

〔ミニレビュー〕

## 比内鶏の遺伝的な特徴

力丸宗弘<sup>1</sup>・高橋秀彰<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 秋田県農林水産技術センター畜産試験場、<sup>2</sup> 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所

### Genetic characterization of a Japanese native breed of chicken, the Hinai-dori, using microsatellite markers

Kazuhiro RIKIMARU<sup>1</sup>, Hideaki TAKAHASHI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Livestock Experiment Station, Akita Prefectural Agriculture Forestry and Fisheries Research Center

<sup>2</sup> National Institute of Livestock and Grassland Science

#### 1. はじめに

比内鶏は秋田県北部の大館市、比内地方に分布する羽色、体型の美しい純粋な日本地鶏である。比内鶏の作出起源に関しては県北部の地鶏に軍鶏が交配され、これが固定されたものとされている(小穴 1951)。成立時期は江戸時代と推定されており、江戸時代末期にはすでに、比内鶏の肉は美味であることが知られ、旧藩に年貢として上納したこともあったとされている。比内鶏の最大の特色は肉色に赤みがあり、適度な脂肪を含んでおり、その味はキジ、ヤマドリと同じような風味と香気を持っていることである。鍋に入れ煮立ったときの香り、きめ細かな脂肪は特有なものであり、秋田の郷土料理であるきりたんぼ鍋には欠かせない食

材となっていた。

しかし、明治以降、外国産種鶏の輸入により比内鶏の飼育羽数は著しく減少し、昭和初期には絶滅寸前の危機に至った。このような情勢に対し、大館地方を中心として熱心な愛好家たちにより、少ないながらも貴重な遺伝資源である比内鶏の維持保存が図られてきた。1942年には学術的な保存の価値が認められ、国の天然記念物に指定されている。その後、1972年に設立された社団法人「秋田県声良鶏・比内鶏・金八鶏保存会」(以下「保存会」という)が中心となって、ふ卵を行い、幼すうを会員に引き渡し、比内鶏の維持・保存を図ってきた。現在も約40人の会員たちによって保存が図られており、毎年約800個の種卵がふ化されている。



秋田畜試比内鶏



保存会比内鶏

連絡先: 力丸宗弘、秋田県農林水産技術センター畜産試験場  
中小家畜研究部 養鶏担当 〒019-1701 秋田県大仙市神宮寺  
字海草沼谷地 13-3 (e-mail: Rikimaru-Kazuhiro@pref.akita.lg.jp)

また、毎年大館市において、比内鶏の品評会も開催されている。

秋田県農林水産技術センター畜産試験場(以下「秋田畜試」という)では、1973年に保存会から種卵を導入し、貴重な比内鶏の保存を開始するとともに、肉用鶏である「秋田比内地鶏」生産の雄種鶏として体重等の能力の改良を図りながら、毎年世代更新を行ってきた。しかし、保存会から種卵を導入してからすでに30年以上が経過しているが、秋田畜試と保存会の各比内鶏集団における遺伝的関連性についてこれまで網羅的に調べられた事例はなく、各集団がどのような遺伝的多様性を持っているかは不明であった。そこで我々はマイクロサテライトマーカーを用いて秋田畜試および保存会の比内鶏集団の遺伝的多様性を明らかにすることを目的に研究を開始した。

## 2. 比内鶏の性能

比内鶏の体重の推移を表1に示した。秋田畜試へ導入した当時の比内鶏の180日齢の平均体重は雄で1.93 kg、雌で1.46 kgであった(豊住ら1974, 1976)。また、1970年に弘前大学で実施した大館地区の調査結果では、雄で1.62 kg、雌で1.26 kgとなっている(高安と豊川1971)。当時の比内鶏の性能は発育、飼料の利用性、産卵性能ともに他の種鶏と比較して大幅に劣っていたため、その能力向上のために選抜改良を開始した。数年後には選抜の効果が目撃され、体重がやや大きくなっている(赤川ら1977, 1978)。また、1989年からは更なる種鶏改良のため、新たな種鶏群の造成に着手し、造成が終了した1996年の第7世代では、200日齢の平均体重は雄で3.15 kg、雌で2.44 kg、300日齢の平均体重は雄で3.26 kg、雌で2.73 kgにまで改良されている(松浦と佐々木1998)。種鶏群造成後も改良を引

表1. 比内鶏の体重の推移

		200日体重	300日体重
比内鶏雄	1974年生	1.93 kg(180日)	-
		1.62 kg(180日)*	-
	1976年生	2.15 kg(180日)	-
	1996年生	3.15 kg	3.26 kg
比内鶏雌	1974年生	1.46 kg(180日)	-
	1976年生	1.60 kg(180日)	1.84 kg
	1996年生	2.44 kg	2.73 kg

\* 弘前大学の調査結果

き続き行っており、現在は雄20羽、雌300羽を1群とした、2つの種鶏群を維持している。

一方、1991年に当試験場では保存会、民間生産者から比内鶏を含めた秋田三鶏(比内鶏、声良鶏、金八鶏)の種卵を購入し、比内鶏の性能調査を行っている。その時の比内鶏の200日齢の平均体重は雄で2.21 kg、雌で1.74 kg、300日齢の平均体重は雄で2.20 kg、雌で1.84 kgであった(佐々木ら1992)。この調査結果からも愛玩として飼育されている比内鶏の大きさは30年前とほとんど変わっていないことがわかる。

## 3. 比内鶏集団の遺伝的関連調査

比内鶏の集団間における遺伝的関連調査については、岡田ら(1980)が北奥羽在来日本鶏(比内鶏、声良鶏、金八鶏)の類縁関係の中で血液型およびアイソザイムの表現型出現頻度をもとに類縁関係を調査している。比内鶏は大館、秋田畜試、津軽、青森畜試の鶏集団について調査がなされており、その中で血液型B座位遺伝子頻度では、地区によりある程度のばらつきが見られることやアイソザイムEs-1座位遺伝子頻度では、体重について選抜された畜産試験場の比内鶏集団では特にEs-1<sup>A</sup>遺伝子頻度が高いことが報告されている。しかし、表現型からその遺伝子を正確に判定することは困難であり、表現型から推定された類似のフェノグループによって遺伝子頻度を推定せざるを得ないことから、厳密な意味での遺伝子頻度とは幾分異なることを岡田らも述べている。

近年、分子生物学の進展により、鶏においてもDNAマーカー情報による遺伝解析が可能となっており、中でもマイクロサテライトマーカーは、多型性に富み、検出される対立遺伝子数も多いことから、鶏集団間の遺伝的な類縁関係を解析するツールとして利用されている。そこで本研究では、常染色体に座乗する24個のマイクロサテライトマーカー(表2)を用いて各マイクロサテライトDNA座位の対立遺伝子頻度、平均ヘテロ接合率、集団間の遺伝距離について調査を行った。調査には秋田畜試で維持している比内鶏160個体および2005年に保存会から種卵を購入し、ふ化した比内鶏195個体を用いた。

平均ヘテロ接合率は、集団内における遺伝的変異の量を推定するために、座位あたりに期待される平均ヘテロ接合率(H)をNei(1978)の小集団を対象とした式

$$H = \{2n(1 - q_i^2)/(2n - 1)\}/r$$

表 2. 使用したプライマー

マーカー名	フォワードプライマー(5' → 3')	リバースプライマー(5' → 3')	染色体番号	参考文献	DDBJ Accession Number
ABR0015	AGTGTGGCTGCATGGGTGA	CCGCCGCTTCCATTACAAAC	chr27	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186525
ABR0028	GTGCGAGGGCTTCGGATGTG	TGTGCTTGGGCTGCCGTTGG	chr6	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186528
ABR0046	GTGGTCCGCCGTTTGTCTCT	GCCGTGGGAAACCGAAAAGCA	chr5	Groenen <i>et al.</i> (2000)	AB186534
ABR0075	CATGAAGACACACAGCAAAGGG	CAGAACTGCAACAAATCCAGAG	chr4	高橋ら. (2006)	
ABR0223	TTTCTCCAGTCTTAGCAGT	ATTTACAGGCTTGACATCC	chr20	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186576
ABR0228	TCTGACAAATCGGAGAAAGAACTCG	CCCTCCTTTGTTATCCCTCGT	chr8	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186578
ABR0257	AGACAGCAGTAGCCACCCAT	GCTCTGTTCTGAGGAGGAAG	chr17	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186589
ABR0258	GCATGACAGAAATGCCAATA	GATCAGAACTTAACCTCCCT	chr1	高橋ら. (2006)	
ABR0297	ATGTTCTTCAATTTCCAGAG	GGTATCCATAGCAAAGTTAGT	chr3	高橋ら. (2006)	
ABR0343	AGGACAAATTTCTCAAAGGTT	TTTCAAAGCAATATGAACAC	chr11	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186616
ABR0378	GACTTACTACTAAGAGTGGAGAT	CTGTCAATCATGCTCTTTGTG	chr28	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186633
ABR0419	TTAAACTGGAGAAATATTTAACAGC	TGCTTATTTCCATTCACCAA	chr7	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186651
ABR0495	TTGTACTGGTAGCAATTTGA	ACTCTTTGGCCTACTTTTCC	chr10	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186663
ABR0506	ATCTTTATGGCTCCATCATA	TAAACCATCAGGGATTACTGT	chr13	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186667
ABR0526	TCAAATTCAGTACGTCCACACA	GCAGGAGCTGCCTATTACAT	chr9	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186678
ABR0617	CCAAAGAACTCACATCAACGAGCAA	TGGAAAGACTGGCAGGGAAAGC	chr26	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186715
ABR0624	GAGCCTGAGGACAGAGTTCCA	CCATAGAGGTCCGCAATGTTT	chr21	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186719
ABR0634	TACTGAATAAAAGGAGGAAC	AATAGCCAAATAGGTACAGC	chr12	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	AB186723
ABR0645	TATTTCTTCCAAATTACAT	CACGCACCTACATACTTAGA	chr2	高橋ら. (2006)	
MCW0080	GAAATGGTACAGTGCAGTTGG	CCGTGCATTTTAATTGACAG	chr15	Croojmans <i>et al.</i> (1996)	L40045
MCW0217	GATCTTCTGGAACAGATTTC	CTGCACCTTGGTTCAGGTTCTG	chr18	Croojmans <i>et al.</i> (1997)	G31912
MCW0304	TCAGTATGAGAGCTTCTCAAG	TTGTTACAAGGTTCTCTGGAG	chr19	Croojmans <i>et al.</i> (1997)	G32060
ADL0262	GTGCAGACACAGAGGGAAAG	TCACATGCACACAGAGATGC	chr23	Cheng <i>et al.</i> (1995)	G01682
LEI0066	GATCAGATGCATCCAAAGTTC	GAAGCAGGAAAATAGAAAAGGC	chr14	Croojmans <i>et al.</i> (1997)	X82813

によって推定した。(  $q_i$  はある座位における  $i$  番目の対立遺伝子の頻度、 $n$  は集団内の個体数、 $r$  は調べられた遺伝子座位数を示す。)

集団間の遺伝距離は Nei(1983) 遺伝距離 ( $D_a$ ) の式

$$D_a = \sum_{k=1}^r [1 - \sum_{i=1}^{m_k} (x_{ik}y_{ik})1/2] / r$$

を用いて推定した。(  $m_k$  は遺伝子座  $k$  における対立遺

伝子数、 $x_{ik}$ 、 $y_{ik}$  を対立遺伝子  $ik$  の集団 X、Y における遺伝子頻度、 $r$  は調べられた遺伝子座位数を示す。)

#### 4. 遺伝子解析結果

調査した 24 個のマイクロサテライトマーカー座位における、秋田畜試と保存会の比内鶏の対立遺伝子頻度を表 3 に示した。秋田畜試の比内鶏では、24 座位全

表 3. 常染色体における各マイクロサテライト DNA 座位の対立遺伝子頻度

マーカー名	染色体番号	DNA 断片長	秋田畜試 (160) [320]	保存会 (195) [390]
ABR258	1	114bp	0.503	0.113
		120bp	0.017	0.005
		122bp	0.010	0.010
		124bp	0.023	0
		131bp	0.079	0
		133bp	0.315	0.869
		139bp	0.053	0
ABR645	2	145bp	0	0.003
		217bp	0.243	0.171
		221bp	0.200	0
		229bp	0.343	0.310
ABR297	3	239bp	0.213	0.519
		163bp	0.194	0.171
ABR75	4	165bp	0.806	0.829
		158bp	0	0.026
ABR46	5	168bp	0.054	0.443
		170bp	0.091	0
		172bp	0.284	0.021
		176bp	0.456	0.510
		180bp	0.115	0
ABR28	6	139bp	0.049	0.266
		144bp	0.821	0.715
		146bp	0.116	0.020
		148bp	0.013	0
ABR419	7	219bp	0.108	0.031
		221bp	0.892	0.969
ABR228	8	349bp	0.901	0.968
		353bp	0.099	0.032
ABR526	9	83bp	0	0.004
		85bp	0.418	0.157
		87bp	0.270	0.243
		89bp	0.297	0.582
		91bp	0	0.011
ABR495	10	95bp	0.016	0.004
		174bp	0	0.026
		175bp	0.291	0.712
		176bp	0.023	0
		177bp	0.680	0.262
ABR495	10	181bp	0	0.021
		182bp	0.007	0.003
		228bp	0.166	0.024
		230bp	0.358	0.637
ABR495	10	231bp	0.010	0.280
		242bp	0.466	0.059

次ページに続く

比内鶏の遺伝的な特徴

表 3 続き

ABR343	11	104bp	0.003	0.042
		108bp	0.341	0.612
		114bp	0.159	0.107
		116bp	0.215	0.240
		122bp	0.281	0
ABR634	12	280bp	0.060	0.091
		282bp	0.003	0
		283bp	0.933	0.701
		284bp	0.003	0
		305bp	0	0.208
ABR506	13	135bp	0	0.005
		137bp	0.078	0.137
		141bp	0.922	0.858
LEI66	14	295bp	0.008	0.019
		299bp	0.246	0.253
		303bp	0.727	0.575
		305bp	0.008	0
		309bp	0.012	0.153
MCW80	15	268bp	0.007	0
		269bp	0.228	0
		274bp	0.003	0
		275bp	0.576	0.218
		276bp	0.021	0.168
		277bp	0.007	0.338
		278bp	0.159	0.277
ABR257	17	325bp	0.085	0
		327bp	0.915	1.00
MCW217	18	150bp	0.480	0.951
		152bp	0.520	0.038
		157bp	0	0.010
MCW304	19	268bp	0	0.003
		281bp	0.372	0.532
		283bp	0.064	0
		284bp	0	0.011
		287bp	0.351	0.124
		289bp	0	0.003
		293bp	0.213	0.246
		297bp	0	0.082
		297bp	0	0.082
ABR223	20	266bp	0.140	0.179
		268bp	0.116	0.111
		270bp	0.743	0.709
ABR624	21	73bp	0.804	0.874
		81bp	0.023	0.013
		83bp	0.065	0.046
		89bp	0.108	0.067
ADL262	23	104bp	0.271	0.327
		106bp	0.729	0.673
ABR617	26	158bp	0.010	0.011
		160bp	0.767	0.339
		161bp	0	0.011
		164bp	0.223	0.565
		166bp	0	0.056
ABR15	27	176bp	0	0.017
		256bp	0.153	0.022
ABR378	28	262bp	0.847	0.978
		145bp	0.113	0.305
		151bp	0.144	0.016
		153bp	0.596	0.658
		155bp	0.007	0
		157bp	0.140	0
163bp	0	0.021		

( ) : 個体数

[ ] : 対立遺伝子数

表4. 平均ヘテロ接合性

マーカー名	染色体番号	平均ヘテロ接合性	秋田畜試	保存会
ABR258	1	h (ABR258)	0.640	0.232
ABR645	2	h (ABR645)	0.740	0.607
ABR297	3	h (ABR297)	0.313	0.284
ABR75	4	h (ABR75)	0.689	0.544
ABR46	5	h (ABR46)	0.311	0.420
ABR28	6	h (ABR28)	0.193	0.061
ABR419	7	h (ABR419)	0.180	0.062
ABR228	8	h (ABR228)	0.667	0.579
ABR526	9	h (ABR526)	0.454	0.426
ABR495	10	h (ABR495)	0.629	0.513
ABR343	11	h (ABR343)	0.735	0.556
ABR634	12	h (ABR634)	0.126	0.458
ABR506	13	h (ABR506)	0.145	0.246
LEI66	14	h (LEI66)	0.412	0.584
MCW80	15	h (MCW80)	0.593	0.736
ABR257	17	h (ABR257)	0.156	0
MCW217	18	h (MCW217)	0.501	0.094
MCW304	19	h (MCW304)	0.691	0.636
ABR223	20	h (ABR223)	0.416	0.454
ABR624	21	h (ABR624)	0.338	0.229
ADL262	23	h (ADL262)	0.396	0.441
ABR617	26	h (ABR617)	0.363	0.564
ABR15	27	h (ABR15)	0.261	0.044
ABR378	28	h (ABR378)	0.594	0.475
H (h の総和の平均)			0.439	0.385

てが多型性を示した。一方、保存会の比内鶏では 23 座位が多型性を示し、1 座位は単型性であった。24 座位で検出された対立遺伝子数の合計は秋田畜試集団が 88 個、保存会集団が 86 個であり、一座位あたりの平均対立遺伝子数は秋田畜試集団が 3.67 個、保存会集団が 3.58 個であった。両集団間の対立遺伝子を比較すると、秋田畜試集団にあって保存会集団には見られない対立遺伝子が検出されたマーカーは 12 座位 18 対立遺伝子、保存会集団にあって秋田畜試集団には見られない対立遺伝子が検出されたマーカーは 10 座位 17 対立遺伝子であった。35 個の集団特異的な対立遺伝子のうち、31 対立遺伝子の頻度は 10 % 以下の低いものであった。秋田畜試と保存会の比内鶏では、基本的な選抜基準が異なるため、遺伝子頻度の低い対立遺伝子は、各集団の維持・選抜過程において、消失してしまった

表5. 秋田畜試、保存会間の遺伝距離

遺伝距離	0.104
------	-------

ものと考えられる。

平均ヘテロ接合率は、秋田畜試の比内鶏では 0.439、保存会の比内鶏では 0.385 であり、保存会の方が秋田畜試より低かった(表4)。

この原因として、愛好家の数および保存会の比内鶏の数そのものが減少していること、またそれぞれの愛好家が維持している集団の規模が小さいことが原因で、遺伝的多様性が小さくなっていることが考えられる。

秋田畜試と保存会間の遺伝距離( $D_a$ )は 0.104 と算出された(表5)。

Sartikaら(2004)は、今回用いた24マーカー座位のうちの23マーカー座位を共有する24マーカー座位を用いて、日本在来鶏、インドネシアの在来鶏および白色レグホン2系統の遺伝的な類縁関係を推定し、その中で、共通祖先系統から選抜によって分化成立した白色レグホンの2系統(卵殻強系と弱系)間の遺伝距離を0.126と報告している。また、TakahashiとNakamura(2007)は、今回用いたマーカーと同じ24マーカー座位を用いて名古屋種の4系統間における遺伝距離を推定し、同じ系統間でも0.051~0.164の広がりがあることを報告している。本報告の24マーカーセットとは、全く共通するマーカーを含まない20マーカー座位を用いたOsmanら(2006)の報告では、八木戸、大軍鶏および小軍鶏における公立試験研究機関飼養の集団と愛好家集団の遺伝距離を、それぞれ0.137、0.103および0.140と推定している。これらの報告と本研究は、マーカーの種類や数が本研究とは異なっており、単純には比較できないが、20~24個のマイクロサテライトマーカーを用いた場合、同一品種内集団間の遺伝距離は最大でも0.164程度であって、同じ品種の共通祖先に由来する系統でも、選抜によってその遺伝距離が0.126程度まで広がることが示唆される。今回の調査で得られた秋田畜試と保存会集団間の遺伝距離は0.104であり、同一品種内集団間の遺伝距離では想定内の低い数値であった。これは、種卵を導入して以来、外部からの異血導入は行わず、種鶏を維持してきた歴史を反映した妥当な遺伝距離と思われる。

秋田畜試の比内鶏は改良の結果、導入時よりも明らかに体型が大型化している。一方、保存会の比内鶏は標準鶏に近似した比内鶏本来の外貌の特徴を有する鶏だけが維持されるため、秋田畜試の比内鶏よりも体格は小さく、種卵を導入した当時の大きさとほとんど変わっていない。また、羽装についても秋田畜試の比内鶏は赤笹、黄笹の両系統が混ざっており羽色もバラエティーに富んでいるが、保存会の比内鶏では、赤笹の保存が主流となっている。しかし、本研究結果からこのような外貌的な特徴や体格の変化に関わりなく、秋田畜試と保存会の比内鶏は、同一の集団から分化した遺伝的に近い集団であることが示唆された。

今回の調査結果から、両集団は遺伝的に近い集団であることが判明したが、両集団間において体格が異なってきたことから、今回使用したマイクロサテライトマーカーは、体格の形質とは連鎖していないと考えられる。今後、改良前の集団と改良後の集団の遺伝

的な違いを明らかにすること、例えば、保存会の比内鶏と秋田畜試の比内鶏を交配した資源家系を造成し、QTL解析を行うことによって、体格改良につながった遺伝子を特定することができるかもしれない。

5. 比内鶏の性染色体(Z染色体)における遺伝的特徴

秋田畜試の比内鶏集団において、常染色体上に座乗するマイクロサテライトマーカー24座位については、全て多型性で、単型性のマーカー座位はなかった。しかしながら、もし、比内鶏の単型性マーカー座位が多数発見できれば、比内鶏の単型性マーカー座位の対立遺伝子をセットで検出することによって、肉用鶏である一代交雑種「秋田比内地鶏」へのDNA識別の利用も可能となる。当試験場由来の種鶏から生産される「秋田比内地鶏」は、比内鶏の雄とロードアイランドレッド種の雌との一代雑種であり、流通するコマーシャル鶏のほとんどは雌である。「秋田比内地鶏」の雌の場合、性染色体は父親である比内鶏のZ染色体と母親であるロードアイランドレッド種のW染色体から構成される(図1)。

このことから「秋田比内地鶏」の雌は必ず比内鶏のZ染色体を有するので、もし「秋田比内地鶏」に存在しない対立遺伝子が検出された場合、「秋田比内地鶏」ではないと識別することが可能となる。また、雄の場合についても、性染色体(ZZ)の片方のZ染色体は比内鶏に由来することになるので、「秋田比内地鶏」の雄において、想定されない対立遺伝子が検出されれば、同様に識別が可能となる。

そこで筆者らは、「秋田比内地鶏」の生産形態をヒ

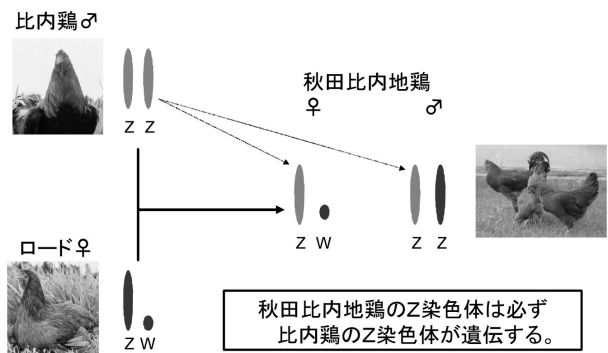


図1. 秋田比内地鶏のZ染色体の遺伝の仕組み

ントに比内鶏の性染色体(Z染色体)に着目し、Z染色体上に座乗する21個のマイクロサテライトマーカーについて調査を行った(表6)。

調査の結果、5個のマイクロサテライトマーカー

(ABR89, ABR241, ABR311, MCW633, ADL250)において、それぞれ1つの対立遺伝子に固定していることが判明した。常染色体と比較してZ染色体における単型性マーカー座位の確率が高かったことから、筆者ら

表6. 使用したプライマー

マーカー名	フォワードプライマー(5'→3')	リバースプライマー(5'→3')	参考文献	Map position in the draft sequence (May, 2006 Assembly)
ABR0080	TTGCCCTGGGCGAACAACG	CAACAGCTTTCGACGAGACGG	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 20142891 20143063
ABR0082	TCCTGAATTTCCAAATAAGTTTAA	TAAATCACAGCCCAAATCAAAAG	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 29886108 29886328
ABR0089	ATAATCACAGCCCAAATCAA	CCTGAAATTTCCAAATAAGTTTAA	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 29886107 29886327
ABR0112	TACTTTATCTCTGCTTCTCA	GCTTGTAGGGTAATCCAAATG	高橋ら. (2006)	chrZ 21804512 21804742
ABR0241	ATACACTGGCAAGCCAGAC	CCCGGATCAGCTCATAAAGAC	高橋ら. (2006)	chrZ 48390709 48390824
ABR0254	TTTGGTAAGTGAATAATAGC	ACTTTGTAGGAAATGGACTT	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 38054130 38054456
ABR0289	TTCTCAAACCTGTTAAGGTCAC	AATCCCACTCCACCACAAC	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 63376080 63376379
ABR0311	CCTAAAGCAGGAAGGCAGAA	TTGGAGCATTTGTGGAGAAG	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 31395698 31395907
ABR0376	AGGGTATGGATGCTTACTA	CACAAAAGTTCCTGAATAATA	高橋ら. (2006)	chrZ 43199764 43199933
ABR0505	TTATTTATGGCACTCCACTG	TATTCCTTGTGTTGCTTGA	高橋ら. (2006)	chrZ 32134968 32135193
ABR0524 <sup>1</sup>	TCCTACCGAAGGCAACAGAA	GGCCCACTTAGCAGATGGAGAAT	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	Un_random 6580137 6580414
ABR0588	ATACAATCCAGCATCTCACA	CCCATTATTCGTTATCTTACTT	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 17778232 17778361
ABR0598	CAGGTCTTTGCTACTTACA	GTACTCCCGCAGACTTTCACCT	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 34260619 34260921
ABR0608	GCAGGAAGTTCCACAGAAAAG	TTGGCAATAGCTTCAAAAACA	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 8313971 8314196
ABR0620	GCCAGCTTCAGGGAACA AAA	TGAAAACGCAAAAATCAACGGA	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 23271403 23271669
ABR0621	ACTTTCCCTCTTGTGGACT	GTTGGCATGACTTTGTTGCT	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 40284779 40285147
ABR0633	AGTATGTTATTGCCCTGTGGC	TTTGGGGAAGGAAATGTTGT	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 13031126 13031391
ABR0651	TGGGAAAAGTCAGTAGAACA	TGCATTATTACATCCCATCT	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 72120493 72120683
ABR0657	CAGCAACAAAACAATAACAAA	AGTAAAGGTATCATCAGAGGG	Takahashi <i>et al.</i> (2005)	chrZ 63335383 63335579
ADL0250	AAGCCGTACTGAGAAAGCACT	CAGGCACAGTAGAAAAGAAC	Hu <i>et al.</i> (2001)	chrZ 36707738 36707898
LEI0121	TTGACGTCTCTGGATAGATTAC	ATTATCCAGAACTAACATCAAC	Crooijmans <i>et al.</i> (1997)	chrZ 49858361 49858680

<sup>1</sup>ABR0524はTakahashi *et al.* (2005)のリンケージマップのZ染色体上にマップされている。



はこれらのマーカー付近の領域に比内鶏に固定した遺伝子が存在するのではないかという仮説を立てた。そこで5つのマーカーをもとに鶏ゲノムのドラフトシーケンス(UCSC Chicken Genome Browser(2004), Ensembl Chicken Genome Browser(2004))から比内鶏に固定していると思われる領域について新たに16個

のプライマーを設計した(表7)。

その結果、それぞれ1つの対立遺伝子に固定しているマイクロサテライトマーカーを16個中13個という非常に高い確率で得ることができた。このことから筆者らの立てた仮説が間違っていなかったことを裏付ける結果となった。

表7. 新たに設計したプライマー

マーカー名	フォワードプライマー (5' → 3')	リバースプライマー (5' → 3')	Map position in the draft sequence (May, 2006 Assembly)
ABR1001	TTGAGATGTTGATGTGGAAAACG	CAAGAAGGTGAGGAGAACAAGGA	chrZ 12997930 12998258
ABR1002	TAGGAAAAGATGCCCGATAAAA	CAAGGGTTGGGAATGTAGTGA	chrZ 13089627 13089974
ABR1003	AGAGGTAGGCGATGGACCAAA	ATGCACCAAGTGACCAAGGAC	chrZ 23015564 23015724
ABR1004	TGTACTCAACTAAGACGGGAT	TGTTATGTGATGTGAAACCTGA	chrZ 30217729 30217945
ABR1005	GTAACACTTCACATTCAGAGGCAT	AACCAGCATTTCTTCAGCAA	chrZ 28357290 28357508
ABR1006	GCATCGCATTTAGGGTAAGTAT	AGTTTCACTCAGGGAGTTTA	chrZ 28617283 28617471
ABR1007	GTCCCTCCCTTTGGCCACAAC	TGCTGAAAGACAGACTGCTGATAG	chrZ 28871952 28872182
ABR1008	GGGCTCTTTAGGACAACCTCAC	ATCAATATGAAGGCAGTTACAAGA	chrZ 29369940 29370207
ABR1009	GCATTTGATTAAGTGTGCTC	CAGGTAAGTGTCAATGGTTGG	chrZ 33592107 33592309
ABR1010	CTGCTTCAGCCAGTCTCAGTAT	CTTTTCACAAGTTTCCCTTTT	chrZ 32746964 32747232
ABR1011	TATCACCTGTGACTGAGGCAT	CTTGGAGAGATTTTGGGAAGC	chrZ 32449118 32449338
ABR1012	CACCACGATACTTCCCTTTA	AACAATCTTTCCCCCATAC	chrZ 32135019 32135286
ABR1013	GAACAAGGTAGAACTCGTCGGT	TGCTCGGGGAAGTATCACAAAC	chrZ 31442224 31442362
ABR1014	GGACAGCCAGTTGCTAGCCTTG	TGCCCTGCTTGACCAAAACCAC	chrZ 31365234 31365373
ABR1015	CATCGCACCAACATCCACCTT	TGCATAAAGCCTGCTATGACC	chrZ 36624037 36624356
ABR1016	CCTTGAACAGAAAGCAGGTGG	TCGTGGAAAACATGAGATGGC	chrZ 36706061 36706195

表 8. 秋田比内地鶏否定確率

	比内鶏における 対立遺伝子頻度 (n=360)	他のニワトリにおける 対立遺伝子頻度 (n=334)	否定確率 (識別率)	
			雌	雄
ABR1003	1.0	0.186	81.3368 %	66.1567 %
ABR1012	1.0	0.188	96.4830 %	88.4643 %
ABR241	1.0	0.199	99.3004 %	95.8669 %
ABR1008	1.0	0.267	99.8135 %	98.0903 %
ABR311	1.0	0.309	99.9423 %	99.0014 %

次にこれらのマーカーを用いて他の鶏との識別が可能かどうかを確認するため、その他の鶏集団(9つの純粋品種、市場で購入した肉専用種及び卵専用種の合計334羽)について調査を行った。

比内鶏で固定している対立遺伝子の出現頻度が低いマーカーを順に並べて、秋田比内地鶏否定確率(識別率)として積算した結果、「秋田比内地鶏」の雌では3つのマーカーの積算で99%以上の識別率が、雄においても5つのマーカーの積算で99%以上の識別率が得られた。また、5マーカーの調査によって、全てのサンプルを「秋田比内地鶏」ではないと識別することができた(表8)。

以上の結果からZ染色体に座上するマイクロサテライトマーカーを利用し、「秋田比内地鶏」と他の鶏を識別することが可能となった。しかし、今回の調査では、当試験場の比内鶏についてしか調査を行っていないため、これらのマーカーが愛玩養鶏家で飼養されている比内鶏集団についても固定されているかは分からない。今後は愛玩養鶏家で飼養されている比内鶏集団についても調査を行い、「秋田比内地鶏のDNA識別手法」を確立することが目標である。

## 6. おわりに

比内鶏は天然記念物に指定されている貴重な日本地鶏であり、これまで熱心な多くの方々によって、保存が図られてきた。保存会の会員をはじめ、長年の愛好家の努力なくしては、比内鶏が現在まで生き延びることは不可能であったと思われる。また、これまで当場の諸先輩方の改良の努力と苦労があったからこそ、現在の比内鶏が存在するというを肝に銘じ、今後もこの貴重な遺伝資源である比内鶏の維持・保存に努め

ていきたい。

## 7. 謝辞

本研究の一部は財団法人伊藤記念財団の「平成17年度食肉に関する研究」及び農林水産省委託プロジェクト「健全な食生活構築のための食品の安全性及び機能性に関する総合研究」の助成によるものです。

## 引用文献

- 赤川淳美・藤野克哉・本郷直樹・吉川芳秋. 1977. 比内鶏の利用に関する試験. - 比内鶏の性能調査と選抜 - (第2報) 秋田畜試研報, 昭和51年度: 109-118.
- 赤川淳美・畠山義祝・勝浦勉. 1978. 比内鶏の利用に関する試験. - 比内鶏の性能調査と選抜 - (第3報) 秋田畜試研報, 昭和52年度: 71-79.
- Cheng HH, Levin I, Vallejo RL, Khatib H, Dodgson JB, Crittenden LB and Hillel J. 1995. Development of a genetic map of the chicken with markers of high utility. Poultry Science, 74: 1855-1874.
- Crooijmans RPMA, van Oers PAM, Strijk JA, van der Poel JJ and Groenen MAM. 1996. Preliminary linkage of the chicken (*Gallus domesticus*) genome based on microsatellite markers: 77 new markers mapped. Poultry Science, 75: 746-754.
- Crooijmans RPMA, Dijkhof RJM, van der Poel JJ and Groenen MAM. 1997. New microsatellite markers in chicken optimized for automated fluorescent genotyping. Animal Genetics, 28: 427-437.
- Ensembl Chicken Genome Browser. 2004. European Bioinformatics Institute. Cambridge, UK. <http://www.ensembl.org>

- ensembl.org/Gallus\_gallus/index.html Accessed Mar. 2007.
- Gibbs M, Dawson DA, McCamley C, Wardle AF, Armour JAL and Burke T. 1997. Chicken microsatellite markers isolated from libraries enriched for simple tandem repeats. *Animal Genetics*, 28: 401–417.
- Groenen MAM, Cheng HH, Bumstead N, Bemkel BF, Elwood Briles W, Burke T, Burt DW, Crittenden LB, Dodgson J, Hillel J, Lamont S, Ponce de Leon A, Soller M, Takahashi H and Vignal A. 2000. A consensus linkage map of the chicken genome. *Genome Research*, 10: 137–147.
- Hu J, Mungall C, Law A, Papworth R, Nelson JP, Brown A, Simpson I, Leckie, S, Burt DW, Hillyard A, and Archibald AL. 2001. The ARKdb - genome databases for farmed and other animals. *Nucleic Acids Research* 29: 106–110.
- 小穴彪. 1951. 日本鶏の歴史, 日本鶏研究者, 東京.
- 松浦千恵子・佐々木茂. 1998. 寒冷地に適した複合養鶏の安定生産技術の確立. - 特産鶏肉安定生産のための選抜試験 -. 秋田畜試研報, 13: 43–46.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583–590.
- Nei M. 1983. Genetic polymorphism and the role of mutation in evolution. In: *Evolution of Genes and Proteins* (Nei M and Koehn R, eds). pp. 165–190. Sinauer Associates. Sunderland, MA.
- 岡田育穂・豊川好司・高安一郎. 1980. 北奥羽在来日本鶏の類縁関係. 日本家禽学会誌, 17: 337–343.
- Osman SAM, Sekino M, Kuwayama T, Kinoshita K, Nishibori M, Yamamoto Y and Tsuzuki M. 2006. Genetic Variability and Relationships of Native Japanese Chickens Based on Microsatellite DNA Polymorphisms-Focusing on the Natural Monuments of Japan. *The Journal of Poultry Science*, 43: 12–22.
- Sartika T, Minesawa M, Hihara H, Praseryo H and Takahashi H. 2004. Genetic Relationships among Japanese and Indonesian native breeds of chicken based on microsatellite DNA polymorphisms. 29th International Conference on Animal Genetics: 113 (ISAG-Tokyo-2004).
- 佐々木専悦・千田惣浩・畠山義祝. 1992. 県内家禽有用遺伝子の維持・保存試験. - 秋田三鶏の飼養性能調査 -. 秋田畜試研報, 7: 131–136.
- 高橋秀彰・中村明弘・力丸宗弘. 2006. 地域特産鶏肉のDNA識別手法の開発. 平成17年度食肉に関する助成研究調査成果報告書. 財団法人伊藤記念財団, Vol.24: 207–213.
- Takahashi H, Nakamura A. 2007. Genetic Divercity and Differentiation of the Nagoya Breed Inferred from Microsatellite DNA Polymorphisms. *The Journal of Poultry Science*, 44: 135–140.
- Takahashi H, Tsudzuki M, Sasaki O, Niikura J, Inoue-Murayama M and Minezawa M. 2005. A chicken linkage map based on microsatellite markers in an intercross of Japanese Large Game and White Leghorn. *Animal Genetics*, 36: 463–467.
- 高安一郎・豊川好司. 1971. 比内鶏に関する研究(第1報) 発育, 飼料要求率ならびに解体成績. 弘大農報, 17: 70–80.
- 豊住登・本郷直喜・藤原久康・吉川芳秋・菊池正美. 1974. 肉用鶏に対する地鶏(比内鶏)の利用に関する試験.(第1報)比内鶏の発育に関する試験. 秋田畜試研報, 昭和48年度: 159–164.
- 豊住登・本郷直喜・藤原久康・吉川芳秋. 1975. 比内鶏の利用に関する試験. I 比内鶏の性能調査と選抜(中間成績) 秋田畜試研報, 昭和49年度: 87–94.
- UCSC Chicken Genome Browser. 2004. University of California, Santa Cruz, CA. <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway?org=Chicken&db=gallGal3> Accessed Mar. 2007.