

## 学 位 論 文 要 旨

氏 名	ララモー
題 目	家禽におけるインスリン様成長因子(IGF)システムの遺伝子多型と経済形質に関する研究 (Studies on gene polymorphisms of insulin like growth factor (IGF) system and economical traits in poultry)

インスリン様成長因子 I レセプター (IGF1R) は、IGF1 とともに動物の発育に重要な役割を有していると考えられている。しかしながら、*IGF1R* 遺伝子の発現量や構造と家禽の発育との関連についてはまだ研究がなされていない。本研究は、日本ウズラの *IGF1R* 遺伝子の翻訳領域の全塩基配列の決定、*IGF1R* 遺伝子の SNPs の同定、SNPs と発育との関連について検討した。しかしながら IGF1 遺伝子についてはニワトリ *IGF1* 遺伝子のプロモーター中の 1 塩基多型 (SNP) で対立遺伝子 A と C が成長速度の高低にそれぞれ対応することが報告されている。そこで、本 SNP を用いて、アジア在来鶏や商用鶏集団における遺伝子型分布を調査し、遺伝子型間での遺伝子発現量や形質の良否についても検討した。

(1) 日本ウズラの *IGF1R* 遺伝子の翻訳領域は 4092bp の塩基配列 (AB292766, AB292767) を有し、1363 残基のアミノ酸をコードしていた。LL 系統と SS 系統間で 21 箇所 SNP が検出された。そのうち翻訳開始点から 2293 番目の SNP が非同義的置換であり、IGF1R の 765 番目のアミノ酸をバリン V もしくはイソロイシン I にさせた。残りは同義的置換であった。また LL 系統はバリン型に、SS 系統はイソロイシン型に固定していることも分かった。この SNP と LL 系統と SS 系統との交雑 F<sub>2</sub> 世代における体重、ADG および脛長との関連を解析した。分散分析を行なった結果、10 週齢体重および ADG において SNP による遺伝子型間で有意差が見られ、VV 型 > VI 型 > II 型の順に大きかった。日本とフランスにおける実験用ウズラ集団 (6 集団) におけるイソロイシン型の頻度は 0.18 - 0.31 を示し、一般の無作為交配集団ではイソロイシン型の頻度がバリン型の頻度より低い傾向を示した。上記の無作為交配集団において、SNP と体重との関連の分析を行ったが、少数標本の分析のために明瞭な結果は得られなかった。

(2) アジア在来鶏では C のアレル頻度 (0.64-1.00) が A アレル頻度より高かった。レイヤーでもほぼ同様の遺伝子構成を示した。ブロイラーでは A アレル頻度 (0.86-1.00) が C アレル頻度 (0.0-0.14) より高かった。日本在来鶏ではチャボー羽以外は C アレルに固定していた。

(3) ブロイラーとレイヤーの胸肉の *IGF1* 遺伝子発現には有意差 (P<0.05) が見られたが、それぞれの集団中における遺伝子型間では有意差が見られなかった。遺伝子型 AC 同士を交配した ACxAC 第一メス集団の体重、ADG、成長速度の平均値は AA>AC>CC の順に高かったが肝臓の mRNA レベル遺伝子発現には AC>AA>CC の順に高かった。体重や ADG には Duncan's による有意差 (P<0.05) が見られたが成長速度や遺伝子発現には SNP による遺伝子型間で有意な差は検出されなかった。ACxAC 第一オス集団では有意な差は検出されなかったが、A アレルには positive な効果があると思われた。ACxAC 第一集団と ACxAC 第二集団間では体重の違いが見られなかったが、ACxAC 第二集団は第一集団よりも ADG、成長速度や遺伝子発現が低かった。

本研究では、ウズラの 10 週齢体重および ADG において *IGF1R* 遺伝子の SNP による遺伝子型間で有意差が見られ、ニワトリ *IGF1* 遺伝子の SNP の異なるアレル分布はブロイラーと在来鶏間での成長速度によることが分かった。しかしながら、サンプル数を増やせば、*IGF1* 遺伝子型間で遺伝子発現量の有意な差は見られるかもしれない。*IGF1* と *IGF1R* 遺伝子の SNP の結果は家禽の MAS プログラムに価値ある参考になるだろう。

## 学 位 論 文 要 旨

氏 名	Hla Hla Moe
題 目	<p><b>Studies on gene polymorphisms of insulin-like growth factor (IGF) system and economical traits in poultry</b></p> <p>(家禽におけるインスリン様成長因子(IGF)システムの遺伝子多型と経済形質に関する研究)</p>
<p>Many candidate genes are responsible for economically important characteristics in livestock production system. In this study, Insulin-like growth factor (<i>IGF</i>) system (<i>IGF1</i> and <i>IGF1R</i>) were chosen as candidate genes for poultry growth as their desirable biological and physiological effect on growth.</p> <p>1) <i>IGF1R</i> cDNA was obtained from Japanese quail liver and compared in two Japanese quail lines (LL and SS) selected for large and small body weight, respectively. The <i>IGF1R</i> cDNA was 4,092 bp in length that coded for 1,363 amino acid sequence and, 83.4, 84.7 and 99.4% identity to that of mouse, human and chicken, respectively. Twenty of them were synonymous, but a G/A SNP site at position 2,293 of the <i>IGF1R</i> coding region led to the replacement of a valine to an isoleucine (V765I). The two lines were fixed for a different allele of V765I polymorphism. In the F<sub>2</sub> generation obtained from lines LL and SS showed a significant effect of the SNP genotype on 10 week body weight (BW) (<math>p &lt; 0.01</math>) and on 4~10 weeks and 6~10 weeks average daily gain (ADG) (<math>p &lt; 0.05</math>). In seven populations maintained in Japan and in France, the frequency of allele <i>V</i> was always higher than that of allele <i>I</i>, but no significant association between BW and SNP genotype was detected.</p> <p>2) A SNP site, alleles <i>A</i> and <i>C</i>, within promoter region of <i>IGF1</i> gene was investigated in Asian native chicken populations, layer and broiler populations. The observed number of each SNP genotype was in good agreement with the Hardy-Weinberg expectations. Allele <i>C</i> frequency was estimated to be within the range of 0.64-1.00 in 12 Asian native chicken populations, 0.48-1.00 in eight layer stocks and 0.00-0.14 in two broiler stocks. In Japanese native breeds, all chickens except for a Chabo chicken had <i>CC</i> genotype.</p> <p>3) The association analysis between gene expression level and growth traits were examined among these SNP genotypes. <i>IGF1</i> gene mRNA level in breast muscle was significantly difference between broiler and layer (<math>p &lt; 0.5</math>) at 3 week of age but significant result due to genotype was not detected in within these breeds. The statistical significance (<math>P &lt; 0.05</math>) was only found within <i>AA</i> and <i>CC</i> genotypes in BW and ADG of first female AC x AC group. Although statistically significant difference could not find among the genotypes in the growth rate and the level of <i>IGF1</i> gene expression in liver, the mean values of <i>CC</i> were lower than those of <i>AA</i> in all traits in both sexes of first group.</p> <p>This study observed the significant effect of <i>IGF1R</i> SNP genotype on 10 week body weight of quail and <i>IGF1</i> SNP different allele distribution in growth different breeds of chicken. If the numbers of bird are increased, the effect of <i>IGF1</i> SNP on its gene expression level will appear clearly as one of <i>IGF1</i> SNP allele described positive tendency of gene expression level in first group. Therefore SNP of <i>IGF1</i> and <i>IGF1R</i> study may be provided as a valuable reference for poultry MAS programme.</p>	

## 学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	Hla Hla Moe
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 前田芳實
	副査 鹿児島大学 教授 岡本 新
	副査 佐賀大学 教授 和田康彦
	副査 琉球大学 教授 仲田 正
	副査 鹿児島大学 准教授 大久津昌治
審査協力者	
題目	Studies on gene polymorphisms of insulin-like growth factor (IGF) system and economical traits in poultry 家禽におけるインスリン様成長因子 (IGF) システムの遺伝子多型と経済形質に関する研究
<p>インスリン様成長因子は家禽の成長に重要な役割を有し、その作用システムにはインスリン様成長因子 (IGF1) の他、IGF1 レセプター (IGF1R) ならびに IGF1 結合蛋白質が関係している。IGF1 システムについて遺伝子レベルからの作用機作、特に1塩基置換 (SNP) と発育との関係については十分な研究が行われていない。本研究は、鶏とウズラにおける IGF1 および IGF1R について SNP 解析を行い、SNP と発育との関連の解析を試みた。本学位論文の骨子は下記の3つの内容から構成されている。</p> <p>1) 日本ウズラの <i>IGF1R</i> 遺伝子については、1363 残基のアミノ酸配列をコードする翻訳領域の全塩基配列 (4092bp) を決定した。日本ウズラと鶏との <i>IGF1R</i> 遺伝子の類似性は、塩基で 96%、またアミノ酸残基で 99%を示した。日本ウズラの体重大小選抜の LL 系統と SS 系統の間で 21 箇所に SNP が検出された。そのうち翻訳開始点から 2293 番目の SNP (G:A) が非同義的置換であり、765 番目のアミノ酸がバリン V (GGT) もしくはイソロイシン I (ATT) となり、LL 系統はバリン型に、SS 系統はイソロイシン型に固定していることが明らかとなった。これらの結果に基づき、この SNP と発育性との関連を明らかに</p>	

するために、LL 系統と SS 系統との交雑 F<sub>2</sub> 世代における SNP 型と体重、1 日増体量 (ADG) および脛長との関連を解析した。分散分析を行った結果、10 週齢体重および ADG においてこの SNP の遺伝子型間で有意差が見られ、GG 型>AG 型>AA 型の順に大きかった。日本とフランスにおける実験用ウズラ集団 (6 集団) における A allele の頻度は 0.18-0.31 を示し、一般の無作為交配集団では A allele の頻度が G allele の頻度より低い傾向を示した。上記の無作為交配集団において、SNP と体重との関連の分析を行ったが、少数標本の分析のために明瞭な結果は得られなかった。

2) 鶏の *IGF1* 遺伝子のプロモーター領域の 570bp において A:C の SNP が存在し、この SNP と発育と関連が示唆する報告がなされているが、本章では、この多型分布の鶏种群の特徴を明らかにするために、日本鶏、アジア在来鶏、肉用鶏および卵用鶏集団の遺伝子頻度を解析した。その結果、日本鶏ではチャボを除きすべての品種で C allele に固定していた。アジア在来鶏集団では C allele が 0.64~1.00 を示し、卵用鶏も同様の傾向を示した。一方、肉用鶏集団ではこれらの鶏種と異なり、A allele の頻度が 0.86~1.00 を占めた。

3) *IGF1* 遺伝子の SNP について、鶏種間および SNP 型間における発現量の比較を行った。まず、肉用鶏と卵用鶏の胸筋における *IGF1* 遺伝子の発現量の比較を行った結果、肉用鶏は卵用鶏よりも有意に発現量が高かった ( $P<0.05$ )。しかしながら、SNP 型間では発現量の違いを観察できなかった。卵用鶏 (Sonia 系) の AC 型同士の交配によって得られた F<sub>1</sub> 世代の AA, AC および CC 型間の体重、1 日増体量、成長速度および *IGF1* 遺伝子の発現量を比較した。体重および 1 日平均増体量は AA 型>AC 型>CC 型の順に高い成績を示した ( $P<0.05$ )。また、成長速度は AA 型>AC 型>CC 型の順に高く、肝臓における遺伝子発現量は AC 型>AA 型>CC 型の順に高い傾向を示した。しかしながら、統計的有意性は認められなかった。

本研究は、ウズラおよび鶏における *IGF1* および *IGF1R* 遺伝子について、SNP を解析し、それに基づき、遺伝子頻度による集団解析を行うと共に、SNP 型と発育との関連ならびに遺伝子の発現量の比較を行った。これらの研究成果は、家禽の IGF システムに見られる SNP と発育との関連を分子および集団遺伝学的観点から解析したものであり、SNP と家畜家禽の生産性との関連や、それらの情報に基づくマーカーアシスト選抜の可能性を示すものである。

本研究は、動物遺伝育種学分野の研究として高く評価され、博士 (農学) の学位を与えるに十分な内容である。

## 最終試験結果の要旨

学位申請者 氏名	Hla Hla Moe
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 前田芳實
	副査 鹿児島大学 教授 岡本 新
	副査 佐賀大学 教授 和田康彦
	副査 琉球大学 教授 仲田 正
	副査 鹿児島大学 准教授 大久津昌治
審査協力者	
実施年月日	平成21年 1月29日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答・筆答	

主査及び副査は、平成21年1月29日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。

以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。

学位申請者 氏 名	Hla Hla Moe
[質問 1]	ウズラのアミノ酸置換の場所は。
[回答 1]	エクソン12番にある。765番目のアミノ酸です。
[質問 2]	ウズラのIGF1R遺伝子でSNPが見出された場所は構造上どの様な場所か。
[回答 2]	IGF1Rのβキナーゼドメインに相当する場所です。
[質問 3]	SS系統とLL系統のアミノ酸置換がある。置換によって発現量というよりはタンパク質合成に影響しているのでは。
[回答 3]	SS、LLの交配した集団では体重について差がある、IGF1が影響していると考えられる。
[質問 4]	SS、LLでタンパク質合成が劣っている、コントロールしているのでは。
[回答 4]	影響している。
[質問 5]	肉用鶏はIGF1遺伝子プロモーターのSNPのA alleleの頻度が高いのはどのように考えますか。
[回答 5]	A alleleは、発育速度が高くなる傾向があるので、肉用鶏への選抜あるいは系統造成の過程で、A alleleを保有する個体が選抜されたことにより、遺伝子頻度の上昇が生じたと考えられる。
[質問 6]	ウズラのIGF1のSNP型間では、成長に差がないのか。
[回答 6]	成長に差は認められていない。
[質問 7]	卵用鶏品種の中で、C alleleに固定している品種とA alleleを保有している品種があるが、これはどうしてか？
[回答 7]	たぶん、同じ卵用鶏でも、品種・系統により選抜の方法や交配システムが異なるため、C alleleに固定している品種もあれば、固定していない品種もあると考えられる。C alleleに固定している品種・系統はかなりホモ性の高い系統と考えられる。体重を指標に選抜するとA alleleに固定されるが、卵用鶏は体重を指標にしていないので、系統によっては、A alleleとC alleleが保有されることは有得る。
[質問 8]	C大小選抜ウズラの血中のIGF1濃度は測定していないのか。
[回答 8]	本研究では調べていないが、以前、本研究室で測定したことがある。
[質問 9]	ニワトリのIGFは染色体1番目のあるが、ウズラでは何番目にあるか。
[回答 9]	見つけられていない。