformation, resulting in a distribution close to the normal ($P = 0.052$ and 0.0012 for body and carcass weights, respectively). All data were finally standardized for QTL analyses to facilitate the comparison of parameter estimates of detected QTLs between individual traits. Correlation analyses between each pair of the three traits, adjusted for sex, and the other general statistical analyses were performed with JMP.

A segregation pattern for marker genotypes was clearly different between autosomes and the Z chromosome in the F_2 mapping population used for QTL analysis. That is, two types of homozygotes and a heterozygote were segregating for autosomes, whereas for Z one type of homozygote and a heterozygote appeared in males and two types of hemizygotes in females. Hence QTL analysis below was performed for the autosomes and Z chromosome separately.

To identify QTLs with main effects on the three traits, two methods of simple interval mappings based on the maximum-likelihood method (Lander and Botstein, 1989) and multiple regression analysis (Haley and Knott, 1992) were implemented with two computer softwares, QTL Cartographer Version 1.17j (Basten et al., 2003) and Map Manager QTX, respectively. Subsequently, composite interval mapping that allows better resolution and precision of QTL location and effect (Zeng, 1993, 1994) was performed with QTL Cartographer. A forward/backward selection with an acceptance/rejection significance threshold of 1 % was used to select background cofactors for composite interval mapping, and a window size of 10 cM was adopted. The above interval mappings were performed with 2 cM steps within each interval.

Experiment-wise significance thresholds for both simple and composite interval mappings were established with 1000 permutations of QTL Cartographer, and evaluated as LOD scores by dividing the likelihood ratio statistics by 4.605. The parameter estimates of detected QTLs, such as map position, additive effect (half the difference between two homozygotes) and dominance effect (deviation of a heterozygote from the mean of the two homozygotes), were estimated with QTL Cartographer. For the Z chromosome of females, the expected additive effect was half the computed value due

to its hemizygous state. The 95 % confidence intervals of QTL locations were calculated according to Darvasi and Soller (1997).

The mode of inheritance of alleles at the QTL detected was determined by two statistical tests. First, one of additive, dominance and recessive regression models was contrasted with a no QTL model using the software Map Manager QTX. The likelihood ratio statistic obtained was tested for significance using the approximate experiment-wise 5 % threshold that was converted from that threshold for simple interval mapping as described by Knott et al. (1998). Second, if significant, that model was compared with a free model. When the difference in likelihood ratio statistic between the two models exceeded the above approximate threshold, that model was rejected. In contrast, when the difference was within the threshold, that model was accepted.

Using one-way ANOVA of the software JMP, a single point analysis was performed for six microsatellite markers that consisted of only one marker on chromosomes/linkage groups 18, 19, 24, and E50C23 and two markers on chromosome 9 not linked with each other due to a very long map distance between them (see Table 1 for details). The significance thresholds determined for simple interval mapping were adopted for significance tests after converting *P* values to LOD scores using a chi-square distribution.

To identify QTLs with epistatic interaction effects, all possible pairwise comparisons between the 84 marker loci on autosomes were performed with Map Manager QTX. The significance tests to declare significant epistatic QTLs were carried out following the method of Ishikawa et al. (2005).

The total contribution of all detected QTLs to the phenotypic variance for each trait was estimated by the multiple regression analysis of JMP. Furthermore, that contribution to genetic variance was calculated. The genetic variance was obtained at the time of calculation of broadsense heritability according to the method of Fishman et al. (2002).

Results

Table 2 shows sex-adjusted mean values for shank length, body weight, and carcass weight at 20 weeks after hatching in two parental breeds, Oh-Shamo and White Leghorn, and their F₁ and F₂ progeny. Oh-Shamo and White Leghorn had the longest and shortest shank lengths, respectively. The F₁ and F₂ showed nearly a mid-parental value for that trait. A similar tendency was observed for carcass weight. On the other hand, the mean body weight of Oh-Shamo was not significantly different from that of F₁ and their values were highest. White Leghorn had the lowest body weight. The frequency distributions of values for the three traits in the F₂ were all unimodal (data not shown), implying that those traits are under polygenic controls. In the F₂ a very high phenotypic correlation was observed between body weight and carcass weight ($r = 0.95$, $P = 1.5 \times 10^{-127}$), as expected. Shank length significantly correlated with body weight ($r = 0.67$, $P = 1.2 \times 10^{-31}$) and carcass weight ($r = 0.70$, $P = 1.2 \times 10^{-35}$).

To detect QTLs with main effects, simple interval mapping was performed on the three traits, using QTL Cartographer and Map Manager QTX which have different statistical algorithms. Furthermore, composite interval mapping was carried out with QTL Cartographer. Because the two simple interval mappings and also the composite interval mapping provided nearly the same results, only the result for the simple interval mapping using QTL Cartographer is described below. In addition, a single point analysis was performed on six markers which were not linked or only a marker on chromosomes 9, 18, 19, 24 and E50C23, using one-way ANOVA.

The experiment-wise 10 %, 5 % and 1 % significance threshold levels, determined by 1000 times of permutation and expressed as LOD scores, were not greatly different among the three traits and were estimated to be 3.0-3.1, 3.3-3.5 and 3.9-4.3, respectively.

The LOD score plots are shown in Figs. 2 to 4. The parameter estimates such as map positions and maximum LOD scores, are shown in Table 3. Highly significant or significant QTLs controlling shank length were detected on chromosomes 1, 4, and 24. Also, a suggestive QTL was identified on chromosome 27. The QTLs on chromosomes

1, 4, and 24 were found just at the positions of markers *ADL0188*, *MCW0240*, and *MCW0301*, respectively. The QTL on chromosome 27 mapped 2 cM proximal to *ADL0376*. For body weight, significant and suggestive QTLs were discovered on chromosomes 4 and 24, respectively. At the same chromosomal positions as those of the body weight QTLs, significant and suggestive QTLs affecting carcass weight were identified. The QTLs for both body weight and carcass weight had nearly the same additive and dominance effects. Furthermore, the map positions of these two QTLs were the same as those of the two shank length QTLs detected on chromosomes 4 and 24.

As shown in Table 3, individual QTLs detected accounted for 6.6-17.5 % of the phenotypic variance. At the QTLs affecting any trait on chromosomes 1 and 4, the allele derived from Oh-Shamo increased trait values, whereas it decreased them at the QTLs on chromosome 24. The Oh-Shamo allele showed the additive, dominance, or recessive mode of inheritance depending on the QTL detected. No QTL with an epistatic effect on any trait was detected in this study.

Table 4 shows the total contributions of all detected QTLs for the three traits to the phenotypic and genetic variances. The total contribution of all detected QTLs for shank length to the phenotypic variance was 36.6 %, whereas those of body weight and carcass weight were 12.6-12.9 %. However, all QTLs detected for shank length accounted for most of the genetic variance, i.e. 98.4 %, contrasting to 25.9-27.0 % for the body weight and carcass weight QTLs.

Discussion

In the present study, we detected four QTLs for shank length on chromosomes 1, 4, 24 and 27. These QTLs explained 98.4 % of the genetic variance. This high value strongly indicates that, irrespective of a low marker coverage rate of the whole genome, almost all QTLs with main effect on shank length have identified in our study although QTLs with small main and epistatic-interaction effects will be overlooked. On the other hand, for body weight and carcass weight, we detected only two main effect QTLs accounting for one fourth of the genetic variance. This means that many QTLs with

main and/or interaction effects remain undiscovered. Those QTLs are probably located on chromosomal regions we could not scan here.

Shank length

It is known that shank length and body weight show high positive correlation (Chambers, 1990). In the present study, the two traits were positively correlated with each other, meaning that heavier birds tend to have longer shanks. In such a case, if a traditional phenotypic selection method applied, it would be considerably difficult to make birds possess both high body weight and short shanks at the same time. This is because (1) the two shank length QTLs on chromosomes 4 and 24 detected in the present study were located at the same chromosomal positions as the two body weight QTLs were, and (2) the shank length QTL on chromosome 4 explained the highest phenotypic variance in the four shank length QTLs detected here. Nevertheless, a marker-assisted selection method may make it possible to create a bird with both relatively heavier body weight and shorter shanks, because it is in fact questionable whether the chromosome 4 QTL has a pleiotropic effect on the two traits as both QTLs mapped to the distal margin of that chromosome.

Schreiweis et al. (2005a) identified significant QTLs affecting tibia and humerus lengths at 35 and 55 weeks of age on chromosomes 4 and 27. Moreover, they also detected a suggestive QTL for 35 week humerus length on chromosome 1. The positions of their QTLs on chromosomes 4 and 27 are similar to those of ours. Also, the position of their QTL on chromosome 1 is relatively close to that of ours. Thus, there is a possibility that the QTLs on chromosomes 1, 4, and 27 detected by us and Schreiweis et al. (2005a) are loci that are not only particular about the length of tibia, humerus and metatarsus (shank), but also influence the length of all long bones in fore and hind limbs of chickens.

Differing somewhat from the result of Schreiweis et al. (2005a), we detected a highly significant QTL for shank length on chromosome 1 and another significant one on chromosome 24. This discrepancy may reflect the difference between the grandparental breeds used for construction of the F₂ resource families. We employed the

Oh-shamo breed unique in having extremely long shanks, while Schreiweis et al. (2005a) used common layer and broiler lines.

Carcass weight

So far, QTLs influencing carcass weight at 6-9 weeks of age have been identified on chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 13 and 27 (van Kaam et al., 1999b, de Koning et al., 2004, Navarro et al., 2005, McElroy et al., 2006). We detected two QTLs for carcass weight at 20 weeks of age on chromosomes 4 and 24. A carcass QTL on chromosome 4 was also reported by de Koning et al. (2004) and Navarro et al. (2005). In contrast, our QTL on chromosome 24, although which is a suggestive locus, is the first finding across all researches performed so far. The position of the QTL on chromosome 4 found by Navarro et al. (2005) is similar to ours, whereas that determined by de Koning et al. (2004) seems to be different from ours. We and Navarro et al. (2005) found the QTL at the region around 200 cM, whereas de Koning et al. (2004) identified the QTL around the 100 cM region.

In the present study, the positions of carcass weight QTLs were the same as those of body weight QTLs. Similar results have been observed also in other researches (van Kaam et al., 1999b; de Konning et al., 2004; McElroy et al., 2006). If these are the QTLs having a pleiotropic effect, body weight QTLs would be effectively used in marker-assisted selection for carcass weight. In QTL analysis prior to the marker-assisted selection, the measurement of body weight is further easier than that for carcass weight.

Body weight

QTLs affecting body weight at various bird ages have been reported by many researchers (van Kaam et al., 1998, 1999ab; Tatsuda et al., 2000; Tatsuda and Fujinaka, 2001; Tuiskula-Haavisto et al., 2002; Sewalem et al., 2002; Wardecka et al., 2002; Kerje et al., 2003; de Koning et al., 2004; Jennen et al., 2004, 2005; Sasaki et al., 2004; Siwek et al., 2004; Hansen et al., 2005; Jacobsson et al., 2005; Schreiweis et al., 2005ab; McElroy et al., 2006). Of these, major QTLs are commonly identified on chromosomes

1 and/or 4. For the chromosome 1 QTLs, there seem to be two major regions where they are separately located (from 70 cM to 250 cM and from 400 cM to 530 cM in the consensus map distance (Schmid et al., 2000)). In contrast, on chromosome 4, almost all body weight QTLs have been discovered at one region from 200 cM to 230 cM, with an exceptional case for de Koning et al. (2004) reporting a body weight QTL around 100-120 cM.

In addition to the number of the QTL regions each on chromosomes 1 and 4 mentioned above, there seems to be a close relationship between these chromosomes and the age of birds examined. That is, almost all QTLs detected for body weight at 20 weeks or later ages are uncovered on chromosome 4, with a few exceptional cases of Wardecka et al. (2002) and Kerje et al. (2003). The former found a QTL for 20-week body weight at the region around 450 cM on chromosome 1, and the latter detected 28-week body weight QTLs at the two regions (around 70 cM and 420 cM) on chromosome 1. On the other hand, QTLs influencing body weight at 16 weeks or earlier ages seem to distribute both on chromosomes 1 and 4. In the present study, we discovered a significant QTL for 20-week body weight on chromosome 4 and a suggestive QTL on chromosome 24. These facts may suggest the presence of age-specific body weight QTLs. QTL studies on body weight at every week from hatching to adult age will be necessary to solve this problem.

In addition to chromosomes 1 and 4, QTLs affecting body weight are discovered on many chromosomes 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 21, 23, 27, 28 and Z (for example, Sewalem et al., 2002; Kerje et al., 2003; Siwek et al., 2004; Jacobsson et al., 2005; Jennen et al., 2005; McElroy et al., 2006). In the present study we detected a suggestive body weight QTL on chromosome 24, the first finding of a QTL on that chromosome. This probably reflects the use of a unique Japanese breed, Oh-Shamo, as a grandparent for our QTL mapping population, although further confirmation studies for the QTL will be needed.

In conclusion, using the unique Japanese cockfighting breed, Oh-Shamo, we have mapped several QTLs with main effects on shank length, body weight and carcass

weight. For QTLs affecting shank length, our study is the first one. This study is the first step forward to find candidate genes for the QTLs identified. Before identification of the candidates, in practice, we will be able to contribute to some parts of layer and/or broiler industries through marker-assisted selection.

Acknowledgement

We are grateful to Drs. J. Dodgson and H.H. Cheng, Poultry Genome Coordinators and NAGRP for kind supply of Comprehensive Mapping Kits #1, #2, and #3 to us.

References

- Andersson L, Georges M: Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. *Nat Rev Genet* 5: 202-212 (2004).
- Barton NH, Keightley PD: Understanding quantitative genetic variation. *Nat Rev Genet* 3: 11-21 (2002).
- Basten CJ, Weir BS, Zeng Z-B: QTL Cartographer Version 1.17. Raleigh, North Carolina: Department of Statistics, North Carolina State University (2003).
- Chambers JR: Genetics of growth and meat production in chickens, in Crawford RD (ed): *Poultry Breeding and Genetics*, pp599-643 (Elsevier, Amsterdam 1990).
- Darvasi A, Soller M: A simple method to calculate resolving power and confidence interval of QTL map location. *Behav Genet* 27: 125-132 (1997).
- De Koning DJ, Haley CS, Windsor D, Hocking PM, Griffin H, Morris A, Vincent J, Burt DW: Segregation of QTL for production traits in commercial meat-type chickens. *Genet Res* 83: 211-220 (2004).
- Deeb N, Lamont SJ: Genetic architecture of growth and body composition in unique chicken populations. *J Hered* 93: 107-118 (2002).
- Fishman L, Kelly AJ, Willis H: Minor quantitative trait loci underlie floral traits associated with mating system divergence in *Mimulus*. *Evolution* 56: 2138-2155 (2002).
- Flint J, Valdar W, Shifman S, Mott R: Strategies for mapping and cloning quantitative trait genes in rodents. *Nat Rev Genet* 6: 271-286 (2005).
- Groenen MAM, Cheng HH, Bumstead N, Benkel BF, Briles WE, Burke T, et al: A consensus linkage map of the chicken genome. *Genome Res* 10: 137-147 (2000).
- Haley CS, Knott SA: A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity* 69: 315-324 (1992).
- Hansen C, Yi N, Zhang YM, Xu S, Gavora J, Cheng HH: Identification of QTL for production traits in chickens. *Anim Biotechnol* 16: 67-79 (2005).
- Hocking PM: Review of QTL mapping results in chickens. *World's Poult Sci J* 61: 215-226 (2005).

- Honkatukia M, Tuiskula-Haavisto M, de Koning D-J, Virta A, Maki-Tanila A, Vilkki J: A region on chicken chromosome 2 affects both egg white thinning and egg weight. *Genet Sel Evol* 37: 563-577 (2005).
- Ishikawa A, Hatada S, Nagamine Y, Namikawa T: Further mapping of quantitative trait loci for postnatal growth in an intersubspecific backcross of wild *Mus musculus castaneus* and C57BL/6J mice. *Genet Res* 85: 127-137 (2005).
- Jacobsson L, Park H-B, Wahlberg P, Fredriksson R, Perez-Enciso M, Siegel PB, Andersson L: Many QTLs with minor additive effects are associated with a large difference in growth between two selection lines in chickens. *Genet Res* 86: 115-125 (2005).
- Jennen DGJ, Vereijken ALJ, Bovenhuis H, Crooijmans RPMA, Veenendaal A, van der Poel JJ, Groenen MAM: Detection and localization of quantitative trait loci affecting fatness in broilers. *Poult Sci* 83: 295-301 (2004).
- Jennen DGJ, Vereijken ALJ, Bovenhuis H, Crooijmans RPMA, van der Poel JJ, Groenen MAM: Confirmation of quantitative trait loci affecting fatness in chickens. *Genet Sel Evol* 37: 215-228 (2005).
- Jensen P, Keeling L, Schutz K, Andersson L, Mormede P, Brandstrom H, et al: Feather pecking in chickens is genetically related to behavioural and developmental traits. *Physiol Behav* 86: 52-60 (2005).
- Kerje S, Carlborg O, Schutz K, Jacobsson L, Hartmann C, Jensen P, Andersson L: The two-fold difference in adult size between Red Junglefowl and White Leghorn chickens is largely explained by a limited number of QTL. *Anim Genet* 34: 264-274 (2003).
- Khatkar MS, Thomson PC, Tammen I, Raadsma HW: Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis. *Genet Sel Evol* 36: 163-190 (2004).
- Knott SA, Marklund L, Haley CS, Andersson K, Davies W, Ellegren H, et al: Multiple marker mapping of quantitative trait loci in a cross between outbred wild boar and Large White pigs. *Genetics* 149: 1069-1080 (1998).
- Lagarrigue S, Pitel F, Carre W, Abasht B, Le Roy P, Neau A, et al: Mapping quantitative trait loci affecting fatness and breast muscle weight in meat-type chicken lines

- divergently selected on abdominal fatness. *Genet Sel Evol* 38: 85-97 (2006).
- Lande R, Thompson R: Efficiency of marker assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124: 743-756 (1990).
- Lander ES, Botstein D: Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 184-199 (1989).
- Mackay TFC: Quantitative trait loci in *Drosophila*. *Nat Rev Genet* 2: 11-20 (2001).
- Manly KF, Cudmore Jr, RH, Meer JM: Map Manager QTX, cross-platform software for genetic mapping. *Mam Genome* 12: 930-932 (2001).
- McElroy JP, Dekkers JCM, Fulton JE, O'Sullivan NP, Soller M, Lipkin E, et al: Microsatellite markers associated with resistance to Marek's disease in commercial layer chickens. *Poult Sci* 84: 1678-1688 (2005).
- McElroy JP, Kim JJ, Harry DE, Brown SR, Dekkers JCM, Lamont SJ: Identification of trait loci affecting white meat percentage and other growth and carcass traits in commercial broiler chickens. *Poult Sci* 85: 593-605 (2006).
- Navarro P, Visscher PM, Knott SA, Burt DW, Hocking PM, Haley CS: Mapping of quantitative trait loci affecting organ weights and blood variables in a broiler layer cross. *Br Poult Sci* 46: 430-442 (2005).
- Osman SAM, Sekino M, Nishibori M, Yamamoto Y, Tsudzuki M: Genetic variability and relationships of native Japanese chickens assessed by microsatellite DNA profiling – Focusing on the breeds established in Kochi Prefecture, Japan. *Asian-Aus J Anim Sci* 18: 755-761 (2005).
- Pakdel A, Bijma P, Ducro BJ, Bovenhuis H: Selection strategies for body weight and reduced ascites susceptibility in broilers. *Poult Sci* 84: 528-535 (2005).
- Park HB, Jacobsson L, Wahlberg P, Siegeol PB, Andersson L: QTL analysis of body composition and metabolic traits in an intercross between chicken lines divergently selected for growth. *Physiol Genomics* 25: 216-223 (2006).
- Purvis IW, Franklin IR: Major genes and QTL influencing wool production and quality: a review. *Genet Sel Evol* 37 (suppl. 1): S97-S107 (2005).
- Roberts V: *British Poultry Standards* 5th ed, pp145-150 (Blackwell Science, Oxford 1997).

- Rabie TSKM, Crooijmans RPMA, Bovenhuis H, Vereijken ALJ, Veenendaal T, van der Poel JJ, et al: Genetic mapping of quantitative trait loci affecting susceptibility in chicken to develop pulmonary hypertension syndrome. *Anim Genet* 36: 468-476 (2005).
- Roehe R, Plastow GS, Knap PW: Quantitative molecular genetic determination of protein and fat deposition. *HOMO* 54/2: 119-131 (2003).
- Sasaki O, Odawara S, Takahashi H, Nirasawa K, Oyamada Y, Yamamoto R, et al: Genetic mapping of quantitative trait loci affecting body weight, egg character, and egg production in F₂ intercross chickens. *Anim Genet* 35: 188-194 (2004).
- Schmid M, Nandra I, Guttenbach M, Steinlein C, Hoehn H, Scharl M, et al: First report on chicken genes and chromosomes 2000. *Cytogenet Cell Genet* 90: 169-218 (2000).
- Schreiweis MA, Hester PY, Moody DE: Identification of quantitative trait loci associated with bone traits and body weight in an F₂ resource population of chickens. *Genet Sel Evol* 37: 677-698 (2005a).
- Schreiweis MA, Hester PY, Settar P, Moody DE: Identification of quantitative trait loci associated with egg quality, egg production, and body weight in an F₂ resource population of chickens. *Anim Genet* 37: 106-112 (2005b).
- Schutz KE, Kerje S, Jacobsson L, Forkman B, Carlborg O, Andersson L, Jensen P: Major growth QTLs in fowl are related to fearful behavior: possible genetic links between fear responses and production traits in a Red Junglefowl x White Leghorn Intercross. *Behav Genet* 34: 121-130 (2004).
- Sewalem A, Morrice DM, Law AS, Windsor D, Haley CS, Ikeobi CON, et al: Mapping of quantitative trait loci (QTL) for body weight at 3, 6, and 9 weeks of age in a broiler layer cross. *Poult Sci* 81: 1775-1781 (2002).
- Siwek M, Cornelissen SJB, Buitenhuis AJ, Nieuwland MGB, Bovenhuis H, Crooijmans RPMA, et al: Quantitative trait loci for body weight in layers differ from quantitative trait loci specific for antibody responses to sheep blood cells. *Poult Sci* 83: 853-859 (2004).
- Siwek M, Buitenhuis B, Cornelissen S, Nieuwland M, Knol EF, Crooijmans RPMA, et

- al: Detection of QTL for innate: non specific antibody levels binding LPS and LTA in two independent populations of laying hens. *Develop Comp Immunol* 30: 659-666 (2006).
- Tatsuda K, Fujinaka K: Genetic mapping of the QTL affecting body weight in chickens using an F₂ family. *Br Poult Sci* 42: 333-337 (2001).
- Tatsuda K, Fujinaka K, Yamasaki T: Genetic mapping of a body weight trait in chicken. *Anim Sci J* 71: 130-136 (2000).
- Tilquin P, Barrow PA, Marly J, Pitel F, Plisson-Petit F, Velge P, et al: A genome scan for quantitative trait loci affecting the *Salmonella* carrier-state in the chicken. *Genet Sel Evol* 37: 539-561 (2005).
- Tsudzuki M: Japanese native chickens, in Chang HL, Huang YC (eds): *The Relationship between Indigenous Animals and Humans in APEC Region*, pp 91-116 (The Chinese Society of Animal Science, Taiwan, Tainan 2003).
- Tuiskula-Haavisto M, Honkatukia M, Vilkki J, de Koning DJ, Schulman NF, Maki-Tanila A: Mapping of quantitative trait loci affecting quality and production traits in egg layers. *Poult Sci* 81: 919-927 (2002).
- Van der Beek S, van Arendonk JAM: Marker assisted selection in an outbred poultry breeding nucleus. *Anim Sci* 62: 171-180 (1996).
- Van Kaam JBCHM, Groenen MAM, Bovenhuis H, Veenendaal A, Vereijken ALJ, van Arendonk JAM: Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting growth and feed efficiency. *Poult Sci* 78: 15-23 (1999a).
- Van Kaam JBCHM, Groenen MAM, Bovenhuis H, Veenendaal A, Vereijken ALJ, van Arendonk JAM: Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting carcass traits. *Poult Sci* 78: 1091-1099 (1999b).
- Van kaam JBCHM, van Arendonk JAM, Groenen MAM, Bovenhuis H, Vereijken ALJ, Croijmans RPMA, et al: Whole genome scan for quantitative trait loci affecting body weight in chickens using three generation design. *Livestock Prod Sci* 54: 133-150 (1998).
- Wardecka B, Olszewski R, Jaszczak K, Zieba G, Pierzchala M, Wicinska K: Relationships between microsatellite marker alleles on chromosomes 1-5

originating from Rhode Island Red and Green-legged Partridge breeds and egg production and quality traits in F₂ mapping population. *J Appl Genet* 43: 319-329 (2002).

Zeng Z-B: Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping quantitative trait loci. *Proc. Natl Acad Sci USA* 90: 10972-10976 (1993).

Zeng Z-B: Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136: 1457-1468 (1994).

Figure legends

Fig. 1. An adult Oh-Shamo (Japanese Large Game) male. This breed is characterized by an erect large body and long legs with a long neck.

Fig. 2. LOD score plots of QTLs affecting shank length, body weight, and carcass weight traits on chicken chromosome 1. Simple interval mapping was carried out with the software QTL Cartographer (Basten et al., 2003). The horizontal dotted lines show the experiment-wise 5 % (upper) and 10 % (lower) levels estimated by permutation test of QTL Cartographer. The marker nearest to the peak LOD score is shown.

Fig. 3. LOD score plots of QTLs affecting shank length, body weight, and carcass weight traits on chicken chromosome 4. Simple interval mapping was carried out with the software QTL Cartographer (Basten et al., 2003). The horizontal dotted lines show the experiment-wise 5 % (upper) and 10 % (lower) levels estimated by permutation test of QTL Cartographer. The marker nearest to the peak LOD score is shown.

Fig. 4. LOD score plots of QTLs affecting shank length, body weight, and carcass weight traits on chicken chromosome 27. Simple interval mapping was carried out with the software QTL Cartographer (Basten et al., 2003). The horizontal dotted lines show the experiment-wise 5 % (upper) and 10 % (lower) levels estimated by permutation test of QTL Cartographer. The marker nearest to the peak LOD score is shown.

Table 1. The microsatellite markers genotyped in the Oh-Shamo x White Leghorn F₂ population

Marker	Chromosome or linkage group	Position (cM) ^a	Reference position (cM) ^b
<i>MCW0248</i>	1	0	-
<i>LEI0209</i>	1	31.64	-
<i>ADL0188</i>	1	92.29	133
<i>LEI0146</i>	1	116.02	169
<i>MCW0112</i>	1	153.86	205
<i>MCW0058</i>	1	175.31	241
<i>LEI0101</i>	1	188.94	259
<i>MCW0313</i>	1	242.83	270.8**
<i>LEI0088</i>	1	260.15	316
<i>LEI0198</i>	1	290.62	-
<i>MCW0036</i>	1	316.14	386
<i>MCW0283</i>	1	339.28	414
<i>LEI0106</i>	1	353.8	397.6**
<i>MCW0145</i>	1	380.71	455
<i>MCW0115</i>	1	444.57	518
<i>MCW0107</i>	1	482.57	565
<i>ADL0190</i>	2	0	-
<i>ADL0176</i>	2	48.49	116
<i>ADL0257</i>	2	88.12	159.6**
<i>MCW0062</i>	2	101.85	172
<i>LEI0096</i>	2	171.58	233
<i>MCW0027</i>	2	186.77	255
<i>LEI0237</i>	2	218.72	-
<i>LEI0070</i>	2	272.14	379
<i>LEI0104</i>	2	290.14	413.8**
<i>MCW0169</i>	3	0	31
<i>MCW0222</i>	3	62.9	87.7**
<i>ADL0229</i>	3	86.33	-
<i>ADL0280</i>	3	128.18	170
<i>MCW0252</i>	3	155.82	208.5**
<i>MCW0016</i>	3	194.37	247
<i>MCW0156</i>	3	208.37	276.8**
<i>ADL0143</i>	4	0	0
<i>ADL0317</i>	4	14.74	12
<i>MCW0295</i>	4	118.32	75
<i>MCW0005</i>	4	129.58	101
<i>ADL0266</i>	4	174.64	138
<i>LEI0094</i>	4	196.48	-
<i>MCW0240</i>	4	224.48	200.8**

Table 1. (Continued)

<i>MCW0193</i>	5	0	50
<i>MCW0214</i>	5	30.3	88
<i>MCW0029</i>	5	52.02	128
<i>ADL0166</i>	5	78.02	162
<i>LEI0092</i>	6	0	-
<i>LEI0196</i>	6	40	118.4**
<i>MCW0183</i>	7	0	86
<i>LEI0158</i>	7	24.25	119.7
<i>ADL0315</i>	7	32.2	140
<i>ADL0169</i>	7	54.2	165
<i>ADL0258</i>	8	0	23
<i>ADL0154</i>	8	14	46
<i>ADL0191</i>	9	*	44
<i>MCW0134</i>	9	*	132
<i>MCW0067</i>	10	0	59
<i>ADL0106</i>	10	23.72	-
<i>LEI0112</i>	10	45.72	107
<i>ADL0123</i>	11	0	22
<i>ADL0210</i>	11	30	54
<i>ADL0372</i>	12	0	0
<i>LEI0099</i>	12	80	62.7**
<i>ADL0147</i>	13	0	32
<i>ADL0310</i>	13	18.54	51
<i>MCW0322</i>	13	38.54	67
<i>MCW0031</i>	15	0	7
<i>MCW0080</i>	15	44	49
<i>ADL0293</i>	17	0	26
<i>MCW0330</i>	17	12	41
<i>MCW0217</i>	18	0	24
<i>MCW0094</i>	19	0	9
<i>LEI0102</i>	23	0	-
<i>ADL0262</i>	23	10.78	0
<i>MCW0165</i>	23	19.55	5.7**
<i>ADL0289</i>	23	29.55	7
<i>MCW0301</i>	24	0	48
<i>MCW0262</i>	26	0	-
<i>MCW0069</i>	26	14	-
<i>MCW0233</i>	27	0	18
<i>MCW0328</i>	27	30.1	44
<i>ADL0376</i>	27	38.1	57
<i>LEI0135</i>	28	0	0

Table 1. (Continued)

<i>ADL0284</i>	28	24	25
<i>ADL0193</i>	E47W24	0	16
<i>MCW0022</i>	E47W24	8	-
<i>GCT0004</i>	E50C23	0	40
<i>ADL0022</i>	Z	0	0
<i>ADL0273</i>	Z	37.91	73
<i>MCW0154</i>	Z	68.5	95
<i>LEI0121</i>	Z	84.5	131

^a Position on a sex average map. Distances are in Koambi cM relative to the position of the first marker on each chromosome or linkage group. *, No linkage was resulted in calculation by the software Map Manager QTXb20 (Manly et al., 2001).

^b From concensus map (Schmid et al., 2000). **, From Wageningen sex average map (ARKdb, <http://www.thearkdb.org/browser?species=chicken>). -, Unassigned or no information for position on a sex average map.

Table 2. Means \pm standard deviations (*SD*) (averaged across sex) for shank length, body weight, and carcass weight at 20 weeks of age in Oh-Shamo and White Leghorn breeds and their F₁ and F₂ birds

Trait	Group	No. of birds	Mean \pm <i>SD</i>
Shank length (mm)	Oh-Shamo	39	121.7 \pm 6.8 ^a
	White Leghorn	49	94.2 \pm 5.4 ^b
	F ₁	53	111.7 \pm 2.7 ^c
	F ₂	232	107.7 \pm 6.0 ^d
Body weight (g)	Oh-Shamo	39	1937.9 \pm 188.7 ^a
	White Leghorn	49	1171.8 \pm 150.6 ^b
	F ₁	53	1860.9 \pm 137.1 ^a
	F ₂	245	1680.7 \pm 212.2 ^c
Carcass weight (g)	Oh-Shamo	39	1372.2 \pm 140.8 ^a
	White Leghorn	49	737.6 \pm 93.0 ^b
	F ₁	53	1276.4 \pm 103.4 ^c
	F ₂	244	1137.1 \pm 157.8 ^d

^{a-d} Means with the same superscript letter are not significantly different among the groups at $P > 0.05$ in each trait (one way ANOVA followed by Tukey's HDS test).

Table 3. Summary of QTLs affecting shank length, body weight, and carcass weight detected in the Oh-Shamo × White Leghorn F₂ population

Trait	Chromosome	Map position ^a	CI ^b	LOD ^c	Var ^d	Additive ^e	Dominance ^f	Inheritance ^g	Difference ^h
Shank length	1	<i>ADL0188</i> + 0	16.7	7.4***	13.7	0.51	-0.32	Rec, Add	S > H W
	4	<i>MCW0240</i> + 0	13.1	8.8***	17.5	0.57	0.03	Add, Dom	S > H > W
	24	<i>MCW0301</i> + 0	27.5	3.7**	8.3	-0.38	-0.18	ND	W > H S
Body weight	27	<i>ADL0376</i> - 2	30.0	3.3*	7.6	0.29	0.37	ND	H S > W
	4	<i>MCW0240</i> + 0	31.4	3.6**	6.9	0.34	0.14	Add, Dom	S H > W
Carcass weight	24	<i>MCW0301</i> + 0	33.3	3.2*	6.5	-0.35	-0.08	ND	W > H S
	4	<i>MCW0240</i> + 0	29.8	3.9**	7.3	0.34	0.16	Dom, Add	S H > W
	24	<i>MCW0301</i> + 0	32.9	3.2*	6.6	-0.35	-0.11	ND	W > H S

^a The positive and negative signs indicate that the QTL maps that distance (cM) distal and proximal, respectively, to the nearest marker.

^b The 95% confidence interval (cM) calculated from the formula of Darvasi and Soller (1997).

^c The maximum LOD score significant at the genome-wide 10% (*), 5% (**), and 1% (***) levels, respectively.

^d The phenotypic variance (%) explained by the QTL.

^e The additive effect of the QTL shown in standard deviation unit. The positive sign shows that the QTL allele derived from the Oh-Shamo breed increases the trait value.

^f The dominance effect of the QTL shown in standard deviation unit.

^g The mode of inheritance of the QTL determined by two statistical tests (see text for the detailed methods). The most likely mode is shown on the left. Rec, recessive; Add, additive; Dom, dominance; ND, could not be determined by the tests.

Table 3. (Continued)

^h The phenotypic difference among three possible genotypes at the nearest marker locus, two homozygotes for either the Oh-Shamo (S) or White Leghorn (W) allele and heterozygote (H), estimated by one-way ANOVA (followed by Tukey's HSD test).

Table 4. Total contributions of all detected QTLs affecting shank length, body weight, and carcass weight to the phenotypic and genetic variances

Trait	Total number of QTLs detected	Phenotypic variance ^a	Genetic variance ^b	Broadsense heritability
Shank length	4	36.6	98.4	37.2
Body weight	2	12.6	27.0	46.7
Carcass weight	2	12.9	25.9	49.9

^a The phenotypic variance (%) explained by all detected QTLs, which was estimated by a multiple regression analysis.

^b The genetic variance (%) explained by all detected QTLs, i.e., estimated by dividing the phenotypic variance by the broadsense heritability (%).



Fig. 1

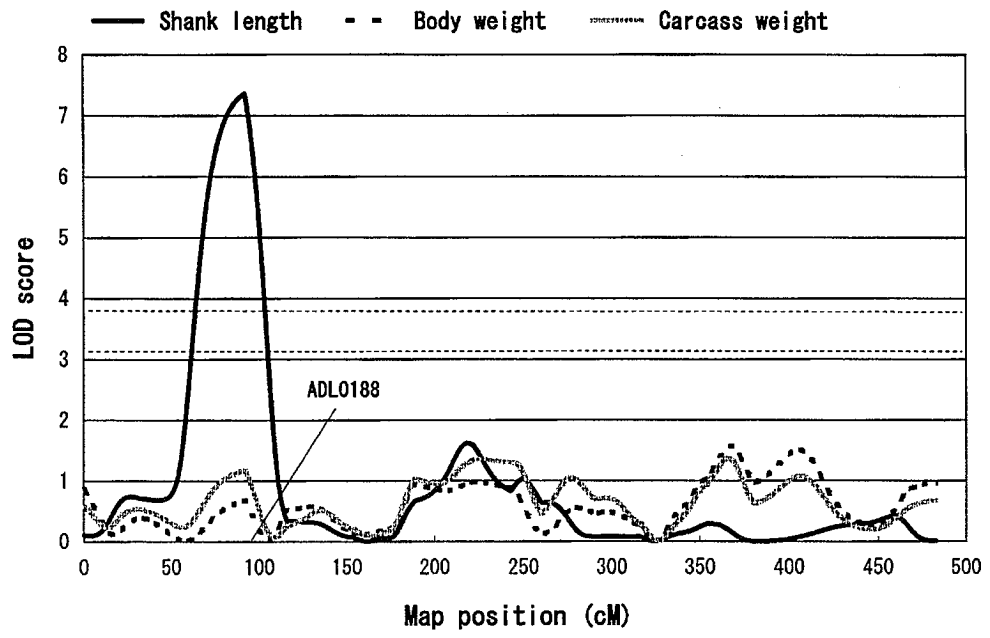


Fig. 2

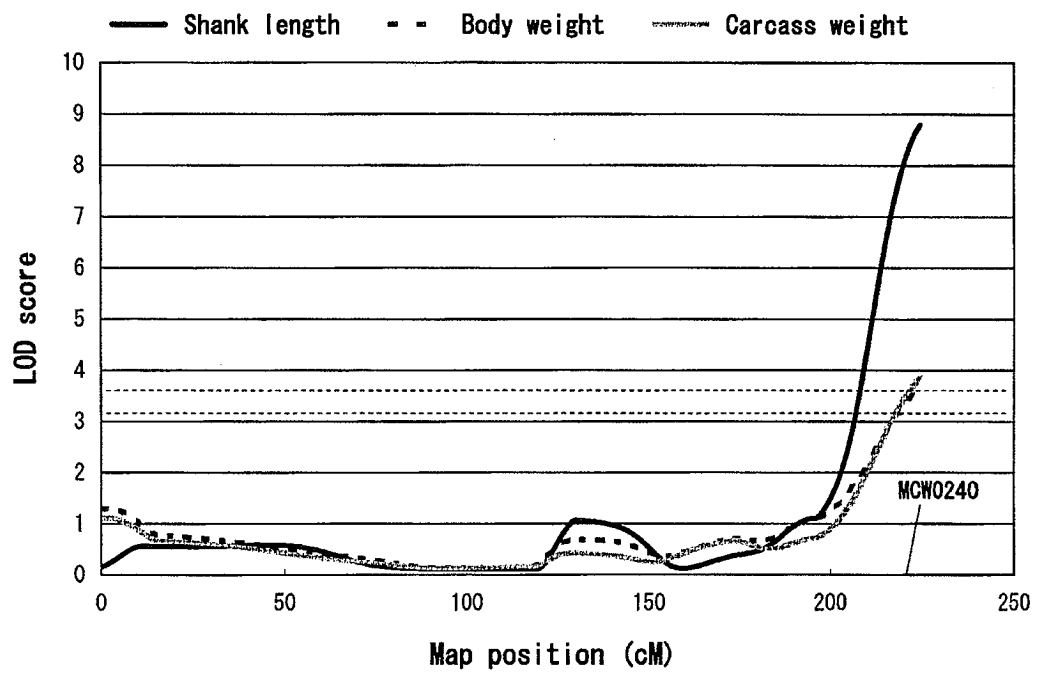


Fig. 3

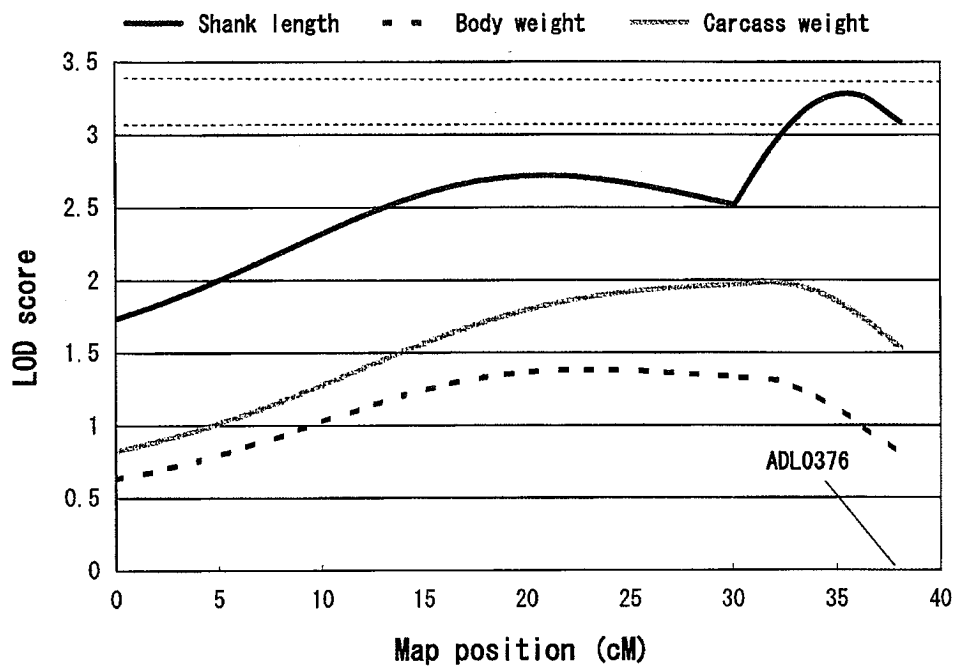


Fig. 4

ニワトリの「成長関連形質」に
関与する量的形質遺伝子座の
ゲノムマッピング

I. 緒論

遺伝形質は、質的形質と量的形質とに分けられる。前者は鶏冠の形状やヒトの ABO 式血液型のように、明瞭な群に区別できる非連続的な形質を指す。一方、イネの収量、ニワトリの産卵数、ウシの乳量などのように、計量的に測られ連続的な分布を示す形質は後者に属する。染色体上において、量的形質を支配する遺伝子座を、量的形質遺伝子座 (Quantitative Trait Locus: 以下 QTL) と呼ぶ。

畜産分野を含む農業分野において、経済的に重要な形質の多くは量的形質であり、QTL の支配を受ける。従来、QTL を染色体上にマッピングすることは困難であった。なぜなら、量的形質は複数の QTL に支配されており、また個々の QTL 間には相互作用も存在するからである。ところが近年、各種の DNA マーカーや、QTL マッピングソフトの開発に伴い、QTL の染色体上へのマッピングが可能となった。

ニワトリにおける世界初の QTL 解析結果は 1998 年に報告された (Vallejo et al., 1998; van Kaam et al., 1998)。この報告の後、2006 年 5 月までに、ニワトリの体重、屠体重、屠体成分形質、卵質等の卵生産形質、疾病感受性等の免疫応答形質など、様々な形質に関する QTL 情報が蓄積されている (Absht et al., 2006)。さらに 2007 年 1 月までに、肉生産や卵生産に関わる形質について (Rowe et al., 2006; Gao et al., 2006; Atzmon et al., 2006; Zhou et al., 2006 a b; Wright et al., 2006)、また、抗病性関連形質についての (Kim et al., 2006) QTL 解析が新たに報告された。

QTL 解析には、着目した量的形質について差異が見られる両親系統を選択し、交雑群を作成、利用する。本研究では、大シャモと白色レグホーンの交配に基づく F₂ 交雑群を用いた。大シャモは、鑑賞や闘鶏用に改良されてきた大型の日本鶏であり、肉質が美味であることから肉用鶏の改良用親品種として利用されてきた。一方、白色レグホーンは長年に渡って卵用鶏として改良されてきた品種で、小型であるが産卵率などの形質が優れている等、大シャモとは大きく異なる表現型を示す。よって、2 品種間の遺伝子型には大きな差異が期待され、QTL 解析用の交雑群作成に適していると考えられる。特に、これら 2 品種の成長形質に関する相違は顕著であり、成長形質を標的とした QTL 解析に有効である。

QTL 解析によって、QTL 近傍に存在するマーカーを発見できれば、このマーカーに着目した効率的育種を行うことが可能であるとされる。これをマーカーアシスティッドセレクション (marker-assisted selection: 以下 MAS) という。実際に、QTL 情報は MAS 遂行に際し、有効である事が示唆されている (Pakdel et al., 2005)。

本研究の最終的な目標は、この MAS を用い、既存の肉用鶏よりも優れた我が国独自のニワトリ品種を作出することである。その背景には、我が国の鶏肉の真の自給率が低いという事実がある。なぜなら、我が国の原種鶏のほとんどはオランダ等の外国資本によるものであり、種鶏・種卵の供給は輸入に頼らざるを得ないからである。ひとたび輸入相手国において鶏インフルエンザが発生すれば、輸入停止は免れ得ず、我が国の養鶏産業に大きな

打撃を与えることになる。したがって、我が国の養鶏産業を真に安定させるために、欧米の原種鶏を凌ぐ原種鶏を早急に作出する必要がある。

脚長は、ブロイラー産業において重要な成長形質である。ブロイラーは体重が大きいため、脚長の大きい個体ほど、脚に疾病が起こりやすい。よって、ブロイラーでは、より短い脚長が望ましいとされている (Deeb and Lamont, 2002)。ゆえに、脚長を支配するQTLをマッピングできれば、脚の疾病にかかりにくいブロイラーの開発が可能になると考えられる。本研究では、ニワトリの体重ならびに脚長形質を支配するQTLを染色体上にマッピングすることを目的とした。

II. 材料および方法

供試鶏

本研究では、大シャモ雄 1 個体に対して、白色レグホーン雌 3 個体の交配に基づく QTL 解析用家系をリソースファミリーとして用いた。この家系では、それぞれの交配から得られた F_1 の雌 4 個体、雄 19 個体を全きょうだい交配することにより F_2 世代が得られている(都築, 2003)。本研究では、この F_2 世代のうち、表 1 に示すように約 200 個体を用いて、以下の実験を行った。

形質データ

体重および脚長を QTL 解析の対象形質とした。雛の孵化日を 0 週齢とし、16 週齢までの 1 週間毎に測定された体重形質と脚長形質を対象とした。ここで言う脚長とは、右足の中足部の長さ、即ち、足を折り曲げた状態で頸骨と中足骨の関節部位から第 3 指の付け根部分までの長さを意味している。

上記標的形質について、大シャモ、白色レグホーン、 F_1 、 F_2 の各集団ごとに雌雄補正を行い、平均値±標準偏差を算出した。この算出には、統計ソフト JMP5.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を用いた。

また、 F_2 個体については、QTL 解析に先立ち、性、生まれ日、雌親による補正を行った。一次回帰モデルによって補正の必要性を検定し、環境効果が 5%水準で有意に高い形質について、JMP を用い補正を行った。次に、JMP を用いて、Shapiro-Wilk's W-test によって正規性の検定を行った。正規性が 5%水準で有意に低かった形質については、Box-Cox 変換を行った。

マーカーアレル型のタイピング

供試 F_2 個体の多型情報を得るために、各個体について DNA マーカーの型をタイピングした。マーカーには、The Poultry Genome Coordinators (<http://poultry.mph.msu.edu>)より提供されたマイクロサテライトマーカー・プライマーセット(Comprehensive Mapping Kits #1, #2, #3)から 88 マーカーを選出し使用した(表 2)。この 88 のマイクロサテライトマーカーは、親世代(大シャモと白色レグホーン)における多型が確認されたマーカーである。各個体のマーカーアレル型のタイピングは、次のような方法で行った。

1. ゲノム DNA の抽出

核酸抽出キット SepaGene (三光純薬株式会社)・またはフェノール法を用いて、全血からの DNA 抽出を行なった。抽出には、1 個体当たり全血 10 μ l を用いた。

2. PCR

1 サンプル当たり、下に述べる PCR 反応液 12 μ l に対し、上で得られた DNA 溶液 1 μ l を加えた。DNA 溶液は TE buffer (10 mM tris-HCl, 1 mM EDTA) により 0.012 μ g/ μ l に希釈して用いた。PCR 反応液 100 μ l 当たりの組成は、滅菌超純水 74.5 μ l, dNTP (2.0 mM) 10.0 μ l, 10 \times PCR buffer 10.0 μ l, Primer 5.0 μ l (Forward Primer と Reverse Primer を等量加え、0.5 μ M となるよう超純水で希釈)、Taq DNA ポリメラーゼ(5U/ μ M) 0.5 μ l であった。DNA ポリメラーゼには Ampli Taq GOLD™ (Applied Biosystems) を使用した。また、10 \times PCR バッファーの組成は、50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 1.5 mM MgCl₂ および 0.01 %ゼラチンであった。GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems)を用い、次の条件により MS-DNA の増幅を行った。(1)熱変性: 95 $^{\circ}$ C、10 分間、(2)熱変性: 95 $^{\circ}$ C、1 分間、(3)プライマーごとに設定した温度(50 – 55 $^{\circ}$ C)でのアニーリング反応 1 分間、(4)伸長反応 : 72 $^{\circ}$ C、1 分間 [(1)~(4)を 1 サイクルとし、これを 43 サイクル]、(5)伸長反応 : 72 $^{\circ}$ C、10 分間。

3. マーカータイピング

1 サンプルあたり、下に述べるシーケンス溶液 12.5 μ l に対し PCR 増幅産物を加え、95 $^{\circ}$ C、2 分間の条件で 2 本鎖 DNA の 1 本鎖への解離を行った。PCR 増幅産物の添加量は、増幅 DNA 量とプライマーごとの蛍光標識強度により、1~10 μ l の範囲で適宜調節した。シーケンス溶液 100 μ l 当たりの組成は、サイズスタンダード(GENESCAN-350 [TAMURA]) 0.4 μ l, ホルムアミド 100 μ l であった。シーケンサーでの電気泳動は規定のマニュアルに従った。DNA サイズの測定には Genescan ソフトウェア 3.1 (Applied Biosystems)を、それぞれのマーカーのタイピングには Genotyper ソフトウェア 2.5 (Applied Biosystems)を用いた。

マーカーのタイピング結果は、F₂ 個体それぞれが両親個体それぞれのどのアリルを受け継いでいるかを記号化して表した。常染色体上に存在するマーカーにおいては、大シャモ(祖父)のアリルのみを受け継いでいれば A、白色レグホーン(祖母)のアリルのみを受け継いでいれば B、両方のアリルを受け継いでいれば H と記号化し、解析に用いた。また、Z 染色体については、F₂ intercross type の解析を行うことができないため、backcross type 扱いとして連鎖解析を行った。すなわち、大シャモ(祖父)のアリルのみを受け継いでいれば A、白色レグホーンのアリルのみを受け継いでいれば H と記号化し、解析に用いた。

連鎖地図の作成

マーカーアリル型の判定により得られた多型情報から、マーカーの連鎖地図を作成した。本連鎖地図は、Map Manager QTX b20 (Manly et al., 2001)により、Kosambi の地図関数を利用して作成した。

QTL 解析

以上の過程より得られた各個体の量的形質値、マーカーのアリル型、マーカー連鎖地図の各情報を基に、Map Manager QTX b20 を用いて QTL 解析を行った。解析手法として、インターバルマッピング (IM) を用いた。マッピング結果の有意性を判定するための閾値は、Map Manager QTX b20 を用い、1000 回パーミュテーションテストを行い算出した。

さらに、本研究では、QTL 間の相互作用、即ちエピスタシスについても検討した。本解析にも、Map Manager QTX b20 を用いた。

Ⅲ. 結果

形質データ

大シャモ、白色レグホーン、F₁、F₂の各集団について、0～16の各週齢時における体重および脚長の平均値±標準偏差を表1に示した。双方の形質ともに、いずれの週齢においても、大シャモが白色レグホーンよりも大きな値を示した。

マーカー連鎖地図

連鎖地図の総延長は1840 cM、マーカー間の平均距離は29 cMであった。ニワトリの全ゲノムの相対的距離は約4000 cM (Wallis JW et al., 2004) であることから、本研究に使用したマーカーは、ゲノム全体のおよそ46%を占めていると考えられる。

閾値

LODスコアの閾値は、各形質での有意水準60%、5%、0.1%について、それぞれ1000回のパーミュテーションテストにより算出された。60%、5%、0.1%の有意水準における閾値を表3に示した。

QTL解析

全形質に関するQTL解析結果を表4に示した。表4には、解析を加えた34形質のうち、LOD値のピークが60%の水準を超えた形質について、その解析結果を示した。14および16週齢時の脚長に関して、LOD値のピークが5%の有意水準を上回るQTLが検出された。検出された有意なQTLについて以下に説明する。これら2形質以外には有意なQTLは検出されなかった。

<14週齢時脚長>

第4染色体の224 cM (LEI094-MCW240)の位置にLOD値が5.75を示す有意なQTLが1個検出された(図1)。additive effect、dominance effect および variance はそれぞれ、-2.83、1.20、および14%であった。

<16週齢時脚長>

また、第4染色体の224 cM (LEI094-MCW240)の位置にLOD値が4.28を示す有意なQTLが1個検出された(図2)。additive effect、dominance effect および variance はそれぞれ、-2.25、0.60、および10%であった。

<エピスタシスQTL>

本研究ではまた、上記QTLの他に、2つのエピスタシスQTLを検出した(表5)。すな

わち、第1染色体の LEI0101 の近傍と、第9染色体の MCW0134 の近傍とに、9週齢時脚長に関するエピスタシス QTL を検出した。LOD 値(total)は 8.6 であり、LOD 値(interaction)は6.0であった。また、variance (total)は21%であり、variance (interaction)は 14%であった。

IV. 考察

脚長

本研究では、第4染色体上のマーカーMCW0240の位置に、14および16週齢時の脚長を支配するQTLが検出されたが、13週齢時以前の脚長を支配しているQTLは検出されなかった。一方、Tsudzuki et al. (2007)は、20週齢時脚長を支配するQTLを第1、4および24染色体上に発見している。このうち、第4染色体上のQTLの位置は、本研究における、14および16週齢時脚長を支配しているQTLのそれと一致している。これらの事実から、脚長を支配しているQTLは、ニワトリの成長段階により異なっている可能性が考えられた。また、一部のQTLは週齢を重複して発現する可能性も考えられた。

体重

本研究では、0-16週齢時体重を支配するQTLは検出されなかった。リソースファミリー造成の親世代に用いた大シャモと白色レグホーンの間には、0および1週齢を除き、その体重値には大きな差がみられる。通常、このような場合にはQTLの検出効率は良いと考えられる。ところが、上記の事実にも関わらず、本研究では16週齢時までの体重を支配しているQTLが検出されなかった。今後、この理由を明らかにして行く必要がある。

16週齢までの個体を用いた本研究では、体重を支配している有意なQTLは検出されなかったが、Tsudzuki et al. (2007)は、本研究と同じリソースファミリーを用いたQTL解析により、20週齢時体重に関し、有意なQTLを第4染色体上に検出している。この事実から、体重に関しても、上記の脚長の場合と同様に、ニワトリの成長段階により、そこに関与しているQTLが異なっている可能性が考えられる。

エピスタシス QTL

Carlborg et al. (2003)は、ニワトリ体重についてのQTLマッピングを行い、エピスタシスQTLが成長に影響を及ぼす事を報告している。しかし、本研究では、0~16週齢のすべての体重形質について、エピスタシスQTLを検出できなかった。本研究では、エピスタシスQTLがマーカーと同じ位置にあると仮定した手法により解析を行ったが、エピスタシスQTLがマーカー近傍に存在しなかったため、これらを検出する事ができなかったと考えられる。

また、本研究では、9週齢時脚長に関する1対、合計2つのエピスタシスQTLを検出した。一方、これらのエピスタシスQTLを検出した染色体領域には、main-effect QTLは検出されなかった。従って、本研究で検出した9週齢時脚長に関与するエピスタシスQTLは、表現型に対し単独では作用しないが、交互作用を持つQTLであると考えられた。

V. 要約

本研究では、ニワトリの0-16週齢時の体重ならびに脚長形質を支配する quantitative trait loci (QTL)を染色体上にマッピングすることを目的とした。

大シャモ雄1個体と白色レグホーン雌3個体に基づくリソースファミリーから得られた、F₂世代約200個体を解析に用いた。また、マイクロサテライト(MS)-DNAをマーカーに用いた。各個体の全血から、DNAを抽出し、88個のプライマーセットを用いて、PCR法によりMS-DNAを増幅した。自動DNAシーケンサーを用いて、各座位のMS-DNAの型判定を行った後、ソフトウェアMap Manager QTXb20を用いて、QTLマッピングを行った。

QTL解析の結果、第4染色体上のマーカーMCW0240の位置に、14および16週齢時の脚長を支配するQTLを検出した。13週齢時以前の脚長を支配しているQTLは検出されなかった。また、16週齢時以前の体重を支配しているQTLも検出されなかった。同じリソースファミリーを用いた、20週齢時個体を対象とした他の研究により、上記とは異なる染色体領域に複数のQTLが発見されていること、また体重を支配しているQTLも発見されていることから、脚長および体重を支配しているQTLは、ニワトリの成長段階により異なっている可能性が考えられた。

また、本研究では、9週齢時脚長に関する1対、合計2つのエピスタシスQTLを検出した。これらのエピスタシスQTLは、表現型に対し単独では作用しないが、交互作用をもつQTLであると考えられた。

VI. 引用文献

- Abasht B, Dekkers JC, and Lamont SJ, 2006. Review of quantitative trait loci identified in the chicken. *Poult Sci* .85:2079-2096.
- Atzmon G, Ronin YI, Korol A, Yonash N, Cheng H, and Hillel J, 2006. QTLs associated with growth traits and abdominal fat weight and their interactions with gender and hatch in commercial meat-type chickens. *Anim Genet* .37:352-358.
- Carlborg O, Kerje S, Schutz K, Jacobsson L, Jensen P, and Andersson L, 2003. A global search reveals epistatic interaction between QTL for early growth in the chicken. *Genome Res*. 13:413-421.
- Chambers JR, 1990. Genetics of growth and meat production in chickens, in Crawford RD (ed):*Poultry Breeding and Genetics* ,pp599-643(Elsevier, Amsterdam)
- De Koning DJ, Haley CS, Windsor D, Hocking PM, Griffin H, Morris A, Vincent J, and Burt DW, 2004. Segregation of QTL for production traits in commercial meat-type chickens. *Genet Res*. 83:211-220.
- Deeb N, and Lamont SJ, 2002. Genetic architecture of growth and body composition in unique chicken populations. *J Hered*. 93:107-118.
- Gao Y, Hu XX, Du ZQ, Deng XM, Huang YH, Fei J, Feng JD, Liu ZL, Da Y, and Li N, 2006. A genome scan for quantitative trait loci associated with body weight at different developmental stages in chickens. *Anim Genet*. 37:276-278.
- Kim ES, Hong YH, Min W, and Lillehoj HS, 2006. Fine-mapping of coccidia-resistant quantitative trait loci in chickens. *Poult Sci*. 85:2028-2030.
- Manly KF, Cudmore RH Jr, and Meer JM, 2001. Map Manager QTX, cross-platform software for genetic mapping. *Mamm Genome*. 12:930-932.
- Pakdel A, Bijma P, Ducro BJ, and Bovenhuis H, 2005. Selection strategies for body weight and reduced ascites susceptibility in broilers. *Poult Sci*. 84:528-535.

Rowe SJ, Windsor D, Haley CS, Burt DW, Hocking PM, Griffin H, Vincent J, and De Koning DJ, 2006. QTL analysis of body weight and conformation score in commercial broiler chickens using variance component and half-sib analyses. *Anim Genet.* 37:269-272.

Rubin CJ, Brandstrom H, Wright D, Kerje S, Gunnarsson U, Schutz K, Fredriksson R, Jensen P, Andersson L, Ohlsson C, Mallmin H, Larsson S, and Kindmark A, 2006. Quantitative Trait Loci for Bone Mineral Density and Bone Strength in an Intercross between Domestic and Wild Type Chicken. *J Bone Miner Res.* 3:375-84

Schmid M, Nanda I, Guttenbach M, Steinlein C, Hoehn M, Scharl M, Haaf T, Weigend S, Fries R, Buerstedde JM, Wimmers K, Burt DW, Smith J, A'Hara S, Law A, Griffin DK, Bumstead N, Kaufman J, Thomson PA, Burke T, Groenen MA, Crooijmans RP, Vignal A, Fillon V, Morisson M, Pitel F, Tixier-Boichard M, Ladjali-Mohammedi K, Hillel J, Maki-Tanila A, Cheng HH, Delany ME, Burnside J, and Mizuno S, 2000. First report on chicken genes and chromosomes 2000. *Cytogenet Cell Genet.* 90:169-218.

Schmid M, Nanda I, Hoehn H, Scharl M, Haaf T, Buerstedde JM, Arakawa H, Caldwell RB, Weigend S, Burt DW, Smith J, Griffin DK, Masabanda JS, Groenen MA, Crooijmans RP, Vignal A, Fillon V, Morisson M, Pitel F, Vignoles M, Garrigues A, Gellin J, Rodionov AV, Galkina SA, Lukina NA, Ben-Ari G, Blum S, Hillel J, Twito T, Lavi U, David L, Feldman MW, Delany ME, Conley CA, Fowler VM, Hedges SB, Godbout R, Katyal S, Smith C, Hudson Q, Sinclair A, and Mizuno S, 2005. Second report on chicken genes and chromosomes 2005. *Cytogenet Genome Res* 109:415-479.

Schreiweis MA, Hester PY, and Moody DE, 2005. Identification of quantitative trait loci associated with bone traits and body weight in an F2 resource population of chickens. *Genet Sel Evol* 37:677-698.

都築政起, 2003. 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– 平成12-14年度科学研究費補助金 (基盤研究(B)(2)) 研究成果報告書

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*: in press.

Vallejo RL, Bacon LD, Liu HC, Witter RL, Groenen MA, Hillel J, and Cheng HH, 1998. Genetic mapping of quantitative trait loci affecting susceptibility to Marek's disease virus induced tumors in F2 intercross chickens. *Genetics* 148:349-360.

van Kaam JB, Bink MC, Maizon DO, van Arendonk JA, and Quaas RL, 2006. Bayesian reanalysis of a quantitative trait locus accounting for multiple environments by scaling in broilers. *J Anim Sci* 84:2009-2021.

van Kaam JB, van Arendonk JAM, Gronen MAM, Bovenhuis H, Vereijken ALJ, Crooijmans R.P, van der Poel JJ, Veenendaal A, 1998. Whole genome scan for quantitative trait loci affecting body weight in chickens using a three generation design. *Livestock Production Science*. 54:133-150

Wallis JW, Aerts J, Groenen MA, Crooijmans RP, Layman D, Graves TA, Scheer DE, Kremitzki C, Fedele MJ, Mudd NK, Cardenas M, Higginbotham J, Carter J, McGrane R, Gaige T, Mead K, Walker J, Albracht D, Davito J, Yang SP, Leong S, Chinwalla A, Sekhon M, Wylie K, Dodgson J, Romanov MN, Cheng H, de Jong PJ, Osoegawa K, Nefedov M, Zhang H, McPherson JD, Krzywinski M, Schein J, Hillier L, Mardis ER, Wilson RK, and Warren WC, 2004. A physical map of the chicken genome. *Nature*. 432:761-764.

Wright D, Kerje S, Lundstrom K, Babol J, Schutz K, Jensen P, and Andersson L, 2006. Quantitative trait loci analysis of egg and meat production traits in a red junglefowl x White Leghorn cross. *Anim Genet*. 37:529-534.

Zhou H, Deeb N, Evock-Clover CM, Ashwell CM, and Lamont SJ, 2006. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken. I. Growth and average daily gain. *Poult Sci*. 85:1700-1711.

Zhou H, Deeb N, Evock-Clover CM, Ashwell CM, and Lamont SJ, 2006. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken. II. Body composition *Poult Sci*. 85:1712-1721.

表 1-1. 大シャモ、白色レグホーン、F₁ならびに F₂における体重(g, 雌雄補正後の平均値±標準偏差)

週齢	大シャモ						白色レグホーン						品種(世代)		遺伝率
	N	平均値	標準偏差	N	平均値	標準偏差	N	平均値	標準偏差	N	平均値	標準偏差	F ₁	F ₂	
0	110	35.4 ± 2.4		110	33.0 ± 2.8		45	32.6 ± 1.5		68	34.8 ± 2.3		196	0.15	
1	110	56.8 ± 7.1		110	50.4 ± 5.7		45	55.5 ± 5.5		68	53.3 ± 6.8		188	0.23	
2	110	97.9 ± 15.6		110	75.2 ± 9.5		45	96.5 ± 12.1		68	74.4 ± 16.3		193	0.41	
3	110	159.7 ± 29.0		110	114.9 ± 16.6		45	161.4 ± 21.8		68	102.8 ± 27.9		193	0.34	
4	110	249.6 ± 46.3		110	172.9 ± 24.1		45	246.3 ± 34.2		68	158.8 ± 43.7		191	0.34	
5	110	366.5 ± 58.8		110	236.6 ± 29.6		45	344.2 ± 47.0		68	234.5 ± 61.7		194	0.42	
6	110	493.9 ± 71.1		110	304.1 ± 36.2		45	456.4 ± 50.8		68	319.8 ± 78.1		192	0.53	
7	110	640.1 ± 89.6		110	394.1 ± 41.8		45	592.0 ± 64.7		68	431.4 ± 91.2		190	0.45	
8	110	787.4 ± 109.5		110	490.9 ± 52.5		45	734.1 ± 71.1		68	539.8 ± 114.7		193	0.53	
9	110	942.3 ± 125.3		110	576.8 ± 59.2		45	870.1 ± 86.7		68	648.8 ± 131.2		188	0.50	
10	110	1085.4 ± 136.2		110	677.7 ± 68.4		45	992.4 ± 86.8		68	752.6 ± 166.2		194	0.65	
11	110	1200.9 ± 158.4		110	771.1 ± 83.2		45	1104.0 ± 89.4		68	864.6 ± 189.4		192	0.67	
12	110	1350.6 ± 177.2		110	858.0 ± 77.1		45	1229.8 ± 91.9		68	987.3 ± 166.9		191	0.51	
13	110	1483.5 ± 191.1		110	943.5 ± 83.0		45	1326.9 ± 91.7		68	1101.9 ± 181.9		193	0.55	
14	110	1580.5 ± 205.6		110	1022.3 ± 81.0		45	1409.7 ± 116.2		68	1213.7 ± 182.1		191	0.43	
15	110	1694.4 ± 221.6		110	1070.3 ± 81.4		45	1514.8 ± 102.2		68	1294.8 ± 198.8		196	0.52	
16	110	1798.3 ± 226.3		110	1161.2 ± 77.6		45	1572.0 ± 119.7		68	1388.7 ± 203.6		193	0.48	

Nは個体数を示す

表 1-2. 大シャモ、白色レグホーン、F₁ならびに F₂における脚長 (mm, 雌雄補正後の平均値±標準偏差)

週齡	品種(世代)											
	大シャモ		白色レグホーン		F ₁		F ₂		N		遺伝率	
	N	平均値	N	平均値	N	平均値	N	平均値	N	平均値	N	平均値
0	110	26.4 ± 0.8	110	26.0 ± 0.5	45	26.6 ± 0.6	68	26.3 ± 0.9	196	26.3 ± 0.9	196	0.54
1	110	31.1 ± 1.4	110	30.1 ± 0.9	45	30.9 ± 1.0	68	30.5 ± 1.1	188	30.5 ± 1.1	188	0.04
2	110	36.5 ± 2.9	110	33.8 ± 1.4	45	37.4 ± 1.6	68	33.8 ± 2.4	193	33.8 ± 2.4	193	0.32
3	110	44.0 ± 4.0	110	40.7 ± 1.9	45	45.5 ± 2.3	68	37.1 ± 3.8	193	37.1 ± 3.8	193	0.46
4	110	52.3 ± 4.5	110	46.7 ± 2.2	45	52.4 ± 2.5	68	42.7 ± 4.8	191	42.7 ± 4.8	191	0.58
5	110	61.1 ± 5.2	110	53.3 ± 3.0	45	60.5 ± 3.1	68	50.2 ± 5.6	194	50.2 ± 5.6	194	0.57
6	110	70.1 ± 5.2	110	59.3 ± 2.7	45	69.3 ± 3.3	68	57.5 ± 6.2	192	57.5 ± 6.2	192	0.63
7	110	78.1 ± 5.4	110	66.6 ± 2.8	45	76.7 ± 3.3	68	64.8 ± 6.1	190	64.8 ± 6.1	190	0.61
8	110	85.0 ± 6.5	110	74.0 ± 3.0	45	83.3 ± 3.4	68	71.3 ± 6.8	193	71.3 ± 6.8	193	0.60
9	110	92.3 ± 6.2	110	79.7 ± 3.1	45	89.6 ± 3.8	68	77.7 ± 7.1	188	77.7 ± 7.1	188	0.62
10	110	98.0 ± 6.6	110	85.0 ± 2.9	45	95.5 ± 3.5	68	82.2 ± 8.5	194	82.2 ± 8.5	194	0.74
11	110	103.5 ± 6.6	110	90.8 ± 3.1	45	102.7 ± 3.3	68	87.4 ± 9.3	192	87.4 ± 9.3	192	0.79
12	110	108.8 ± 6.6	110	95.0 ± 2.9	45	104.7 ± 3.0	68	92.9 ± 7.3	191	92.9 ± 7.3	191	0.67
13	110	113.3 ± 6.7	110	99.5 ± 2.8	45	108.1 ± 2.9	68	96.7 ± 7.4	193	96.7 ± 7.4	193	0.68
14	110	116.8 ± 7.1	110	102.0 ± 2.8	45	110.6 ± 2.6	68	100.2 ± 7.0	191	100.2 ± 7.0	191	0.63
15	110	120.0 ± 7.5	110	103.2 ± 2.4	45	114.5 ± 2.5	68	102.6 ± 6.9	196	102.6 ± 6.9	196	0.61
16	110	123.4 ± 7.5	110	103.6 ± 2.2	45	114.9 ± 2.4	68	104.6 ± 6.6	193	104.6 ± 6.6	193	0.59

表2. 使用したマイクロサテライト DNA マーカーとその染色体上の位置

マーカー名	染色体番号	染色体位置(cM)
MCW0248	1	0
LEI0209	1	31.64
ADL0188	1	92.29
LEI0146	1	116.02
MCW0112	1	153.86
MCW0058	1	175.31
LEI0101	1	188.94
MCW0313	1	242.83
LEI0088	1	260.15
LEI0198	1	290.62
MCW0036	1	316.14
MCW0283	1	339.28
LEI0106	1	353.8
MCW0145	1	380.71
MCW0115	1	444.57
MCW0107	1	482.57
ADL0190	2	0
ADL0176	2	48.49
ADL0257	2	88.12
MCW0062	2	101.85
LEI0096	2	171.58
MCW0027	2	186.77
LEI0237	2	218.72
LEI0070	2	272.14
LEI0104	2	290.14
MCW0169	3	0
MCW0222	3	62.9
ADL0229	3	86.33
ADL0280	3	128.18
MCW0252	3	155.82
MCW0016	3	194.37
MCW0156	3	208.37
ADL0143	4	0
ADL0317	4	14.74

表2. (続き)

<i>MCW0295</i>	4	118.32
<i>MCW0005</i>	4	129.58
<i>ADL0266</i>	4	174.64
<i>LEI0094</i>	4	196.48
<i>MCW0240</i>	4	224.48
<i>MCW0193</i>	5	0
<i>MCW0214</i>	5	30.3
<i>MCW0029</i>	5	52.02
<i>ADL0166</i>	5	78.02
<i>LEI0092</i>	6	0
<i>LEI0196</i>	6	40
<i>MCW0183</i>	7	0
<i>LEI0158</i>	7	24.25
<i>ADL0315</i>	7	32.2
<i>ADL0169</i>	7	54.2
<i>ADL0258</i>	8	0
<i>ADL0154</i>	8	14
<i>ADL0191</i>	9	*
<i>MCW0134</i>	9	*
<i>MCW0067</i>	10	0
<i>ADL0106</i>	10	23.72
<i>LEI0112</i>	10	45.72
<i>ADL0123</i>	11	0
<i>ADL0210</i>	11	30
<i>ADL0372</i>	12	0
<i>LEI0099</i>	12	80
<i>ADL0147</i>	13	0
<i>ADL0310</i>	13	18.54
<i>MCW0322</i>	13	38.54
<i>MCW0031</i>	15	0
<i>MCW0080</i>	15	44
<i>ADL0293</i>	17	0
<i>MCW0330</i>	17	12
<i>MCW0217</i>	18	0

表2. (続き)

<i>MCW0094</i>	19	0
<i>ADL0193</i>	20	0
<i>MCW0022</i>	20	8
<i>LEI0102</i>	23	0
<i>ADL0262</i>	23	10.78
<i>MCW0165</i>	23	19.55
<i>ADL0289</i>	23	29.55
<i>MCW0301</i>	24	0
<i>MCW0262</i>	26	0
<i>MCW0069</i>	26	14
<i>MCW0233</i>	27	0
<i>MCW0328</i>	27	30.1
<i>ADL0376</i>	27	38.1
<i>LEI0135</i>	28	0
<i>ADL0284</i>	28	24
<i>GCT0004</i>	E50C23	0
<i>ADL0022</i>	Z	0
<i>ADL0273</i>	Z	37.91
<i>MCW0154</i>	Z	68.5
<i>LEI0121</i>	Z	84.5

* 本研究では連鎖が確認されなかった。

表3. 各形質におけるLOD値の閾値

形質	週齢	63%有意水準	5%有意水準	0.1%有意水準
体重	0	2.2	4.3	11.1
	1	2.2	4.5	12.1
	2	2.1	4.1	8.5
	3	2.2	4.3	7.8
	4	2.2	4.1	12.9
	5	2.2	4.1	7.2
	6	2.2	4.4	14.9
	7	2.2	4.3	14.0
	8	2.1	4.3	7.1
	9	2.2	3.9	6.0
	10	2.2	4.2	7.4
	11	2.2	4.1	7.9
	12	2.2	4.3	9.5
	13	2.2	4.0	10.7
	14	2.2	4.0	10.1
	15	2.1	4.1	10.0
	16	2.2	4.2	10.3
脚長	0	2.1	4.3	7.3
	1	2.2	4.3	9.6
	2	2.2	4.1	9.0
	3	2.2	4.2	7.2
	4	2.1	3.9	8.7
	5	2.1	3.9	8.5
	6	2.2	4.6	13.4
	7	2.2	4.3	10.2
	8	2.2	4.1	7.8
	9	2.1	3.8	7.6
	10	2.2	4.5	10.3
	11	2.2	4.4	8.1
	12	2.1	4.1	10.2
	13	2.1	4.0	8.7
	14	2.1	4.3	8.8
	15	2.1	4.2	10.3
	16	2.2	4.1	15.9

Map Manager QTX b20を用いて1000回のパーミュテーションテストを行い算出した。

表 4-1. QTL 解析の結果(体重形質)

形質	染色体番号	Map position ^a	LOD ^b	Var ^c	Additive ^d	Dominance ^e
3 週齢時体重	13	ADL147 + 4	3.5	10	4.00	12.22
4 週齢時体重	13	ADL147 + 4	3.0	9	7.00	18.50
5 週齢時体重	4	ADL317 + 67	3.6	8	12.76	210.47
5 週齢時体重	13	ADL147 + 4	2.7	8	7.95	26.94
6 週齢時体重	13	ADL147 + 4	2.8	8	9.71	37.41
7 週齢時体重	28	LEI135 + 22	2.3	7	-25.78	-15.14
8 週齢時体重	13	ADL147 + 4	2.3	7	13.33	51.14
8 週齢時体重	24	MCW301+0	3.2	8	35.61	-15.15
8 週齢時体重	28	LEI135 + 22	2.2	6	-31.41	-22.38
9 週齢時体重	1	MCW313 + 2	2.3	6	-12.17	-54.36
9 週齢時体重	24	MCW301+0	3.5	9	42.79	-19.75
11 週齢時体重	24	MCW301+0	3.6	9	52.10	-22.94
13 週齢時体重	24	MCW301+0	3.2	8	56.23	-30.84
14 週齢時体重	24	MCW301+0	3.4	8	60.64	-23.37
16 週齢時体重	4	MCW240+0	2.4	6	-43.22	56.38

^aLOD 値がピークを示した染色体上の位置 (cM).

^bLOD 値のピークにおける最大値 (*5%有意水準を超えた値, **0.1%有意水準を超えた値).

^c表現型分散(%). ^d相加的効果. ^e優性偏差.

表 4-2. QTL 解析の結果(脚長形質)

形質	染色体番号	Map position ^a	LOD ^b	Var ^c	Additive ^d	Dominance ^e
3 週齢時脚長	13	ADLI47 + 4	2.3	7	0.41	1.17
7 週齢時脚長	6	LEI192 + 18	2.8	8	2.29	1.35
9 週齢時脚長	4	MCW295 - 53	2.6	6	1.67	25.14
10 週齢時脚長	4	MCW295 - 53	2.8	7	1.78	22.23
11 週齢時脚長	4	MCW240 + 0	2.6	7	-2.08	0.92
12 週齢時脚長	4	MCW240 + 0	3.3	8	-2.32	0.91
14 週齢時脚長	4	MCW240 + 0	5.8*	14	-2.83	1.2
15 週齢時脚長	1	ADLI88+0	2.3	5	-1.69	-0.71
15 週齢時脚長	4	MCW240 + 0	3.4	8	-2.1	0.18
16 週齢時脚長	1	ADLI88+0	3.2	7	-1.19	-0.3
16 週齢時脚長	4	MCW240 + 0	4.3*	10	-2.25	0.6

^aLOD 値がピークを示した染色体上の位置(cM).

^bLOD 値のピークにおける最大値 (*5%有意水準を超えた値, **0.1%有意水準を超えた値).

^c表現型分散(%). ^d相加的効果. ^e優性偏差.

表 5. 検出したエピスタシス QTL

形質	染色体番号	Map position ^a	染色体番号	Map position ^a	LOD(t) ^b	LOD(i) ^c	Var (t) ^d	Var (t) ^e
9 週齢時脚長	1	LEI0101	9	MCW0134	8.6	6.0	21	14

^aQTL の存在する (マーカーの) 位置.

^b2QTL 間の交互作用と、2QTL それぞれの作用に関する LOD 値.

^c2QTL 間の交互作用のみに関する LOD 値.

^d2QTL 間の交互作用と、2QTL それぞれの作用に関する表現型分散 (%).

^e2QTL 間の交互作用のみに関する表現型分散 (%).

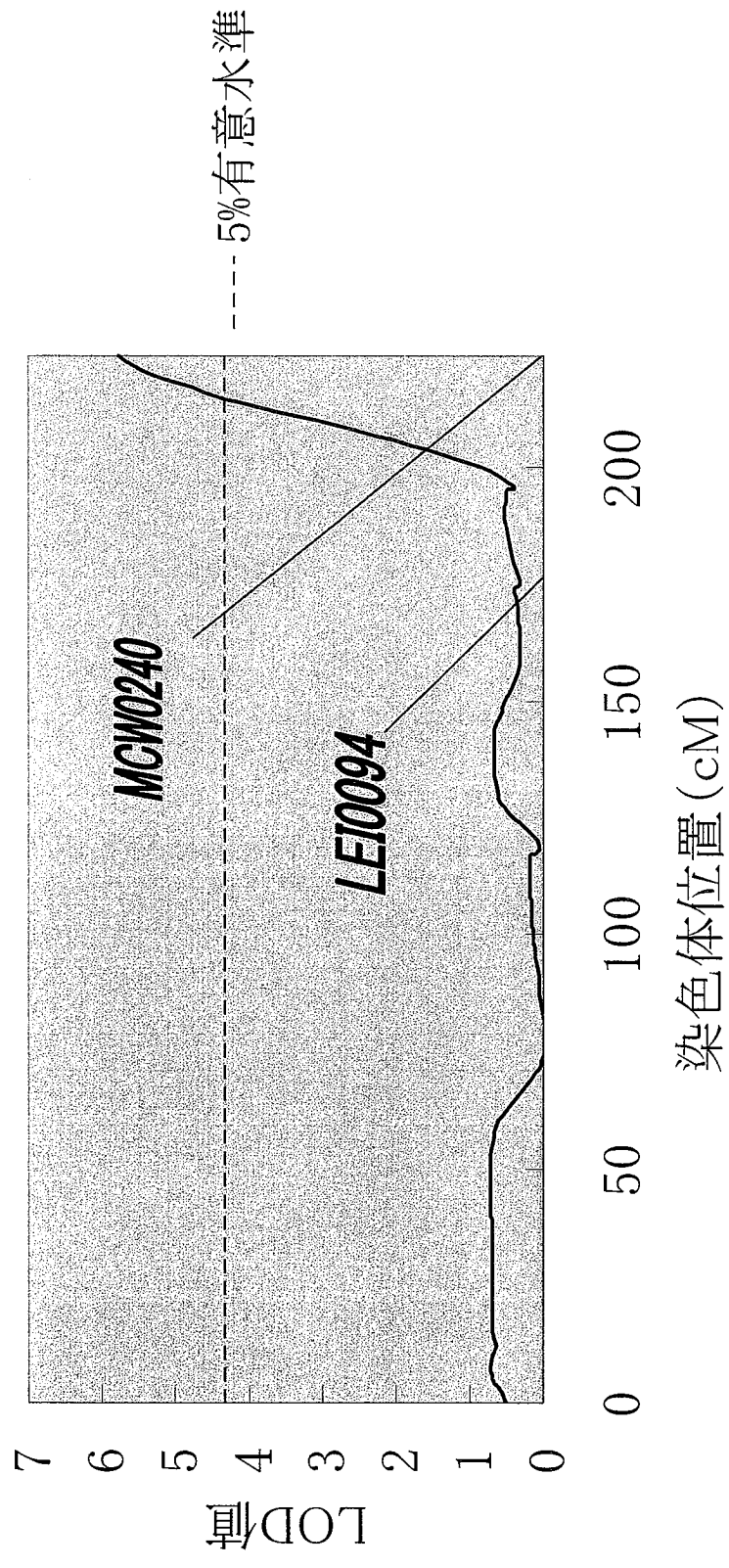


図1. 14週齡時脚長に関する第4染色体のLOD値

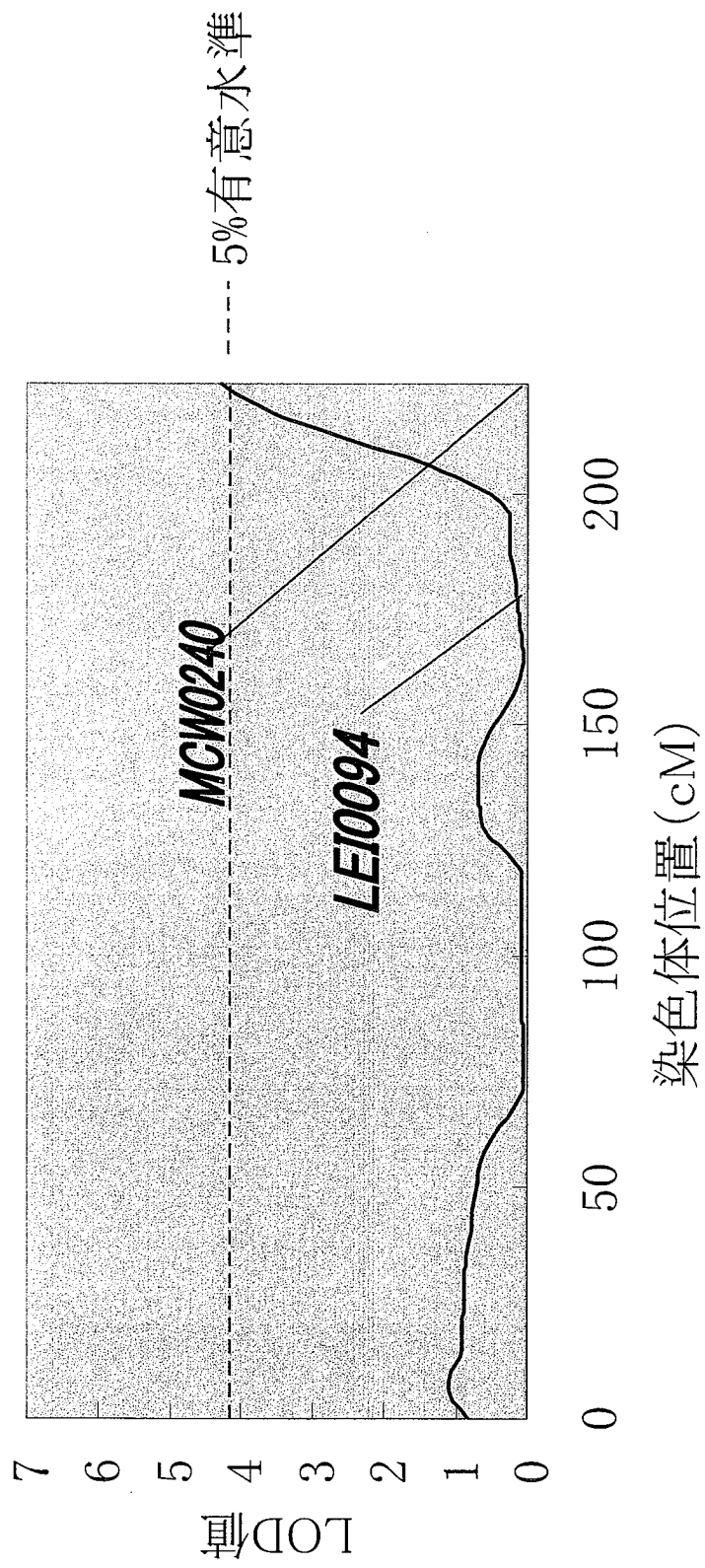


図2. 16週齢時脚長に関する第4染色体のLOD値

QUANTITATIVE TRAIT LOCI AFFECTING EGG-RELATED TRAITS OF CHICKENS

Masahiro Iwamizu,¹ Akira Ishikawa,² Masahide Nishibori,¹ Jiro Yokoyama,³ Tamao Ono,⁴ and Masaoki Tsudzuki¹

¹Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University, Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan;

²Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Nagoya 464-8601, Japan; ³Nosan Corporation R&D Center, Tsukuba 300-2615, Japan; and ⁴Faculty of Agriculture, Shinshu University, Minamiminowa, Nagano 399-4598, Japan

ABSTRACT

The Oh-Shamo (Japanese Large Game) and White Leghorn breeds of chickens differ markedly in many traits of physiological or economic importance. For example, Oh-Shamo is a native Japanese chicken with a large body size that is bred for cockfighting and has a low laying capacity. In contrast, White Leghorn has a medium-sized body and is a renowned egg layer. Identification of the genomic regions harboring quantitative trait loci (QTLs) for these traits is of interest. We have generated an F₂ resource family based on these two breeds in order to map QTLs affecting egg-related traits. Simple interval mapping with 325 F₂ birds and 102 microsatellite DNA markers revealed nine significant QTLs on chromosomes 3, 4, and 11 for five traits: egg weight at 300 days of age, egg production rate at 400 days of age, L* value of eggshell color at 300 days of age, and egg yolk weight at 300 and 400 days of age.

Key Words: Chicken, Egg, Mapping, Microsatellite DNA marker, Quantitative trait loci, Resource family

INTRODUCTION

Hereditary traits are classified into two groups: qualitative traits, most of which are controlled by a single major locus, and quantitative traits, which are controlled by multiple loci (quantitative trait loci, or QTLs), each having a small phenotypic effect. Mendel's laws were established for qualitative loci, and mapping or linkage analysis of such loci has been performed for more than a century (Bateson and Punnett, 1905). In contrast, mapping of QTLs has become possible only recently with the development of statistical analysis and computer technology together with the exploitation of microsatellite DNA markers. Many QTLs have now been described in various experimental and industrial animals (Mackay, 2001; Barton and Keightley, 2002; Andersson and Georges, 2004; Flint et al., 2005) including the chicken, in which most of the identified loci control traits related to growth or to disease resistance (Hocking, 2005).

We have now identified egg-related QTLs in an F₂ resource family based on Oh-Shamo and White Leghorn breeds of chickens. Oh-Shamo is a native Japanese chicken that is bred for cockfighting (Tsudzuki, 2003), whereas White Leghorn is bred for egg laying. In general, it is desirable for parental breeds of a resource family to be genetically distinct. Oh-Shamo and White Leghorn exhibit many phenotypic differences (such as in body weight, body shape, age at sexual maturity, egg production rate, and attack behavior), suggesting that they also differ genetically to a substantial extent.

MATERIALS AND METHODS

An Oh-Shamo male was mated with three White Leghorn females. F₂ birds were produced by full-sib matings of F₁ birds (one male with six females) from each dam. With the use of Windows QTL Cartographer 1.15 software (Basten et al., 2001), we performed simple interval mapping on 325 F₂ hens genotyped for 102 microsatellite DNA markers (95 on 19 autosomes and 7 on the Z chromosome). Some of the primers for the markers were kindly provided by H. H. Cheng (U.S. Department of Agriculture). Prior to QTL mapping, a linkage map of the 102 markers was generated with the use of Map Manager QTX b19 software (Manly et al., 2001) and the Kosambi map function (Kosambi, 1944). Genome-wide significance threshold levels were calculated on the basis of the formula of van Ooijen (1999).

In total, 29 egg-related traits were targeted for the QTL analysis in this study. These traits included weights of egg, eggshell, egg yolk, and egg white; eggshell strength, thickness, and color (L*, a*, and b* values; CIE Central Bureau, Vienna, Austria); heights and diameters of egg yolk and egg white; egg production rate; and hen age at laying of the first egg. With the exception of age at laying of the first egg, the parameters were measured at both 300 and 400 days of age.

RESULTS AND DISCUSSION

Significant [likelihood of odds for linkage (LOD) score > 4.4] or highly significant (LOD score > 5.2) QTLs were identified for five traits: egg weight at 300 days of age, egg production rate at 400 days of age, L* value of eggshell color at 300 days of age, and egg yolk weight at 300 and 400 days of age.

Egg weight at 300 days of age

A significant QTL (LOD score = 5.1) was detected between markers MCW0005 and MCW0167 on chromosome 4 at a distance of 146 cM from ADL0143, the first marker of the consensus map (Schmid et al., 2000). Honkatukia et al. (2005) found a QTL for this trait on chromosome 2, whereas Sasaki et al. (2004) and Tuiskula-Haavisto et al. (2002) each detected one on chromosome 4. The position of our QTL, however, differs from those of the latter two groups.

Egg production rate at 400 days of age (number of eggs produced between 400 and 430 days of age)

Two highly significant QTLs (LOD scores of 9.9 and 6.5) were identified on chromosomes 3 and 4, respectively. The QTL on chromosome 3 was located between markers MCW0169 and ADL0229, with the distance from MCW0169 being 38 cM. That on chromosome 4 was located between markers MCW0005 and MCW0167 at a distance of 156 cM from ADL0143. Tuiskula-Haavisto et al. (2002) detected a QTL for this trait on each of chromosomes 8 and Z.

L* value of eggshell color at 300 days of age

A significant QTL (LOD score = 4.5) was detected between markers MCW0169 and ADL0229 on chromosome 3 at a distance of 62 cM from MCW0169. Whereas we did not detect a QTL for a* and b* values of eggshell color, Sasaki et al. (2004) found a QTL for a* value on chromosome 11.

Egg yolk weight at 300 days of age

Two highly significant QTLs were detected on chromosome 4: one (LOD score = 18.6) located between markers MCW0005 and MCW0167 at a distance of 150 cM from ADL0143, and the other (LOD score = 16.2) between markers MCW0167 and ADL0266 at a distance of 236 cM from ADL0143. Another highly significant QTL (LOD score = 15.3) was detected between markers ADL0210 and MCW0066 on chromosome 11 at a distance of 32 cM from ADL0123.

Egg yolk weight at 400 days of age

Two highly significant QTLs were detected: one (LOD score = 12.9) on chromosome 4 between MCW0005 and MCW0167 at a distance of 144 cM from ADL0143, and the other (LOD score = 8.7) on chromosome 11 between ADL0210 and MCW0066 at a distance of 32 cM from ADL0123. QTLs affecting egg yolk weight have not previously been described.

Hansen et al. (2005) and Honkatukia et al. (2005) found QTLs affecting egg white thinning on chromosomes 1 and/or 2. Moreover, Sasaki et al. (2004) and Tuiskula-Haavisto et al. (2002) found a QTL for age at laying of the first egg on chromosome Z. We did not detect QTLs for these traits. The genome coverage of markers was ~56% in the present study. An increase in the number of markers used should result in an increase in the number of QTLs identified in the near future.

REFERENCES

- Andersson, L. and M. Georges. 2004. Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. *Nat. Rev. Genet.* 5:202-212.
- Barton, N. H. and P. D. Keightley. 2002. Understanding quantitative genetic variation. *Nat. Rev. Genet.* 3:11-21.
- Basten, C. J., B. S. Weir and Z.-B. Zeng. 2001. QTL Cartographer Version 1.15. Bioinformatics Research Center, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA.
- Bateson, W. and R. C. Punnett. 1905. Experimental studies in the physiology of heredity. *Rep. Evol. Comm. R. Soc.* 2:1-55.
- Flint, J., W. Valdar, S. Shifman and R. Mott. 2005. Strategies for mapping and cloning quantitative trait genes in rodents. *Nat. Rev. Genet.* 6:271-286.
- Hansen, C., N. Yi, Y. M. Zhang, S. Xu, J. Gavora and H. H. Cheng. 2005. Identification of QTL for production traits in chickens. *Anim. Biotechnol.* 16:67-79.
- Hocking, P. M. 2005. Review of QTL mapping results in chickens. *World's Poult. Sci. J.* 61:215-226.
- Honkatukia, M., M. Tuiskula-Haavisto, D. J. de Koning, A. Virta, A. Maki-Tanila and J. Vilkki. 2005. A region on chicken chromosome 2 affects both egg white thinning and egg weight. *Genet. Sel. Evol.* 37:563-577.
- Kosambi, D. D. 1944. The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugen.* 12:172-175.
- Mackay, T. F. C. 2001. Quantitative trait loci in *Drosophila*. *Nat. Rev. Genet.* 2:11-20.
- Manly, K. F., R. H. Cudmore Jr. and J. M. Meer. 2001. Map Manager QTX, cross-platform software for genetic mapping. *Mamm. Genome* 12:930-932.
- Sasaki, O., S. Odawara, H. Takahashi, K. Nirasawa, Y. Oyamada, R. Yamamoto, K. Ishii, Y. Nagamine, H. Takeda, E. Kobayashi and T. Furukawa. 2004. Genetic mapping of quantitative trait loci affecting body weight, egg character and egg production in F2 intercross chickens. *Anim. Genet.* 35:188-194.
- Schmid, M., I. Nanda, M. Guttenbach, C. Steinlein, M. Hoehn, M. Scharl, T. Haaf, S. Weigend, R. Fries, J. M. Buerstedde, K. Wimmers, D. W. Burt, J. Smith, S. A'Hara, A. Law, D. K. Griffin, N. Bumstead, J. Kaufman, P. A. Thomson, T. Burke, M. A. Groenen, R. P. Crooijmans, A. Vignal, V. Fillon, M. Morisson, F. Pitel, M.



**AAAP Animal Science Congress
2006 Korea**

- Tixier-Boichard, K. Ladjali-Mohammedi, J. Hillel, A. Maki-Tanila, H. H. Cheng, M. E. Delany, J. Burnside and S. Mizuno. 2000. First report on chicken genes and chromosomes 2000. *Cytogenet. Cell Genet.* 90:169-218.
- Tsudzuki, M. 2003. Japanese native chickens. In: *The Relationship Between Indigenous Animals and Humans in APEC Region* (Ed. H. L. Chang and Y. C. Huang). The Chinese Society of Animal Science, Taiwan. Tainan. pp. 91-116.
- Tuiskula-Haavisto, M., M. Honkatukia, J. Vikki, D. J. de Koning, N. F. Schulman and A. Maki-Tanila. 2002. Mapping of quantitative trait loci affecting quality and production traits in egg layers. *Poult. Sci.* 81:919-927.
- Van Ooijen, J. W. 1999. LOD significance thresholds for QTL analysis in experimental populations of diploid species. *Heredity* 83:613-624.

ニワトリの「卵関連形質」に
関与する量的形質遺伝子座の
ゲノムマッピング

I. 緒論

遺伝形質は、質的形質と量的形質に大きく分類される。質的形質は不連続な形質であり、量的形質は連続的な形質である。羽色が黒色、白色であるというように区分できる形質が前者であり、体重や乳量といった、量で表すことのできる形質が後者である。質的形質では、1つの形質が原則として1つの遺伝子によって支配されているが、量的形質では、1つの形質が複数の遺伝子によって支配されている。さらに、量的形質の発現においては、複数の遺伝子の支配に加えて環境の影響も関係してくるため、表現型に基づいた従来の選抜方法では、必ずしもその形質を発現させる遺伝子を持つ個体を選抜しているとは限らず (Hillel *et al.*, 1993)、かつてはその複数の遺伝子の特定も不可能であった。家畜において、泌乳量や増体量、産子数、産卵数など経済的に重要な形質の多くが量的形質に含まれ、量的形質遺伝子座(Quantitative Trait Loci : QTL)によって支配されている。より正確で効率的な家畜の選抜育種を行うためには、QTL の染色体上の位置を知る必要がある。

この目的を遂行するために、新たに開発されたのが QTL 解析法である。QTL 解析では、減数分裂時の組み換えの生じる頻度から、ある形質を支配する遺伝子とマーカーの、染色体上での位置関係の推定を行い、遺伝連鎖地図を作成する(鵜飼, 2000)。QTL 解析を遂行するためには、リソースファミリー、多型性の高いマーカーならびにマーカー連鎖地図が必要である。リソースファミリーとは、親世代、F₁ 世代、F₂ 世代もしくは戻し交雑世代の 3 世代からなる家系のことである。この家系の親世代には、その形質ができるだけ異なっている品種を選定することが望ましい。形質が異なっていれば、その形質を支配している対立遺伝子も異なっていることが推測されるからである(石川ら, 1998)。

現在では、QTL 解析は世界中で行われているが、利用されている各種マーカーのなかで、もっとも多く使われているのが、マイクロサテライト(MS)-DNA マーカーである (Beh *et al.*, 2001 ; Casas *et al.*, 2003 ; Sato *et al.*, 2003)。MS-DNA は、1 単位が数塩基対の短い配列が直列に数回から最大 100 回程度反復した DNA で、1) ゲノム中に広く散在する (Cheng and Crittenden, 1994)、2) 個体間での変異が多く多型性が高い、3) 単一座位であるため解析が用意である、4) 親から子へメンデルの法則にしたがって遺伝する、5) polymerase chain reaction (PCR) 法で容易に増幅できる、などの利点があり、遺伝マーカーとして優れている。

1980 年代以降に、MS-DNA マーカーをはじめとする各種 DNA マーカーの利用による、ゲノム全体にわたる遺伝連鎖地図が作成されるようになった。マウス、ラット、ウシ、ブタ、ニワトリなどにおいて、多くの遺伝マーカーの染色体上における位置づけがなされ、詳細な遺伝連鎖地図が作成されている (Vaughn *et al.*, 1999 ; Kirov *et al.*, 2000 ; Ihara.N *et al.*, 2004 ; Schmid M. *et al.*, 2005)。

QTL 解析を行うことにより、量的形質遺伝子座の近くに存在する DNA マーカーが発見できれば、このマーカーに着目しつつ効率的育種を行うことが可能になる (Hillel *et al.*,

1993)。これをマーカーアシステッドセレクション(marker-assisted selection: MAS)という。従来、量的形質に関する選抜育種では、表現型に基づいた独立淘汰水準法や順繰り選抜法が用いられてきたが(水間ら, 1996)、この MAS を用いることでさらに選抜効果を高めることが可能であると考えられている(Hillel *et al.*, 1993)。

本研究の最終的な目標は、この MAS を用いて、既存の卵用鶏よりも優れたニワトリ品種をわが国で作出することにある。その背景には、わが国の鶏卵の真の自給率が低いという事実がある。わが国における鶏卵の見かけ上の自給率は高い(農林水産省, <http://www.maff.go.jp/>)。しかし、卵用鶏に関し、わが国が原種鶏を十分に保有しているわけではない。そのほぼすべてが、イギリス等の外国資本によるものである。鶏インフルエンザの発生により、中国、韓国、ベトナム、日本などでニワトリの大量死、それにかかわる大量殺処分、輸出入停止が行われたが、原種鶏保有国でこのような問題が発生すれば、わが国の養鶏産業も大打撃をこうむることになる。よって、この状況から脱し、わが国の養鶏産業を真に安定させるためには、わが国独自の優良原種鶏を作出する必要があると考えられる。また、原種鶏の保有からさらに発展させ、種鶏や種卵の輸出を行える状況を作り出せば、わが国の畜産業界の更なる発展につながる。

ニワトリにおける現在までの QTL 解析の具体的な報告例としては、成長および代謝関連形質(van Kaam J.B. *et al.*, 1999; Deng *et al.*, 2001; Tatsuda *et al.*, 2001; Sewalem *et al.*, 2002; Carlborg *et al.*, 2003; Deeb and Lamont, 2003; Carlborg *et al.*, 2004; De Koning *et al.*, 2004; Siwek *et al.*, 2004; Jacobsson *et al.*, 2005; Schreiweis *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2006)、肉質関連形質(Van Kaan *et al.*, 1999; Ikeobi *et al.*, 2002; de Koning *et al.*, 2003; Jennen *et al.*, 2005)、サルモネラ菌耐性を始めとする各種疾病抵抗性および免疫応答に関する形質(Vallejo *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1998; Yonash *et al.*, 1999; Yonash *et al.*, 2001; Kaiser *et al.*, 2002; Siwek *et al.*, 2003a; Siwek *et al.*, 2003b; Zhou *et al.*, 2003; Zhu *et al.*, 2003; Pakdel *et al.*, 2005; Rabie *et al.*, 2005; Siwek *et al.*, 2005; Tilquin *et al.*, 2005)、ならびに羽つきなどに対するストレス反応および恐怖行動に関する形質(Buitenhuis *et al.*, 2003; Buitenhuis A.J. *et al.*, 2004; Schutz *et al.*, 2004; Jensen P. *et al.*, 2005)に関するものがある。また、卵関連形質に関する QTL 解析の報告も複数存在する(Schutz *et al.*, 2002; Tuiskula-Haavisto *et al.*, 2002, 2004; Wardecka *et al.*, 2002; Kerje *et al.*, 2003; Sasaki *et al.*, 2004; Hansen *et al.*, 2005; Honkatukia *et al.*, 2005)。

本研究では、将来わが国において MAS を行うための基礎として、わが国独自のリソースファミリーを用いて、卵関連形質を支配している QTL を明らかにすることを目的とした。

II. 材料および方法

リソースファミリーとして、大シャモ雄 1 個体に対して、白色レグホーン雌 3 個体の交配に基づく家系を用いた。この家系では、それぞれの交配から得られた F₁ の雌雄を全きょうだい交配することにより F₂ 世代が得られている(都築, 2003)。QTL 解析には F₂ 世代 325 個体を用いた。また、DNA マーカーには、アメリカ農務省(USDA)の H. Cheng 博士からプライマーセットの提供を受けたマイクロサテライト(MS) DNA マーカーのうち、これまでの研究(都築, 2003)により、家系の両親品種間でアレルが異なっていることが判明しているものを選抜し、既に公表されている MS-DNA マーカーの連鎖地図(Schmid *et al.*, 2005) から、各マーカー間が可能な限り等距離になるように選定した 102 個を用いた(表 1)。本研究に使用した MS マーカーの染色体上での分布を表 2 に示した。

大シャモは、鑑賞や闘鶏用に改良されてきた大型の日本鶏であり、肉質が美味であることから肉用鶏の改良用親品種として利用されている。一方、白色レグホーンは、長年に渡って卵用鶏として改良されてきた品種で、小型であるが産卵率などの形質が優れているなど、大シャモとは大きな相違点がある。よって、これら 2 品種間には遺伝子型にも大きな差異が存在することが期待され、QTL 解析用家系として有用であると考えられることから、この 2 品種に基づく家系を本研究に用いた。

各個体の全血より、DNA を抽出し、PCR 法により MS-DNA の増幅を行った。MS-DNA のタイピングは自動 DNA シークエンサー(ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer, Applied Biosystems)を用いて行った。タイピング結果と、卵関連形質データに基づき、QTL 解析を行った。詳細を以下に述べる。

1. ゲノム DNA の抽出

核酸抽出キット SepaGene (三光純薬株式会社)を用いて、全血からの DNA 抽出を行なった。抽出には、1 個体当たり全血 10 μ l を用いた。

2. PCR

1 サンプル当たり、下に述べる PCR 反応液 12 μ l に対し、上で得られた DNA 溶液 1 μ l を加えた。DNA 溶液は TE buffer (10 mM tris-HCl, 1 mM EDTA)により 0.012 μ g/ μ l に希釈して用いた。PCR 反応液 100 μ l 当たりの組成は、滅菌超純水 74.5 μ l、dNTP (2.0 mM) 10.0 μ l、10 \times PCR buffer 10.0 μ l、Primer 5.0 μ l (Forward Primer と Reverse Primer を等量加え、0.5 μ M となるよう超純水で希釈)、Taq DNA ポリメラーゼ(5U/ μ M) 0.5 μ l であった。DNA ポリメラーゼには Ampli Taq GOLD™ (Applied Biosystems)を使用した。また、10 \times PCR バッファの組成は、50 mM KCl、10 mM Tris-HCl (pH 8.3)、1.5 mM MgCl₂ および 0.01 %ゼラチンであった。GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems)を用い、次の条件により MS-DNA の増幅を行った。

(1)熱変性: 95 °C、10 分間、(2)熱変性 : 95 °C、1 分間、(3)プライマーごとに設定した温度(50 – 55 °C)でのアニーリング反応 1 分間、(4)伸長反応 : 72 °C、1 分間 [(1)~(4)を 1 サイクルとし、これを 43 サイクル]、(5)伸長反応 : 72 °C、10 分間。

3. マーカータイピング

1 サンプルあたり、下に述べるシーケンス溶液 12.5 μ l に対し PCR 増幅産物を加え、95 °C、2 分間の条件で 2 本鎖 DNA の 1 本鎖への解離を行った。PCR 増幅産物の添加量は、増幅 DNA 量とプライマーごとの蛍光標識強度により、1~10 μ l の範囲で適宜調節した。シーケンス溶液 100 μ l 当たりの組成は、サイズスタンダード(GENESCAN-350 [TAMURA]) 0.4 μ l、ホルムアミド 100 μ l であった。シーケンサーでの電気泳動は規定のマニュアルに従った。DNA サイズの測定には Genescan ソフトウェア 3.1 (Applied Biosystems)を、それぞれのマーカーのタイピングには Genotyper ソフトウェア 2.5 (Applied Biosystems)を用いた。

4. 量的形質

蔵場(2001)および喜田(2001)によって調べられた初産日齢、卵重、産卵率、卵殻強度、卵黄高、卵白高、濃厚卵白サイズ、卵黄直径、卵殻厚 (鋭端・鈍端・中央部)、卵殻重、卵殻色 (L^* , a^* , b^* 値)、卵黄重、卵白重 (初産日齢以外の形質については、300 日および 400 日齢時において測定) を、QTL 解析の標的形質として選定した。標的形質一覧を表 3 に示した。QTL 解析に先立ち、これらの測定値に対しソフトウェア JMP 5.0.1a (株式会社 SAS インスティテュートジャパン, 東京) を用いて、孵化日による補正を行った。

5. QTL 解析

QTL 解析に先立ち、Map Manager QTX b19 (Manly *et al.*, 2001, <http://mapmgr.roswellpark.org/mmQTX.html>)により、コサンビの地図関数に基づいて、用いたマーカーの連鎖地図を作成した。続く QTL 解析では QTL Cartographer ([Http://statgen.ncsu.edu/pub/qtldcart/](http://statgen.ncsu.edu/pub/qtldcart/))を用いて interval mapping を行った。Mapping 結果を判定するための有意差の閾値は Van Ooijen(1999)の計算式に基づいて算出した。算出結果は、suggestive level (10%水準) 4.2、significant level (5%水準) 4.4、ならびに highly significant level (1%水準) 5.2 であった。

本ソフトの使用に先立ち、用いた MS マーカー102 個について、F₂ 世代 325 個体のタイピング結果に基づいて、F₂ 個体それぞれが両親個体それぞれのどのアレルを受け継いでいるかを調べ、記号化した。常染色体上に存在するマーカーにおいては、大シャモ (雄親) のアレルのみを受け継いでいれば A、白色レグホーン (雌親) のアレルのみを受け継いでいれば B、両方のアレルを受け継いでいれば H と表した。また、連鎖解析に際し、Z 染色体については、F₂ intercross type の解析を行うことができないので、backcross type 扱いと

して連鎖解析を行った。すなわち、大シャモ（雄親）のアリルのみを受け継いでいればA、白色レグホーンのアリルのみを受け継いでいればHと記号化して解析を行った。

Ⅲ. 結果

表 4 に全形質に関する QTL 解析結果をまとめた。解析を加えた、33 形質のうち、suggestive level 以上の QTL が検出できた形質に関し、その解析結果を以下に示す。

1. 300 日齢時卵重

第 4 染色体の 146 cM (MCW005-MCW167) の位置に LOD score 値が 5.14 を示す significant QTL が 1 個検出された (図 1)。additive effect、dominance effect および variance explained はそれぞれ、-5.205、5.62 および 54 %であった。

2. 400 日齢時産卵率

第 3 染色体の 38 cM (MCW169-ADL229) の位置に LOD score 値が 9.9 を示す highly significant QTL を 1 個 (図 2)、第 4 染色体の 156 cM (MCW005-MCW167) の位置に LOD score 値が 6.55 を示す highly significant QTL を 1 個 (図 3) 検出した。このうち、第 3 染色体のものは、additive effect、dominance effect および variance explained がそれぞれ、0.148、0.4 および 84%であり、第 4 染色体のもののはそれぞれ、-0.04、0.425 および 71 %であった。

3. 300 日齢時卵殻 L*値

第 3 染色体の 62 cM (MCW169-ADL229) の位置に LOD score 値が 4.52 を示す significant QTL が 1 個 (図 4) 検出された。その、additive effect、dominance effect および variance explained はそれぞれ、0.769、-0.668 および 15 %であった。

4. 卵黄重

1) 300 日齢時卵黄重

第 4 染色体の 150.31 cM (MCW005-MCW167) の位置に LOD score 値が 18.67 を示す highly significant QTL が 1 個 (図 5)、236.09 cM (MCW167-ADL266) の位置に LOD score 値が 16.25 を示す highly significant QTL が 1 個 (図 5) 検出された。このうち、前者の additive effect、dominance effect および variance explained はそれぞれ、2.64、2.511 および 70 %であり、後者の additive effect、dominance effect、variance explained はそれぞれ、2.818、2.188 および 72 %であった。また、第 11 染色体の 32.01 cM (ADL210-MCW066) の位置に LOD score 値が 15.38 を示す highly significant QTL が 1 個検出された (図 6)。その、additive effect、dominance effect および variance explained はそれぞれ、-2.689、2.468 および 70 %であった。

2) 400 日齢時卵黄重

第4染色体の144 cM (MCW005-MCW167)の位置にLOD score 値が12.99を示す highly significant QTLが1個(図7)、第11染色体の32 cM (ADL210-MCW066)の位置にLOD score 値が8.75を示す highly significant QTLが1個(図8)検出された。これらのうち、第4染色体のものは、additive effect、dominance effect および variance explained がそれぞれ、-3.001、3.166 および67%であり、第11染色体のものではそれぞれ、-3.11、2.903 および66%であった。

IV. 考察

1. 300 日齢時卵重

卵重形質の分散は他のすべての調査形質の場合よりも大きく、300 日齢時卵重形質の度数分布表では 2 つのピークが確認されている (蔵場, 2001)。このことから、卵重形質発現に際し、強く働く比較的少数の QTL が存在している可能性が考えられる。本研究では、第 4 染色体の 146 cM (MCW005-MCW167) の位置に LOD score 値が 5.14 を示す significant QTL が 1 個検出された (図 1)。additive effect、dominance effect はそれぞれ、-5.205、5.62 で、variance explained は 54% と高い値を示しており、強く働く少数の QTL のひとつであると考えられる。また、Tuiskula-Haavisto (2002) の報告では、第 4 染色体の 173-230 cM (ADL266-MCW099) の位置に 41 週齢時から 60 週齢時の卵重に関する significant QTL が検出されている。本研究と異なる位置に QTL が検出されているが、これはリソースファミリーが異なることに起因するものであると考えられる。

本解析では 400 日齢時卵重に関与する、QTL の存在は確認されなかった。300 日齢時卵重に関与する QTL と 400 日齢時卵重に関与する QTL が同一のものであれば、共に等しい位置に LOD score のピークが確認されるはずである。この事実から、400 日齢時卵重形質と 300 日齢時卵重形質の発現に際しては、異なった QTL が働いている可能性が考えられる。

2. 400 日齢時産卵率

第 3 染色体の 38 cM (MCW169-ADL229) の位置に LOD score 値が 9.9 を示す highly significant QTL を 1 個 (図 2)、第 4 染色体の 156 cM (MCW005-MCW167) の位置に LOD score 値が 6.55 を示す highly significant QTL を 1 個 (図 3) 検出した。これらの値は、1% 水準での LOD score の有意差判定基準である 5.2 を大きく超えていることから、400 日齢時産卵率を支配する QTL が、これらの染色体に存在する可能性は極めて高いと考えられる。しかし、QTL 近傍の 2 マーカー間の距離は、第 3 染色体で 81.5 cM (MCW169-ADL229)、第 4 染色体で 95.8 cM (MCW005-MCW167) と大きかった。今後、これらのマーカーの間に存在する多くのマーカーを用いて解析を進めることで、QTL の染色体上での位置をさらに詳細に決定できると考えられる。

一方、300 日齢時産卵率に関して、LOD score のピークは確認されなかった。400 日齢時卵重の考察でも述べたが、300 日齢時産卵率と 400 日齢時産卵率に影響する QTL が同一のものであれば、同じ位置に QTL が検出されるはずである。このことから、300 日齢時産卵率と 400 日齢時産卵率を支配している QTL は異なっている可能性が考えられる。

400 日齢時産卵率の遺伝率は 0.12 と低く、環境による影響が大であると考えられた (蔵場, 2001)。しかし、本形質に関与する highly significant QTL が検出されたことから、環境の影響が大きい (遺伝率が低い) 量的形質においても QTL 解析は有効であると考えられる。

3. 300 日齡時卵殻 L*値

第 3 染色体の 62 cM (MCW169-ADL229) の位置に LOD score 値が 4.52 を示す significant QTL が 1 個 (図 4) 検出された。additive effect、dominance effect および variance explained はそれぞれ、0.769、-0.668 および 15%であった。Sasaki ら (2004) の報告では、第 6 染色体と第 11 染色体上に、L*値に関する suggestive QTL が検出されていることから、異なった家系を用いることで、より多くの QTL を検出できると考えられる。また、褐色卵の卵殻色における主要な成分はプロトポルフィリンであることから(Helbacka and Swanson, 1958)、これらの QTL は直接的には、プロトポルフィリンの産生と密接に関係している可能性がある。

4. 卵黄重

1) 300 日齡時卵黄重

第 4 染色体の 150.31 cM (MCW005-MCW167) の位置に LOD score 値が 18.67 を示す highly significant QTL と、236.09 cM (MCW167-ADL266) の位置に LOD score 値が 16.25 を示す highly significant QTL が 1 個検出された。また、第 11 染色体の 32.01 cM (ADL210-MCW066) の位置に LOD score 値が 15.38 を示す highly significant QTL が検出された。しかし、これらの variance explained は 71-73%と量的形質遺伝子としては高い値を示しているため、これらの QTL が正しく検出されているか否か、今後の検討が必要である。

2) 400 日齡時卵黄重

第 4 染色体の 144.31 cM (MCW005-MCW167) の位置に LOD score 値が 13.00 を示す highly significant QTL が 1 個、第 11 染色体の 32.00 cM (ADL210-MCW066) の位置に LOD score 値が 8.75 を示す highly significant QTL が 1 個検出された。

400 日齡時卵黄重のみならず、300 日齡時卵黄重に関しても、第 4 染色体の MCW005-MCW167 間と、第 11 染色体の ADL210-MCW066 間の極めて近接する位置に highly significant QTL が検出された。この事実から、これらの QTL は、300 日齡時、400 日齡時を通して長期的に発現する QTL であると考えられる。

<全体の考察>

QTL 解析の結果、第 3 染色体と第 4 染色体上に、300 日齡時卵重、400 日齡時産卵率、300 日齡時 L*値、300 日齡時卵黄重、ならびに 400 日齡時卵黄重に関与する QTL が発見されたことから、卵関連形質を支配している遺伝子の多くが第 3 染色体と第 4 染色体上に集中して存在する可能性が考えられる。

第 4 染色体においては 300 日齡時卵重、400 日齡時産卵率、300 日齡時卵黄重、ならびに 400 日齡時卵黄重に関与している QTL が、共にマーカー MCW005 と MCW167 の間に

存在すること、染色体位置も 144-156 cM と近接していることから、これらの複数の形質は同一の QTL によって支配されている可能性も考えられる。

Tuiskula-Haavisto *et al.* (2002)の報告では、第 4 染色体において ADL266 と MCW129 の間に、40 から 60 週齢時卵重、ならびに 18 から 40 週齢時産卵個数に関与する QTL が確認されている。本研究では 300 日齢時卵重、400 日齢時産卵率の QTL が MCW005 と MCW167 の間に検出された。同じ形質に関与する QTL が異なる位置に検出されたことから、同じ卵関連形質の解析であっても、異なるリソースファミリーを材料に用いた場合には、異なる QTL が検出される可能性もあると考えられる。

同一品種内の個体間において、初産日齢の早い個体が、初産日齢の遅い個体に比べて総産卵量が少ないという傾向にあり、初産日齢が産卵率と負の相関にあるという報告がある (Sharuma *et al.*, 1998)。本研究で用いた F₂ 個体群においても、同一品種内の異なる日齢時の個体群のうち、約 8 割の群において負の相関が認められた (蔵場, 2001)。初産日齢と産卵率に負の相関がみられる原因は解明されていないが、下垂体前葉ホルモンや性腺刺激ホルモンが密接に関係していることは明らかにされている (Sharuma *et al.*, 1998)。本研究では、第 4 染色体において、400 日齢時産卵率に関する significant QTL が検出された。これと近い位置に、日周期に影響を与える CLOCK gene の存在が確認されており、日周期はホルモンによる影響をうけていることが明かにされている (Noakes *et al.*, 2000)。以上のことから、産卵率に関与する QTL は、直接的にはホルモンの生成、代謝等に関与する QTL である可能性が考えられる。

先に述べたように、300 日齢時卵重、400 日齢時産卵率、300 日齢時 L 値、300 日齢時卵黄重および 400 日齢時卵黄重の 5 形質に関し highly significant QTL が検出された。しかし、300 日齢時卵重、400 日齢時産卵率、300 日齢時卵黄重および 400 日齢時卵黄重における variance explained の値は 54-84%と、量的形質としては高すぎると判断される値であった (表 4)。また、本解析家系における全マーカー間距離と、ニワトリにおける Consensus Map のそれ (Schmid M. *et al.*, 2005) との間には大きな差が存在した。QTL 解析に使用する DNA マーカー数は多いほど、連鎖地図が詳細になり、飽和連鎖地図に近づく。本研究では、102 個の MS-DNA マーカーを使用した。これはニワトリ染色体 39 対のうち 19 対にしか分布していない。従って、今後、全染色体においてさらに使用するマーカー数を増やし、詳細に研究を進めるとともに、これらの現象が生じた原因を追究する必要がある。

V. 要約

家畜・家禽における、泌乳量、増体量、産卵数など、経済的に重要な多くの形質が量的形質であり、複数の遺伝子座（量的形質遺伝子座：Quantitative trait loci）によって支配されている。近年、QTLの染色体上の位置を知るためには、DNAマーカーを用いた遺伝連鎖解析（QTL解析）が有効であることが明らかになり、マーカーアシステッドセレクション（marker-assisted selection, MAS）などの効率的な育種への応用が期待されている。

現在、世界中でQTL解析が行われており、多くの形質に関するQTLが報告されている。本研究では、MASを目指すための第1段階として、卵関連形質を支配するQTLを明らかにすることを目的として、独自の資源家系を用いてQTL解析を行った。

マーカーには、マイクロサテライト(MS)-DNAを用いた。また、資源家系として、大シャモ雄1個体と白色レグホーン雌3個体を交配した家系を用いた。それぞれの交配からF₁世代(F₁)を作出し、このF₁同士を全きょうだい交配することによりF₂世代を得た。QTL解析に使用したF₂の個体数は325個体であった。

各個体の全血よりDNAを抽出し、102個のプライマーセットを用いてPCR法によりMS-DNAの増幅を行った。増幅産物はABI PRISM 310 Sequencerを用いて電気泳動した。その後、Gene Scanソフトウェアを用いてDNAのサイズを測定し、次いでGenotyperソフトウェアを用いてタイピングを行った後、QTL cartographerソフトウェアを用いてinterval mappingを行った。

QTL解析の標的形質には、初産日齢、卵重、産卵率、卵殻強度、卵黄高、卵白高、濃厚卵白サイズ、卵黄直径、卵殻厚（鋭端・鈍端・中央部）、卵殻重、卵殻色（L*, a*, b*値）、卵黄重、卵白重（初産日齢以外の形質については、300日および400日齢時において測定）を選定した。

QTL解析の結果、significant QTLが検出された形質は300日齢時卵重、400日齢時産卵率、300日齢時L*値、300日齢時卵黄重および400日齢時卵黄重であった。それぞれの結果を以下に示す。

(1)300日齢時卵重：第4染色体の146 cM (MCW005-MCW167)の位置にLOD score値が5.14を示すsignificant QTLが1個検出された。

(2)400日齢時産卵率：第3染色体の38 cM (MCW169-ADL229)の位置にLOD score値が9.9を示すhighly significant QTLを1個、第4染色体の156 cM(MCW005-MCW167)の位置にLOD score値が6.55を示すhighly significant QTLが1個検出した。

(3)300日齢時L*値：第3染色体の62 cM (MCW169-ADL229)の位置にLOD score値が4.52を示すsignificant QTLが1個検出された。

(4)300日齢時卵黄重：第4染色体の150.31 cM (MCW005-MCW167)の位置にLOD score値が18.67を示すhighly significant QTLが1個、236.09 cM (MCW167-ADL266)の位置にLOD score値が16.25を示すhighly significant QTLが1個検出された。また、

第 11 染色体の 32.01 cM (ADL210-MCW066) の位置に LOD score 値が 15.38 を示す highly significant QTL が 1 個検出された。

(5)400 日齢時卵黄重：第 4 染色体の 144 cM (MCW005-MCW167) の位置に LOD score 値が 12.99 を示す highly significant QTL が 1 個、第 11 染色体の 32 cM (ADL210-MCW066) の位置に LOD score 値が 8.75 を示す highly significant QTL が 1 個検出された。

300 日齢時卵重、400 日齢時産卵率、300 日齢時卵黄重および 400 日齢時卵黄重において、highly significant QTL が検出されたという事実は、これらの形質を支配している QTL が、それぞれのピークの近傍に存在することを強く示唆するものである。しかし、300 日齢時卵重、400 日齢時産卵率、300 日齢時卵黄重および 400 日齢時卵黄重における variance explained の値は、54-84%と量的形質としては高すぎると判断される値であった。また、本解析家系におけるマーカー間距離と、ニワトリにおける Consensus Map のそれとは大きな開きがあった。今後、これらの現象が生じた原因を追究する必要がある。

VI. 引用文献

- Beh K. J., Hulme D. J., Callaghan M. J., Leish Z., Lenane I., Windon R. G., and Maddox J. F., 2001. A genome scan for quantitative trait loci affecting resistance to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Anim. Genet.* 33: 97-106.
- Buitenhuis A. J., Rodenburg T. B., van Hierden Y. M., Siwek M., Cornelissen S. J., Nieuwland M. G., Crooijmans R. P., Groenen M. A., Koene P., Korte S. M., Bovenhuis H., and van der Poel J. J., 2003. Mapping quantitative trait loci affecting feather pecking behavior and stress response in laying hens. *Poult. Sci.* 82:1215-1222.
- Carlborg O., Kerje S., Schutz K., Jacobsson L., Jensen P. and Andersson L. 2003. A global search reveals epistatic interaction between QTL for early growth in the chicken. *Genome Res.* 13 :413-21.
- Casas E., Shackelford S. D., Keele J. W., Koohmaraie M., Smith T. P. L., and Stone R. T., 2003. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. *J. Anim. Sci.* 81:2976-2983.
- Chambers J. R., Smith E. J., E. A. Dannington and Siegel P. B., 1993. Sex-linked feathering (K,k⁺) in chickens. A review. *Poult. Sci. Rev.* 5:97-116.
- Cheng H. H. and Crittenden L. B., 1994. Microsatellite markers for genetic mapping in the chicken. *Poult. Sci.* 73: 539-546.
- de Koning D. J., Windsor D., Hocking P. M., Burt D. W., Law A., Haley C. S., Morris A., Vincent J., and Griffin H., 2003. Quantitative trait locus detection in commercial broiler lines using candidate regions. *J. Anim. Sci.* 81:1158-1165.
- Deeb N., Lamont S. J., 2003. Use of a novel outbred by inbred F1 cross to detect genetic markers for growth. *Anim Genet.* 34:205-12.

Groenen M. A., Cheng H. H., Bumstead N., Benkel B. F., Briles W. E., Burke T., Burt D. W., Crittenden L. B., Dodgson J., Hillel J., Lamont S., de Leon A. P., Soller M., Takahashi H. and Vignal A., 2000. A consensus linkage map of the chicken genome. *Genome Res.* 10:137-147.

Hansen C., Yi N., Zhang Y. M., Xu S., Gavora J. and Cheng H. H., 2005. Identification of QTL for production traits in chickens. *Anim. Biotechnol.* 16:67-79.

Helbacka N. V. and Swanson M. H., 1958. Studies on blood and meat spots in the hen's egg. 2. some chemical and histological characteristics of blood and meat spots. *Poult. Sci.* 37:177-90.

Hillel J., Dunnington E. A., Harberfeld A., Lavi U., Cahaner A., Gai O., Ploskky Y., Marks H. L. and Siegai P. B., 1993. Multilocus DNA marker application in poultry breeding and genetic analysis. In: *Manipulations of the Avian Genome* (Etches RJ and Gibbins A.M.V., eds). London C.R.C. press. 243-256.

Honkatukia M., Tuiskula-Haavisto M., de Koning D.J., Virta A., Maki-Tanila A. and Vilkki J., 2005. A region on chicken chromosome 2 affects both egg white thinning and egg weight. *Genet. Sel. Evol.* 37:563-77.

Ihara N., Takasuga A., Mizushita K., Takeda H., Sugimoto M., Mizoguchi Y., Hirano T., Itoh T., Watanabe T., Reed K.M., Snelling W.M., Kappes S.M., Beattie C.W., Bennett G.L. and Sugimoto Y., 2004. A comprehensive genetic map of the cattle genome based on 3802 microsatellites. *Genome Res.* 14:1987-98.

Ikeobi C. O., Woolliams J. A., Morrice D. R., Law A., Windsor D., Burt D. W. and Hocking P. M., 2002. Quantitative trait loci affecting fatness in the chicken. *Anim. Genet.* 33:428-35.

Jacobsson L., Park H. B., Wahlberg P., Fredriksson R., Perez-Enciso M., Siegel P. B. and Andersson L., 2005. Many QTLs with minor additive effects are associated with a large difference in growth between two selection lines in chickens. *Genet Res.* 86:115-25.

Jensen P., Keeling L., Schutz K., Andersson L., Mormede P., Brandstrom H., Forkman B., Kerje S., Fredriksson R., Ohlsson C., Larsson S., Mallmin H. and Kindmark A., 2005. Feather pecking in chickens is genetically related to behavioural and developmental traits. *Physiol. Behav.* 86:52-60.

Kirov G., Williams N., Sham P., Craddock N. and Owen M.J., 2000. Pooled genotyping of microsatellite markers in parent-offspring trios. *Genome Res.* 10: 105-115.

石川明, 鈴木亨, 海老原史樹, 1998. QTL: 基礎理論と行動遺伝学への応用. *比較生理生化学* 15: 49-58.

喜田篤志, 2001. ニワトリの QTL 解析用リソースファミリーにおける卵形質および成長形質の分析. 平成 12 年度広島大学生物圏科学研究科修士論文.

蔵場修平, 2001. ニワトリの QTL 解析用リソースファミリーにおける初産日齢、産卵率および卵サイズの分析. 平成 12 年度広島大学生物圏科学研究科卒業論文.

Manly K. F., Cudmore R. H. Jr and Meer J. M., 2001. Map Manager QTX, cross-platform software for genetic mapping. *Mamm. Genome.* 12:930-2.

水間豊, 猪貴義, 岡田育穂, 佐々木義之, 東條英昭, 伊藤晃, 西田朗, 内藤充, 1996. 新家畜育種学. 朝倉書店. 東京.

Noakes M. A., Campbell M. T. and Van Hast B. J., 2000. The chicken CLOCK gene maps to chromosome 4. *Anim. Genet.* 31:333-334.

農林水産省, 2002. 平成 13 年度食料需給表. <http://www.maff.go.jp/>

Pakdel A., Bijma P., Ducro B. J. and Bovenhuis H., 2005. Selection strategies for body weight and reduced ascites susceptibility in broilers. *Poult. Sci.* 84:528-35.

Park H. B., Jacobsson L., Wahlberg P., Siegel P. B. and Andersson L., 2006. QTL analysis of body composition and metabolic traits in an intercross between chicken lines divergently selected for growth. *Physiol. Genomics.* 3

Rabie T. S., Crooijmans R. P., Bovenhuis H., Vereijken A. L., Veenendaal T., van der Poel J. J., Van Arendonk J. A., Pakdel A. and Groenen M. A., 2005 Genetic mapping of quantitative trait loci affecting susceptibility in chicken to develop pulmonary hypertension syndrome. *Genetics* 36:468-76.

Sato S., Oyamada Y., Atsuji K., Nade T., Sato Shin-ichi, Kobayash E. i, Mitsuhashi T., Nirasawa K., Komatsuda A., Saito Y., Terai S., Hayashi T. and Sugimoto Y., 2003. Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a Meishan \times Duroc F2 resource population. *J. Anim. Sci.* 81:2938-2949.

Schmid M., Nanda I., Hoehn H., Scharrtl M., Haaf T., Buerstedde J. M., Arakawa H., Caldwell R. B., Weigend S., Burt D. W., Smith J., Griffin D. K., Masabanda J. S., Groenen M. A., Crooijmans R. P., Vignal A., Fillon V., Morisson M., Pitel F., Vignoles M., Garrigues A., Gellin J., Rodionov A. V., Galkina S. A., Lukina N. A., Ben-Ari G., Blum S., Hillel J., Twito T., Lavi U., David L., Feldman M. W., Delany M. E., Conley C. A., Fowler V. M., Hedges S. B., Godbout R., Katyal S., Smith C., Hudson Q., Sinclair A. and Mizuno S., 2005. Second report on chicken genes and chromosomes 2005. *Cytogenet. Genome Res.* 109:415-79.

Schreiweis M. A., Hester P. Y. and Moody D. E., 2005. Identification of quantitative trait loci associated with bone traits and body weight in an F2 resource population of chickens. *Genet. Sel. Evol.* 37:677-98.

Schutz K., Kerje S., Carlborg O., Jacobsson L., Andersson L. and Jensen P., 2002. QTL Analysis of a Red Junglefowl \times White Leghorn Intercross Reveals Trade-Off in Resource Allocation between Behavior and Production Traits. *Behav. Genet.* 32:423-433.

Sewalem A., Morrice D. M., Law A., Windsor D., Haley C. S., Ikeobi C. O., Burt D. W. and Hocking P. M., 2002. Mapping of quantitative trait loci for body weight at three, six, and nine weeks of age in a broiler layer cross. *Poult Sci.* 81:1775-81.

Sharma D., Johari D. C., Kataria M. C., Hazary R. C., Choudhari D. and Mohapatra S. C., 1998. Factors affecting direct and correlated responses in a White Leghorn population under long-term selection for egg number. *Br. Poult. Sci.* 39:31-38.

Siwek M., Cornelissen S. J., Nieuwland M. G., Buitenhuis A. J., Bovenhuis H., Crooijmans R. P., Groenen M. A., de Vries-Reilingh G., Parmentier H. K. and van der Poel J. J., 2003a. Detection of QTL for immune response to sheep red blood cells in laying hens. *Anim. Genet.* 34:422-8.

Siwek M., Buitenhuis A. J., Cornelissen S. J. B., Nieuwland M. G. B., Bovenhuis H., Crooijmans R. P. M. A., Groenen M. A. M., de Vries-Reilingh G., Parmentier H. K. and van der Poel J. J., 2003b. Detection of Different Quantitative Trait Loci for Antibody Responses to Keyhole Lympet Hemocyanin and Mycobacterium butyricum in Two Unrelated Populations of Laying Hens. *Poult. Sci.* 82:1845-1852.

Siwek M., Buitenhuis B., Cornelissen S., Nieuwland M., Knol E. F., Crooijmans R., Groenen M., Parmentier H., van der Poel J., 2005. Detection of QTL for innate: Non-specific antibody levels binding LPS and LTA in two independent populations of laying hens. *Dev. Comp. Immunol.* In press. Corrected proof. Available online.

Tatsuda K. and Fujinaka K., 2001. Genetic mapping of the QTL affecting body weight in chickens using a F₂ family. *Br. Poult. Sci.* 42:333-337.

都築政起, 2003. ニワトリの量的遺伝子座の染色体マッピングーわが国初の試みー. 科学研究費補助金(基盤研究(B)(2)) 研究成果報告書.

Tuiskula-Haavisto M., de Koning D. J., Honkatukia M., Schulman N. F., Maki-Tanila A., Vilkki J., 2004. Quantitative trait loci with parent-of-origin effects in chicken. *Genet Res.* 84:57-66.

Tuiskula-Haavisto M., Honkatukia M., Vikki J., de Koning D.-J., Schulman N. F. and Maki-Tanila A., 2002. Mapping of Quantitative Trait Loci Affecting Quality and Production Traits in Egg Layers. *Poult. Sci.* 81:919-927.

鵜飼保雄, 2000. ゲノムレベルの遺伝解析. 東京大学出版会.東京.

Van Kaam J. B., Groenen M. A., Bovenhuis H., Veenendaal A., Vereijken A. L. and Van Arendonk J. A., 1999. Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting carcass traits. *Poult. Sci.* 78:1091-1099.

Van Ooijen J. W., 1999. LOD significance thresholds for QTL analysis in experimental populations of diploid species. *Heredity* 83:613-624.

Vaughn T. T., Pletscher L. S., Peripato A., King-Ellison K., Adams E., Erikson C. and Cheverud J. M., 1999. Mapping quantitative trait loci for murine growth: a closer look at genetic architecture. *Genet. Res.* 74: 313-22.

Wardecka B., Olszewski R., Jaszczak K., Zieba G., Pierzchala M., Wicinska K., 2002. Relationship between microsatellite marker alleles on chromosomes 1-5 originating from the Rhode Island Red and Green-legged Partridge breeds and egg production and quality traits in F(2) mapping population. *J. Appl. Genet.* 43:319-29.

Xu S., Yonash N., Vallejo R. L. and Cheng H. H., 1998. Mapping quantitative trait loci for binary traits using a heterogeneous residual variance model : an application to Marek's disease susceptibility in chicken. *Genetica* 104:171-178.

Zhou H., Li H. and Lamont S. J., 2003. Genetic markers associated with antibody response kinetics in adult chickens. *Poult Sci.* 82:699-708.

Zhu J. J., Lillehoj H. S., Allen P. C., Van Tassell C. P., Sonstegard T. S., Cheng H. H., Pollock D., Sadjadi M., Min W. and Emara M. G., 2003. Mapping quantitative trait loci associated with resistance to coccidiosis and growth. *Poult. Sci.* 82:9-16.

表1. 本研究に用いたマイクロサテライト-DNA増幅用プライマーセット

MSマーカー	染色体番号 ¹⁾	アニーリング温度	繰り返し配列 ²⁾	蛍光標識	PrimerSequence (5')	PrimerSequence (3')
ADL044	12	50	(AC) 9	FAM	AAGTGGTTATTGAAGTAGA	CTGTGGTGTTCGGTAGTGTG
ADL022	7	55	T10 (GT) 14	HEX	GCATCAGAGGAAGAGGAAA	GGTCAAGGAAATCATAGAAA
ADL106	10	55	(TG) 9	TET	CATTCTCTGATTTGCGCTTT	AACCTCTGGTGTGCTACAAA
ADL123	11	50	(TG) 13	HEX	GCTGTCTCAAGATTAGAATCAC	AACAATGAAAAACACTACCTGA
ADL124	1	55	T6 (GT) 6	FAM	ATCGCTTACAAGGTNGGAGG	ATATGATGACTGGAGGTTTT
ADL138	6	55	(AC) 10	FAM	GCTTCAGGAACATAATTACAT	CTTTAGAGATTATGCCAGTA
ADL143	4	50	(TG) 10 (TA) 5	TET	CCTGTCTCTGGTCTTTATCC	AGTTTACTTCTCTTTTCTTGC
ADL146	2	50	(TG) 17	FAM	GACCTGCATTGTCAGTGACC	TGCTTCTACCCCATCTCTCT
ADL147	13	50	(TG) 9	TET	CTGGTGAATGAGAAGCGGATG	GCTGGGCAATAAACTCCCT
ADL166	5	50	(TG) 15	TET	TGCCAGCCCGTAATCATAGG	AAGCACACGACCCCAATCTA
ADL169	7	50	-	HEX	CCACACCAAACTGCTTCAATA	ATTCCGCTTCCCCAATTAGTG
ADL176	2	50	(GT) 12	FAM	TTGTGGATTCTGGTGGTAGC	TTTCCCGTAAACACTCGTCA
ADL188	1	50	(TG) 17T2 (GA) 7A6	HEX	CACITCCAGTATTAACGTGA	GTGGACACAATGAGTTCCCTC
ADL190	2	50	(TA) 5 (TG) 14	TET	TCAGTCTTCAGGCCAAAAG	AACTTGGACCAACAATCTTAT
ADL191	9	50	(CA) 12	HEX	AAAGCAAGCCTATGTGAAT	AAAGCACAAGCGGAGATACA
ADL201	7	55	(GT) 21	TET	GCTGAGGATTCAGATAAGAC	AATGGCTGAGGTTTCACAGC
ADL203	4	55	(GT) 14	FAM	GCTCCACCAGTCTGCTGTG	ACCCCTCCCCTCCTCAGTC
ADL206	15	55	(GT) 23	TET	TTTCTATCTCTCATCTCCAG	AGACATCTGCTTTCTCGTG
ADL210	11	50	(AC) 15	FAM	ACAGGAGGATAGTCACACAT	GCCAAAAAGATGAATGAGTA
ADL214	13	55	(TG) 11	HEX	AGCAGNCGGCCAGGCAATTGG	CTGTTAACCCACCAGGATGG
ADL229	3	55	(CA) 12	FAM	AAAGATGCAAAAGTTTCAAA	AAATGCCTTACAGAGTGTGG
ADL233	5	55	(CA) 14	FAM	GCCCTTTAAACCCCAAGACTC	GGGGAAAAAGGATGCTTAGC
ADL254	28	55	(TG) 13	FAM	CAGCGTGAAGCAATAAATG	CACTCATCCACAACCAGCTG
ADL257	2	55	(CA) 14 (CAA) 10	FAM	ATCTTGAACCTCACAAAGC	TCTTCCAACTATTTTTAGT
ADL262	23	55	(TG) 9	FAM	GTGCAGACACAGAGGAAAG	TCACATGCACACAGAGATGC
ADL266	4	55	-	HEX	GTGGCATTCAGGCAGAGGAG	AATGCATTCAGGATCTATGA
ADL272	10	55	(TG) 11	TET	TATGTTAAGGTGAGCAAAACC	GGGAAAGCTATGAAGGATTT

表1. (続き)

ADL273	Z	55	(CA) 11	TET	GCCATACATGACAATAGAGG	TGGTAGATGCTGAGAGGTGT
ADL284	28	55	(GT) 20	HEX	CAGAGTTCATCCGCCACTGC	CCTCCCACCTAACATTGGAA
ADL293	17	55	(CA) 15	TET	GTAATCTAGAAAACCCCATCT	ACATACGGCAGTCTTTGTTC
ADL299	28	50	(TG) 24	FAM	GTCTAGGCCCCCTTGCCAAAC	CCACCCCATGTTACAGTCA
ADL310	13	55	(GT) 14	HEX	GTCTCTGGATCTCCTCTTGG	TGCACACTTCCCACCTACAGG
ADL314	1	55	(GT) 11	HEX	CCCCATAATTCTTTCAGTGC	CATCCAAATGCAGACAGGACA
ADL372	12	55	(CA) 4GA (CA) 9	FAM	CGCCCCGTTTACTGATTTG	GGCGCGTTCAAGGAAGCAC
GCT004	E50	50	-	HEX	GTGATGCCACACAACCTG	CTTCTTCATCTACGGTGTCT
LEI063	4	50	(AC) 28GC (AC) 10GC (AC) 2. 5	HEX	ATCACTGTGTACCTGAGGCC	AGTCTTCAAGTGCACACCTG
LEI068	1	55	(AC) 12 (RC) 9	FAM	GTGCAGAAAGACAAGGCAGTC	AGCAGGTAAGAGGGCTACAGG
LEI070	2	55	(AC) 17AT (AC) 4 (GC) 4	HEX	TGGGGAGAGCAATTAGTCTGC	GGAAAAACAATCACTGCCTCG
LEI092	6	50	-	TET	GATCTACATTTGTGCAGTGC	TCCTTGGTCTGACTCTCCATG
LEI101	1	55	-	FAM	CCAGCTTCAGTGGCTGTGAAG	AGTCTATCTTAGCCTGTCC
LEI106	1	55	-	FAM	AAACCTCAAATGGTTAAAATGC	GTGAGCATGACAGCAGCTGAG
LEI112	10	55	-	FAM	GGGAACATACAGGGTGTCTGT	TATCATACCAGCCAGCTCTG
LEI120	15	55	-	FAM	CGTAAACACATGCAACTCAATG	TTAGAATCAAAAAGGCTGTCC
LEI121	Z	50	-	FAM	TTCAGCTCCTGGATAGATTAC	ATTATCCAGAACTAACATCAAC
LEI123	-	50	-	FAM	TCTTCCACCAAGTTGGGCATG	TTTTCTAGAGGCTTGTGAC
LEI135	28	55	-	FAM	CACAATGAAGGATGAATAGTGC	AATTCACAGTTACACCTGAGG
LEI146	1	55	-	FAM	TCAAGCCACCAAGTGTCTGG	GATCACTCTGTCATAGCAGT
LEI158	7	55	-	FAM	ATTGTTATCTCCAGAGAGGAC	GTCTTGAATGAATGGTTAGC
LEI193	1	55	-	TET	AGCTGGAGGTAGAAATCCTGAA	ACAATCCCTTCCAACACACCC
LEI196	6	55	-	FAM	ACCCATGAATGTTTCCCTATGC	GATCCCTTCCATAATACATAGTC
LEI209	1	55	-	TET	AATTTGGTGTACATACCTCTCC	GACTTCCAGTGTCTCGTTAG
LEI223	3	55	-	TET	TTCAGGAAAAGAGAAATGTGTGC	GGTTGTGGTTGGATATGGTGAC
LEI237	2	55	-	TET	GTTAAGTGTCTCTGATGTAGC	CTTCAACTATAAAGGATAGCTG
MCW005	4	55	(TG) 14	FAM	ACCTCCTGCTGGCAAAATAAATTGC	TCACTTAGCTCCATCAGGATTCA

表1. (続き)

MCW016	3	50	(TG)16	HEX	ATG GCG CAG AAG GCA AAG CGA TAT	TGG CTT CTG AAG CAG TTG CTA TGG
MCW027	2	50	(TG)24	HEX	AAACAGTTCCGGTGAAGCCTG	AACTCCAAGATAATCTGATAACTG
MCW031	15	55	(TG)24	TET	ATACACCAATGTAGACCCCTGT	TACAGCCATACAGGACTCATTAAAC
MCW036	1	55	(CA)8	FAM	CCTCATGTGAAGCATCTTTTCATA	TGTCTTCAGTAGGACTAGTGTATAC
MCW038	5	55	(CA)19	FAM	GCAGTAGAGACTGAACATTTGGGAC	ACTTATAAGAACTAACCACTGACA
MCW055	7	50	-	TET	TTTGTACTTACCTGGTACTGA	GTTTGCATTGTCTACAGCTCCTTG
MCW058	1	50	(AT)6(GT)17	TET	GGGCACACAGAGTGGACACCA	TAGCATTTTCTCCAATGACTCCGG
MCW062	2	50	(TG)28	TET	ATACTATCAGTAGCATATTATACC	GCACCTCAATCTTTCCATGTACAT
MCW066	11	55	(TG)16	TET	CTGGA ATCAC TGTTG TGGAC TT	GGCCT TGAGA TTCA TTCAG AGAC
MCW067	10	55	-	HEX	GCACACTGTGTGCTGCAGTTT	GAGATGTAGTCCACATTTCCGAC
MCW069	26	50	(CA)11	HEX	GCACCTGAGAAAACCTTCCCTGGC	ATTGCTTCAGCAAGCATGGGAGGA
MCW078	5	55	(TG)8	HEX	CCACA CCGAG AGGAG AAGGT CT	TAGCA TATGA GTGTA CTGAG CTTC
MCW093	3	55	-	FAM	TCTTTTCTTGTGTGGCTT	TCAATGTTCTCTGTACTATG
MCW094	19	55	(TG)20	FAM	GGAGC TGGTA TTTGT CCTAA G	GCACA GCCTT TTGAC ATGTA C
MCW102	1	55	-	TET	TGTTA AAACC AAAAT CTATC AGG	AACAC AGAAC TGTG GAATG G
MCW104	14	50	(TG)16	TET	TAGCA CAACT CAAGC TGTGA G	AGACT TGCAC ACCTG TGACC
MCW107	1	50	(CA)11	TET	GAACAGAACTCTGTTTACTG	TCTGTCTACCTCAACTGACA
MCW112	1	55	(TG)12	HEX	ATCTCTGTCCCATGTTTCAG	GATCACTAAGGTCCCTTTCAA
MCW115	1	55	-	HEX	ATACC AACAT CTGCC TGTGA C	GCAGT GTGTC TGAAT AGCTC T
MCW123	14	55	-	TET	GGCTG ATGTA AGAAG GGATG A	CCACT AGAAA AGAAC ATCCT C
MCW134	9	50	(TG)24	TET	GGAGACTTCATTGTGTACCAC	ACCAAAAAGACTGGAGGTC AAC
MCW135	9	55	(TG)25	TET	ATATG CTGCA GAGGG CAGTA G	CATGT TCTGC ATAT TGCTC C
MCW154	7	50	(TG)11	FAM	GATCT GTTTT ATCAC ACACA C	CCAAT TCCTT TGTTA TCAGG C
MCW156	3	50	(TG)13	HEX	TCTGTAACATTTTCTCTTTTGTG	TTAATGTGGCAGACTCAAAGG
MCW165	23	55	(CA)8	FAM	CAGACATGCATGCCAGATGA	GATCCAGTCTGCAGGGTGC
MCW167	4	55	(GT)8	HEX	GATCCCAAAAACAAATGCCACAC	CTTACATGAGTGTCTATGTCT
MCW169	3	50	(CA)23	HEX	GATCCCACTTGTTAAGAAGG	CCTCACCTTACTGAGCTTGG A

表1. (続き)

MCW173	2	55	-	HEX	TTCAAGCTGCTTAGAGTTCC	TCTTGTAGCCAGGCTCAAG
MCW183	7	55	(CA) 4T (AC) 11	TET	ATCCAGTGTGAGTATCCGA	TGAGATTTACTGGAGCCTGCC
MCW185	2	55	(CA) 9TA (CA) 20	TET	GATCTACTGTCAATTTAGTTT	TGAATAGATTTCAAGTGAAGTGC
MCW193	5	50	(AC) 14	TET	TATTCAAATAGAGTTACGGTGTG	ATTACGCTGCACCAGTACAG
MCW200	1	50	(TG) 8	TET	GACACATTGCAAAATACACAGC	TAGTCAGGAGTTCAGGAAGG
MCW214	5	55	(CA) 9	FAM	CAACAGTAACCATACATCTGC	TAGCTGGATTTTTCATCAGG
MCW233	27	55	-	TET	TCCAGCAGTAAGTATAGCTGC	TGTTAGCTGCAGGGTATTAGC
MCW240	4	55	(GT) 5GC (GT) 6N5 (TA) 9A (GT) 6 (AT) 6 (AC) 11	FAM	CAAAACCGGTGTCACCCTACTG	GGTTATTTCTTCAGTCACTCC
MCW248	1	55	(CA) 9	TET	GTTGTTCAAAGAAGATGCATG	TTGCATTAACTGGCCACTTTC
MCW252	3	55	(TG) 14	TET	CTGCTCAAGCCCATCAAATGG	CGATAACATCTGACACTGCC
MCW257	2	50	-	HEX	AGTCCATCATCAGATGCTTGC	TCTTGAGTGATTTCTGTAGAGG
MCW258	7	50	-	FAM	TTCTTAGTCTTGGCCAGAGGC	CTGCAGGAGGATGTGTCTTAG
MCW287	19	55	-	TET	GCCGTGTGACATCACTGGCTC	TTGCACCAGGCTGCAAACTG
MCW296	14	55	-	HEX	GTAATCCTGCACAAATCCCTGC	GCACTACAAATGCTGTCACTGC
MCW301	24	55	(CA) 14	FAM	GGAGAGGAGACAACTGTATTTC	AGGGTGAGAGGTAACAAGTGC
MCW313	1	55	AC) 12A16	HEX	GATCTGCTGGCAAACTTT	TCTCTCAGCCCTATAAACTAG
MCW328	27	55	-	TET	ATGGAACACAGATGGAGCTGGC	CTCCAATCCAGGCTCCAAC
MCW330	17	55	(CA/GA) 25	FAM	TGGACCTCATCAGTCTGCACAG	AATGTTCTCATAGAGTTCCCTGC

1) 数字は染色体番号を示す。Eが付加されている番号は物理的に染色体の同定が行われていないために連鎖群番号で示す。

2) (CA) 9)はCAが9回繰り返している配列を示す。

表2. QTL解析に使用したマイクロサテライト (MS) マーカーのニワトリ染色体における分布

染色体番号	MSマーカー数	MSマーカー間の 平均距離 (cM)	各染色体に 占める割合 (%)
1	18	31.8	96.8
2	12	30.9	74.8
3	8	34.4	78.9
4	8	32.5	84.1
5	6	16.9	56.6
6	3	25.1	34.2
7	3	40.1	48.5
9	3	44.0	66.7
10	4	22.4	55.9
11	3	23.6	53.4
12	2	43.0	55.6
13	4	14.0	56.8
14	2	45.0	58.4
15	3	6.5	18.3
17	2	15.0	21.4
19	2	31.0	78.0
23	2	5.0	38.5
27	2	26.0	37.7
28	4	20.0	80.0
Z	7	21.8	65.1
その他*	4	-	-
合計	102	-	-

*各染色体に1つしか存在しないMSマーカーをその他として区別した。

表3. QTL解析に用いた標的形質¹⁾

	300日齢時	400日齢時
初産日齢	卵重	卵重
	産卵率	産卵率
	卵殻強度	卵殻強度
	卵黄高	卵黄高
	卵白高	卵白高
	濃厚卵白サイズ	濃厚卵白サイズ
	卵黄直径	卵黄直径
	卵殻厚・鋭	卵殻厚・鋭
	卵殻厚・鈍	卵殻厚・鈍
	卵殻厚・中	卵殻厚・中
	卵殻重	卵殻重
	卵殻L*値	卵殻L*値
	卵殻a*値	卵殻a*値
	卵殻b*値	卵殻b*値
	卵黄重	卵黄重
	卵白重	卵白重

¹⁾ 初産日齢は孵化後初めて産卵した日までの日数。
 産卵率は300日齢時、400日齢時から4週間の産卵率。
 その他の形質は、300日齢時、400日齢時から2週間の平均値。

表4. 各形質におけるQTL解析結果

形質	染色体番号	染色体位置 (cM)	LOD score	additive effect	dominance effect	variance explained (%)	近傍マーカー
初産日齢	1	61	3.35	-15.116	-9.688	11	LEI209-LEI193
	1	207	2.12	7.740	-6.060	3	LEI101-ADL314
	1	266	2.23	8.250	-10.460	6	MCW200-MCW036
	2	83	2.61	10.377	-11.521	7	ADL176-ADL257
	7	36	2.00	4.980	-10.243	4	MCW183-LEI158
300日齢時卵重	4	146	5.14**	-5.205	5.620	54	MCW005-MCW167
	12	40	2.42	-1.980	1.391	9	ADL372-ADL044
400日齢時卵重	4	348	2.06	-1.238	2.119	7	MCW240-LEI063
	12	32	2.96	-2.448	2.001	15	ADL372-ADL044
300日齢時産卵率	1	66	2.79	0.007	-0.174	8	LEI209-LEI193
	2	226	2.25	0.087	-0.070	5	MCW257-MCW185
	19	38	2.76	-0.021	0.129	5	MCW094-MCW287

表4. (続き)

400日齡時産卵率	3	38	9.90**	0.148	0.400	84	MCW169-ADL229
	4	156	6.55**	-0.045	0.426	72	MCW005-MCW167
300日齡時卵殻強度	1	274	3.38	0.211	0.132	10	LEI106-MCW102
	12	0	2.42	0.114	-0.141	4	ADL372-ADL044
300日齡時卵黄高	2	93	2.67	0.245	0.226	5	ADL176-ADL257
	6	6	2.55	0.131	-0.327	5	ADL138-LEI092
	7	104	2.98				MCW154-LEI121
300日齡時卵白高	1	127	4.17	0.311	-0.091	9	LEI146-MCW112
	1	375	3.03	-0.158	-0.251	5	LEI106-MCW102
	2	322	2.58	0.041	-0.411	7	LEI070-ADL146
	4	354	2.52	-0.251	0.109	6	MCW240-LEI63
	5	85	2.95	0.024	-0.385	6	ADL233-ADL166
	6	38	2.20	0.243	-0.135	6	LEI092-LEI196
	10	18	2.06	-0.198	0.299	7	MCW067-ADL106
	15	0	2.69	0.202	-0.223	5	ADL206-MCW031
	23	0	2.11	-0.190	-0.111	4	ADL262-MCW165

表4. (続き)

300日齡時卵白サイズ	11	31	2.97	0.216	0.084	6	ADL210-MCW066
300日齡時卵黄直径	-	-	-	-	-	-	-
300日齡時卵殼厚・鋭	1	14	3.02	0.001	-0.014	9	MCW248-LEI209
300日齡時卵殼厚・鈍	-	-	-	-	-	-	-
300日齡時卵殼厚・中	1	10	2.35	0.000	-0.012	7	MCW248-LEI209
	1	224	3.34	0.008	-0.002	6	MCW313-MCW200
300日齡時卵殼重	1	10	2.33	-0.052	-0.238	7	MCW248-LEI209
	1	222	3.26	0.162	-0.023	6	ADL314-MCW313
	12	60	2.36	-0.149	0.040	5	ADL372-ADL044
300日齡時L*値	1	64	2.67	-0.185	1.040	10	LEI209-LEI193
	3	62	4.52*	0.770	-0.668	15	MCW169-ADL229
	4	346	2.44	0.576	-0.038	6	MCW240-LEI063
	27	32	2.71	0.497	-0.344	5	MCW233-MCW328

表4. (続き)

300日齡時a*値	17	8	2.24	0.136	-0.424	6	ADL293-MCW330
300日齡時b*値	1	81	3.11	-0.167	1.341	6	LEI209-LEI193
	4	70	2.22	0.193	-1.654	9	ADL203-LEI095
	4	210	2.65	0.994	-0.100	7	MCW167-ADL266
300日齡時卵黄重	4	150	18.67**	2.641	2.511	71	MCW005-MCW167
	4	236	16.25**	2.818	2.189	73	MCW167-ADL266
	11	34	15.38**	-2.689	2.468	71	ADL210-MCW066
	17	14	2.45	-0.348	0.696	5	ADL293-MCW330
	Z	110	2.68				
300日齡時卵白重	1	32	2.18	-0.931	-0.045	5	LEI209-LEI193
400日齡時卵殻強度	1	278	2.21	0.224	-0.162	8	MCW200-MCW036
	3	14	2.33	0.248	0.050	8	MCW169-ADL229

表4. (続き)

400日齡時卵黄高	1	189	2.19	-0.385	0.401	5	MCW058-LEI101
400日齡時卵白高	1	125	2.40	0.243	-0.397	8	LEI146-MCW112
	4	348	3.08	-0.328	0.430	12	MCW240-LEI063
400日齡時卵白サイズ	-	-	-	-	-	-	-
400日齡時卵黄直径	17	14	2.52	-0.100	0.096	7	ADL293-MCW330
400日齡時卵殼厚・銳	4	350	2.13	-0.012	0.003	7	MCW240-LEI063
	5	75	3.24	-0.008	0.016	8	MCW078-ADL233
400日齡時卵殼厚・鈍	1	286	3.27	0.017	0.007	13	MCW200-MCW036
	5	73	2.68	-0.005	0.018	8	MCW078-ADL233

表4. (続き)

400日齡時卵殻厚・中	3	0	2.27	0.011	0.004	6	MCW169-ADL229
	5	81	2.62	-0.005	0.014	6	MCW078-ADL233
400日齡時卵殻重	1	173	2.16	0.001	0.269	5	MCW112-MCW058
	4	350	2.39	-0.191	0.238	9	MCW240-LEI063
	7	57	2.02	0.127	-0.224	6	LEI158-ADL169
	12	40	2.34	-0.269	0.236	13	ADL372-ADL044
400日齡時L*値	-	-	-	-	-	-	-
400日齡時a*値	5	61	2.73	-0.447	-0.294	9	MCW078-ADL233
	6	8	2.32	-0.334	0.132	5	LEI092-LEI196
	17	6	3.01	0.313	-0.514	9	ADL293-MCW330
400日齡時b*値	-	-	-	-	-	-	-

表4. (続き)

400日齢時卵黄重	4	144	13.00**	-3.001	3.167	68	MCW005-MCW167
	7	59	2.00	0.192	-1.065	7	LEI158-ADL169
	11	32	8.75**	-3.110	2.903	67	ADL210-MCW066
	17	12	2.88	-0.721	0.697	8	ADL293-MCW330
400日齢時卵白重	4	346	2.58	-1.192	1.764	10	MCW240-LEI063
	13	0	2.02	-0.550	-1.682	5	ADL147-ADL310

** : highly significant QTL, * : significant QTL, † : suggestive QTL.

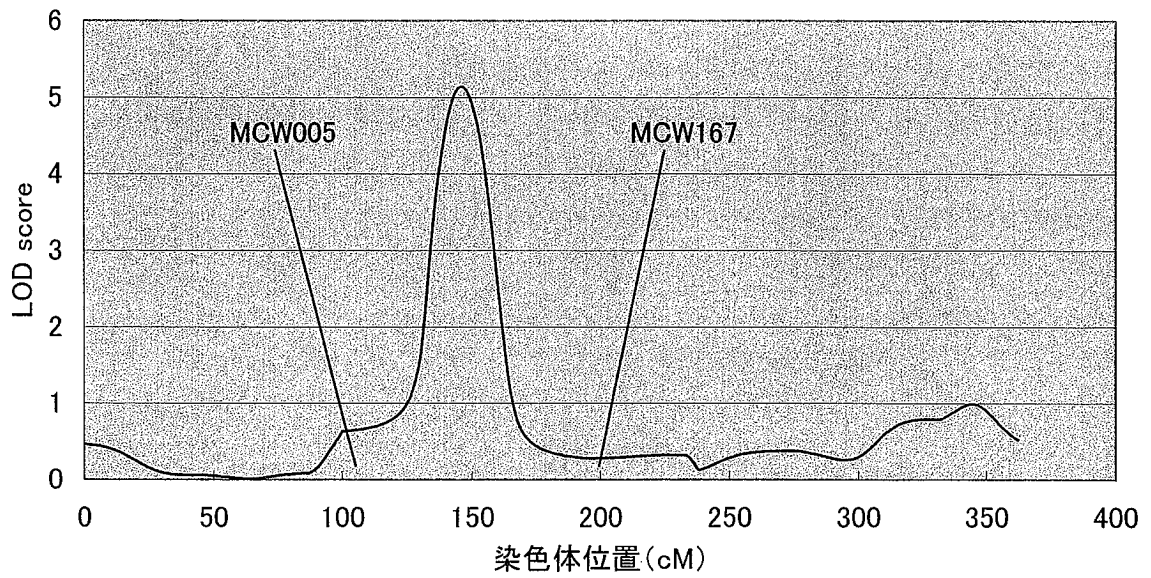


図1. 300日齢時卵重に関する第4染色体のLod score

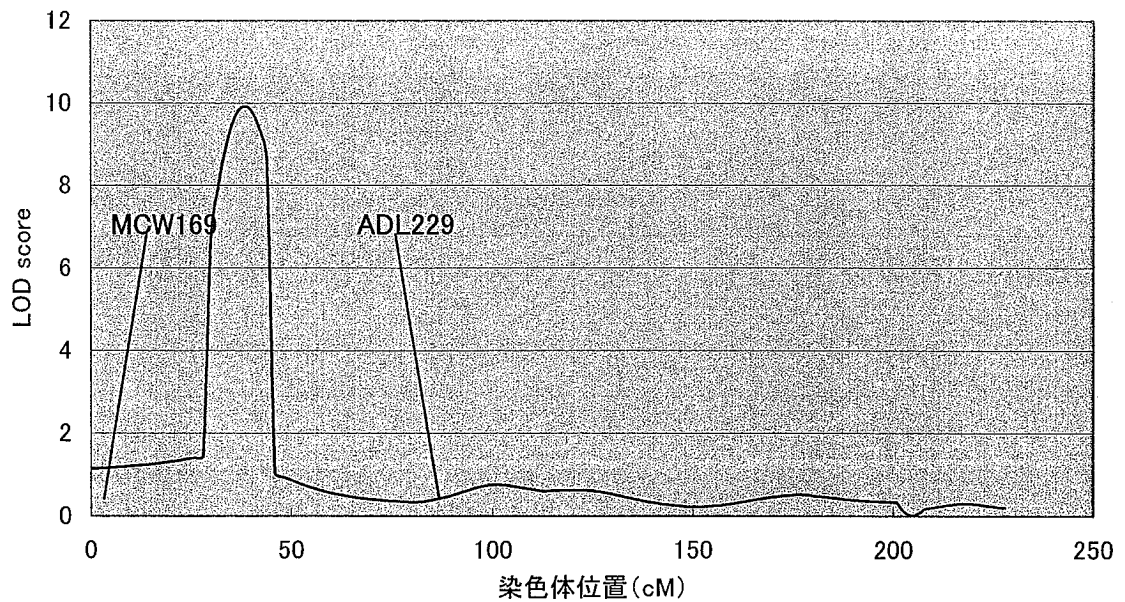


図2. 400日齢時産卵率に関する第3染色体のLod score

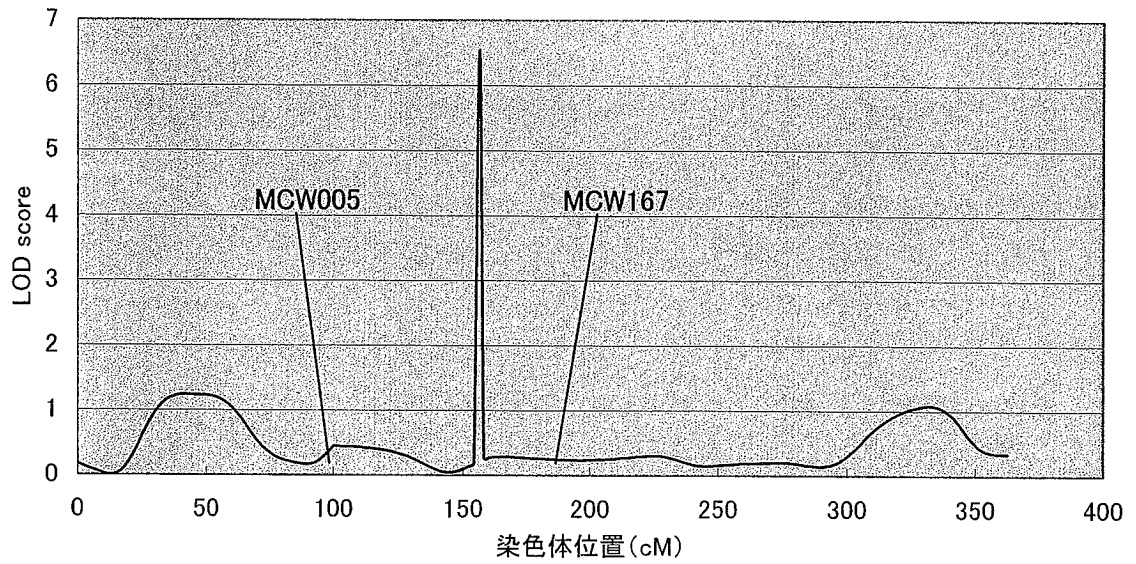


図3. 400日齢時産卵率に関する第4染色体のLod score

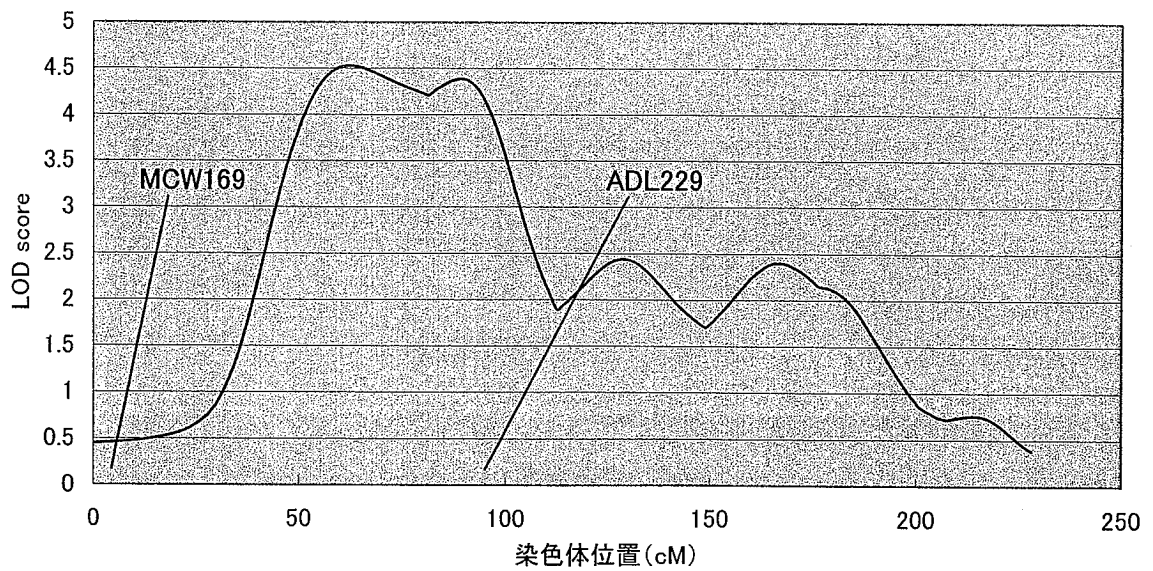


図4. 300日齢時L*値に関する第3染色体のLod score

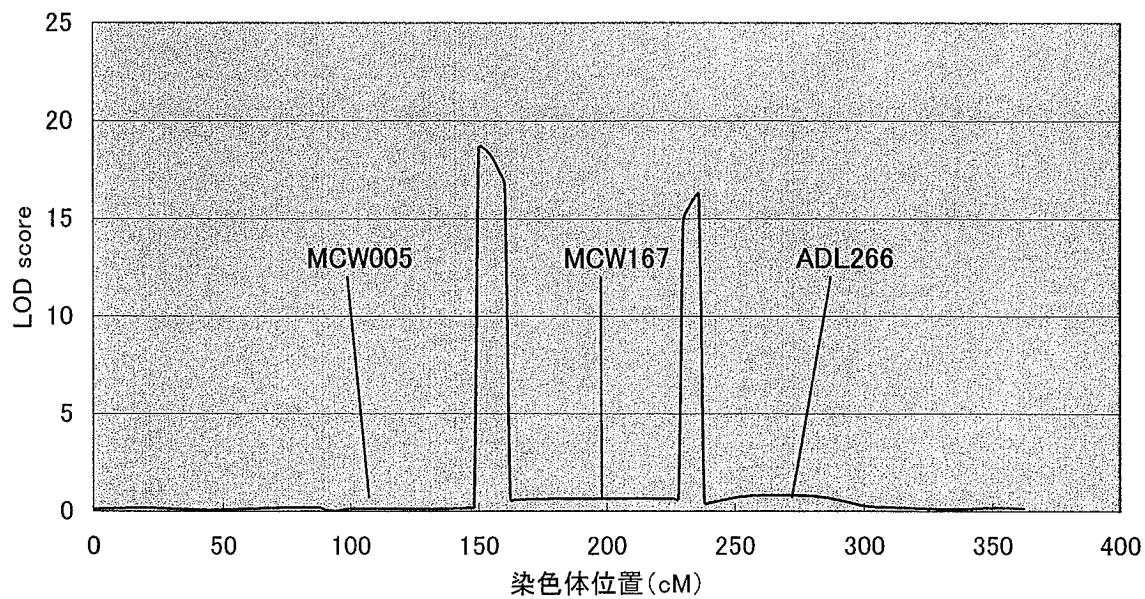


図5. 300日齢時卵黄重に関する第4染色体のLod score

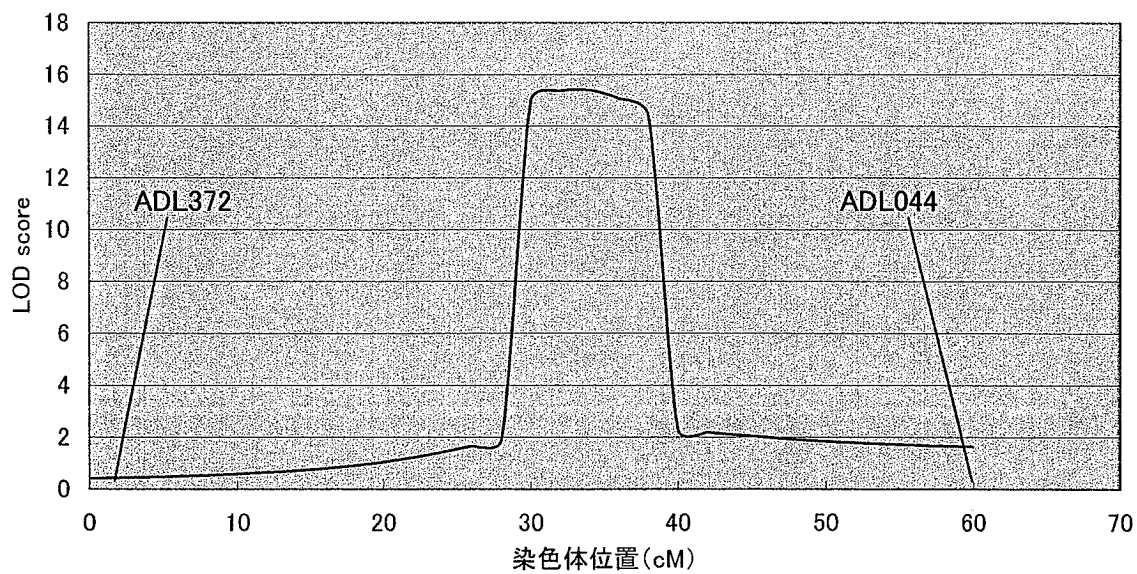


図6. 300日齢時卵黄重に関する第12染色体のLod score

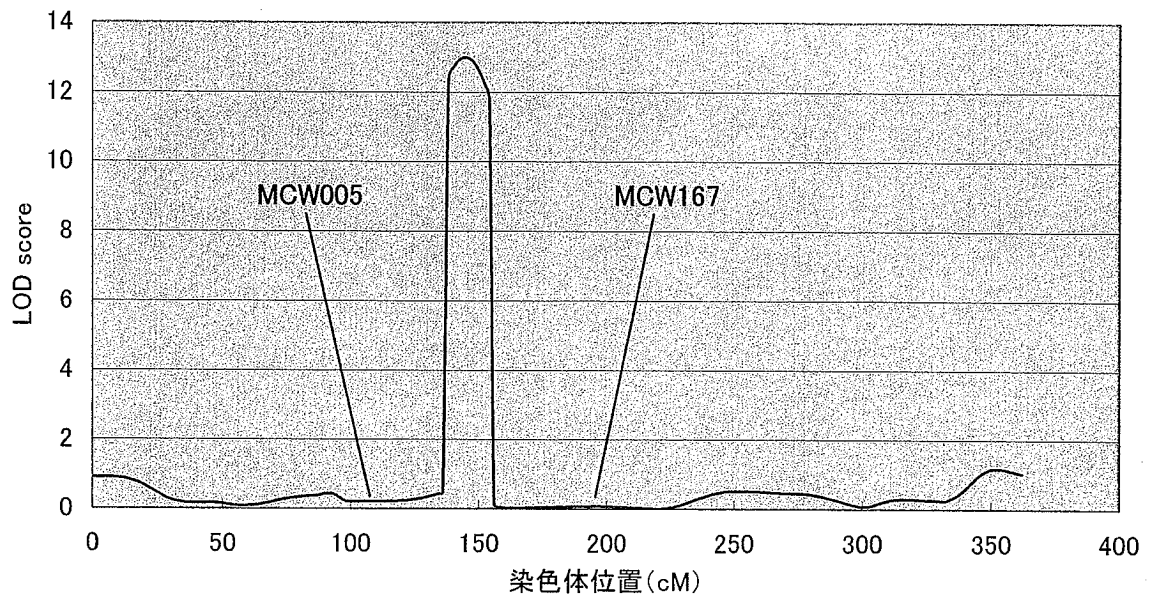


図7. 400日齢時卵黄重に関する第4染色体のLod score

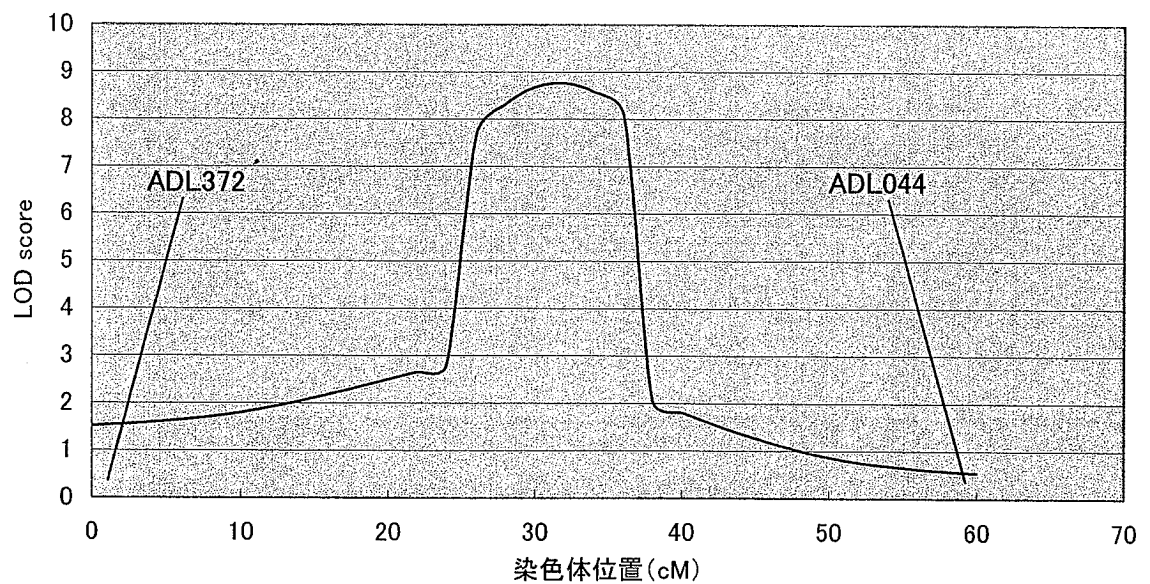


図8. 400日齢時卵黄重に関する第12染色体のLod score