

比内鶏の発育形質関連QTL解明とその検証(第2報)
 —比内鶏F₂家系集団におけるコレシストキニンA受容体遺伝子の
 ハプロタイプと発育形質との関連性—

力丸宗弘・小松 恵・上本吉伸^{*1}・武田尚人^{*2}・鈴木啓一^{*3}・高橋秀彰^{*2}

^{*1}独立行政法人家畜改良センター

^{*2}独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所

^{*3}東北大学大学院農学研究科

要 約

我々は、発育が異なる比内鶏系統個体を交配して作出したF₂家系集団の量的形質遺伝子座(QTL)解析を行い、第4番染色体のMCW0240-ABR0622間に体重と平均日増体重のQTLを検出した。コレシストキニンA受容体遺伝子(CCKAR)は、その領域における発育形質に影響する候補遺伝子である。本研究では、比内鶏F₂家系集団におけるCCKAR遺伝子のハプロタイプと発育形質との関連性について調査を行った。P世代全個体を対象として、CCKAR遺伝子の全5つのエクソン領域を含む塩基配列をPCRダイレクトシーケンス法によって決定し、F₂家系集団に出現するCCKAR遺伝子のハプロタイプを同定した。次に、ミスマッチ増幅変異アッセイ法によって、F₂家系集団各個体のディプロタイプを識別した。その結果、5つのハプロタイプ(ハプロタイプ1-5)が同定された。3つのハプロタイプ(ハプロタイプ-1, 3, 4)の組み合わせから得られた6つの遺伝子型について、CCKAR遺伝子のハプロタイプと発育形質との関連性について調査を行った結果、ハプロタイプ-1は10および14週齢体重、4-10および10-14週齢平均日増体重において、ハプロタイプ-3より有意に優れていた。以上の結果から、CCKAR遺伝子のハプロタイプは、比内鶏の発育形質改良のための選抜指標として有効であることが示唆された。

緒 言

経済的に重要な形質へ有意な影響を及ぼす量的形質遺伝子座(QTL)の候補遺伝子の同定や利用は、家畜育種においてますます重要になってきている。QTLを探索するための方法として、交配集団の連鎖地図に基づいたポジショナルクローニング法と候補遺伝子を用いたファンクショナルクローニング法の2つがある(Andersson2001)。ポジショナルクローニング法は、DNAマーカーと表現値の2つの情報から表現型に影響を与えるQTLを染色体上に位置付け、効果を推定する方法である。候補遺伝子を用いたファンクショナルクロー

ニングは、これまでの生理学分野での研究結果から候補遺伝子としてすでに報告されている遺伝子について、その遺伝子内のDNA変異と表現型との関連性を調査する方法である。

ニワトリでは、これまで体重などの発育形質に関するQTLマッピングが広く研究されている(Abashtら2006; Huら2007)。また、第1番染色体上の*thyroid hormone responsive spot 14 α* (Caoら2007)や*PIT1* (*pituitary-specific positive transcription factor 1*) (Nieら2008); 第2番染色体上の*IGFBP* (*insulin-like growth factor binding protein*) 1, 3 (Quら2009); 第3番染色体上の*ODC*

(*ornithine decarboxylase*) (Uemotoら. 2011); 第5番染色体上の*calpain3* (Zhangら2009); 第7番染色体上の*IGFBP2* (Leiら2005; Liら2006; Lengら2009); 第9番染色体上の*GHSR* (*growth hormone secretagogue receptor*) (Fangら 2010); 第10番染色体上の*IGF* (*insulin-like growth factor*) 1 (Leiら2008)のような候補遺伝子と発育形質との関連性が数多く調査されている。

前報において、発育が異なる比内鶏2系統を交配し、作出したF₂家系集団についてQTL解析を行った結果、10と14週齢体重および4-10週齢と10-14週齢の平均日増体重に影響を与えるhighly significant QTLが第1番染色体上の*ADL0198* (*chr1:171.7 Mb*)と*ABR0287* (*chr1:173.4 Mb*)間と第4番染色体上の*MCW0240* (*chr4:69.9 Mb*)と*ABR0622* (*chr4:86.3 Mb*)間の共通領域に検出された(力丸ら2013)。Ankra-Baduら(2010)は発育が異なる方向に選抜されてきたプロイラーの系統間交配についてQTL解析を行い、比内鶏の系統間交配で検出されたQTL領域と重なる領域に発育形質に影響を与えるhighly significant QTLを*LEI0073*と*MCW0240* (*chr4:69.9-88.4 Mb*)間に検出している。発育形質への遺伝子の直接的な関与はまだ解明されていないものの、Ankra-Baduら(2010)は*MCW0240*と*LEI0073*間における発育形質の候補遺伝子として、コレシストキニンA受容体 (*Cholecystokinin type A receptor*) (*CCKAR*) (*chr4:75.6 Mb*)、*PPAR-γ* (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha*) (*chr4:76.6 Mb*)、*SOD3* (*Extracellular superoxide dismutase 3*) (*chr4:76.2 Mb*)、*C1QTNF7* (*c1q and tumor necrosis factor-related protein 7*) (*chr4:79.7 Mb*)、*FGFBP1* (*fibroblast growth factor binding protein 1*) および *FGFBP2* (*chr4:79.5 Mb*) を挙げている。さらに、Rubinら(2010)は他の候補遺伝子として*TBC1* (*tre-2/USP6, BUB2, cdc16 domain family, member 1*) (*chr4:71.8 Mb*)と発育形質と

の関連性を報告している。第4番染色体上の発育形質の候補遺伝子のうち、我々は*CCKAR*遺伝子に着目した。なぜなら、比内鶏の系統間交配による解析によって、第4番染色体上のQTL領域のピーク直下に*CCKAR*遺伝子が特定され、それはヒトの肥満の候補遺伝子(Aryaら2004)であるからである。そこで本研究では、比内鶏のF₂家系集団における*CCKAR*遺伝子のDNA多型および発育形質との関連性について調査を行った。

材料と方法

1. F₂資源家系および表型値の測定

3羽の保存会の雄と9羽の秋田畜試の雌を用いて1~3羽の雌を無作為にそれぞれの雄に交配し、F₁集団を作出した。F₁集団の雄17羽と雌60羽を全兄弟交配し、206羽の雄と212羽の雌からなる合計418羽のF₂家系集団を作出した。F₂家系集団は同じ日にふ化した後、同一鶏舎で飼育し、試験期間を通して同一飼料を給与した。体重は4、10、14週齢に測定した。0-4、4-10、10-14週齢における平均日増体重は、各週齢における体重から算出した。

2. CCKARハプロタイプの同定

本研究では、カリフォルニア大学の利用可能なニワトリゲノムのドラフトシーケンス、Santa Cruz (UCSC) Genome Browser (2006) および Ensembl Genome Browser (2006) を用いた。F₂家系集団における遺伝子の塩基配列の違いを決定するため、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)増幅、ダイレクトシーケンスにより、親個体における*CCKAR*遺伝子の5つのエクソンについて塩基配列を決定した。F₂家系集団の各ゲノムDNAは、DNA抽出キット(セパジーン:三光純薬, 東京)を用いて抽出した。*CCKAR*遺伝子の5つのエクソンを増幅するために5つのPCRプライマーを設計し、PCRを行った(表1)。反応液(15-μL)は、各プライマー(10

pmol), 1×Buffer for KOD-Plus-(東洋紡, 東京), dNTP(200 μmol/L; 東洋紡), MgSO₄(1.2 mmol/L; 東洋紡), 0.125UのKOD-Plus-(KOD-201;東洋紡), 上記のDNA10 ngを混合することにより調整した. PCR反応は96-wellプレートでサーマルサイクラー(iCyclerサーマルサイクラー: バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社, ハーキュリーズ, カリフォルニア, アメリカ)を用いて行った. PCRサイクルは, 94°Cにて2分間の熱変性後, 熱変性(94°C, 15秒間), アニール60°C(エクソン1), 54.5°C(エクソン2), 57°C(エクソン3, 4, 5)30秒, 伸長反応(68°C, 60秒間)のサイクルを30回行い, 最後に68°Cにて9分30秒間伸長反応を行った. PCR産物は, High Pure 96 UFCleanup Plates(ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社, マンハイム, ドイツ)を用いて精製し, BigDye Terminator Cycle Sequencing FS ReadyReactionkit(パーキンエルマーアプライドバイオシステムズ, フォスターシティ, カリフォルニア, アメリカ)を用いてサイクルシーケンシングを行った. PCR増幅には同じプライマーを用いた. シークエンシングは両方向行い, それぞれのシーケンシング産物についてDNAシーケンサー(モデル3100: パーキンエルマーアプライドバイオシステムズ)を用いて解析し, F₂家系集団における親個体のCCKAR遺伝子のハプロタイプを同定した.

3. 統計解析

発育形質に対するハプロタイプ効果を評価するために混合遺伝モデルを用いた. Qxpakソフトウェア(Pérez-Enciso と Misztal2004)のld_fixオプションによるハプロタイプ解析を行った. F₂家系集団においてハプロタイプ2を持つ個体は全く検出されなかったこと, また, ハプロタイプ5はF₂家系集団では1個体しか存在しなかったため解析から除いた. そのため, 本研究では, 3つのハプロタイプを用いて解析を行った. 各形質のモデル式は以下の通りである.

$$y_i = sex_j + \sum_{k=1}^3 \sum_{h=1}^2 \lambda_{ikh} g_k + u_i + e_i$$

ここで, y_i は各形質について個体*i*の表型値, Sex_j は性*j*(雄および雌)の母数効果, λ_{ikh} は0および1からなる指示変数であり, 個体*i*のアレル*h*($h = 1, 2$)がハプロタイプ*k*($k = 1 \sim 3$)である場合に1となりそれ以外の場合は0, g_k はハプロタイプ*k*の相加的遺伝子効果, u_i は変量効果として共分散行列 $\mathbf{A}\sigma_u^2$ に従うポリジーン効果(\mathbf{A} は分子血縁行列), e_i は残差効果である. 本研究では, 分子血縁係数行列を作成するために基礎集団の血統までさかのぼり, 合計520羽を解析に用いた. ハプロタイプ効果を含むおよびハプロタイプ効果を除いたモデル式のそれぞれから求めた尤度により算出

表1 コレシストキニンA受容体遺伝子における5つのエクソンの増幅プライマー

エクソン	フォワードプライマー (5' → 3')	リバースプライマー (5' → 3')	サイズ (bp)
エクソン 1	TATCACTCTCATCACTCACCG	TTTCTCATCCTAACTTATCAGCA	702
エクソン 2	AAAACATAAAACCAGGCAGGC	TGTTCAATAGCAGATAGAAAAAA	464
エクソン 3	CAGGAGTATCAGCACGGAGA	CAAGGCAAACATTGTAAAAG	663
エクソン 4	CTCCTCCAACCCTCCAGTAG	AACGGAATCACCTCAGTCAA	485
エクソン 5	GAACAAACAGTGTCTTCCGT	ACCAGATGATGTCCACTTGA	829

した。この尤度比は自由度3の χ^2 分布に従うことから、 χ^2 検定によりP値を得た。

モデル式によって説明される全分散に占めるハプロタイプ効果の分散の割合は以下の式となる。

$$\text{haplotype variance} = (R_var - F_var) / R_var \times 100$$

ここで、R_varはモデル式よりハプロタイプ効果を除いたモデルでの残差分散、F_varはモデル式より得られる残差分散を示す。

結 果

シーケンシングの結果、11個の一塩基多型(SNPs)がニワトリゲノムのドラフトシーケンスに対応する領域と異なり、5つのハプロタイプ(ハプロタイプ1-5)が親個体で同定された(表2)。

5つのハプロタイプの塩基配列は日本のDNAデータバンク(DDBJ)で以下のアクセシオン番号に登録されている(AB604331, AB604332, AB604333, AB604334, AB604335)。F₂家系集団において、これらのハプロタイプから15の異なる遺伝子型(1/1, 2/2, 3/3, 4/4, 5/5, 1/2, 1/3, 1/4, 1/5, 2/3, 2/4, 2/5, 3/4, 3/5, 4/5)が分離される可能性が示唆された。したがって、Chaら(1992)によって述べられているように15の遺伝子型を識別するためにミスマッチ増幅変異アッセイ(MAMA)PCRプロトコルを開発した。次にCCKAR遺伝子のハプロタイプを識別するために6つのPCRプライマーを設計し、表3に示したようにPCRと遺伝子解析を行った。

15個の予想される遺伝子型のうち、7個(1/1, 1/3, 1/4, 1/5, 3/3, 3/4, 4/4)がF₂個体で検出された。ハプロタイプ2を示すF₁個体はF₂家系集団で偶然選ばれなかったため、F₂家系集団においてハプロタイプ2を持つ個体は全く検出されなかった。さらに、1/5個体は1羽だけしか検出されなかったため、この個体は統計解析から除外した。

表4に3つのCCKAR遺伝子のハプロタイプ(ハプロタイプ1, 3, 4)と発育形質との関連性を示した。これら3つのハプロタイプと発育形質(10, 14週齢体重, 4-10, 10-14, 0-14週齢平均日増体重)との間に有意な関連性が認められ、ハプロタイプ1はハプロタイプ3および4より優れていた。また、ハプロタイプが全表型分散に占める割合は7.2-12.0%であった。

考 察

コレシストキニン(CCK)は、食欲の調節に関与する消化管ペプチドである(Gibbsら1973)。哺乳類では、CCKは胃内容物の排出を抑制するとともに、胆嚢収縮を促進し、膵酵素と重炭酸塩の分泌を増加させる。また、胃酸の分泌を抑制し、空腹を遅らせ、食物摂取量を減少させる(Gibbsら1973; Kissileffら1981)。CCKの2つのGタンパク質共役受容体はCCKAR(Sankaranら1980)とコレシストキニンタイプB受容体(CCKBR; InnisとSnyder1980)として同定されている。CCKARは消化管、CCKBRは脳に主に分布するが、両方の受容体サブタイプは中枢神経系と腸に分布する。

表2 F₂家系集団における親個体の遺伝子型

個体	数	遺伝子型
雄親	1	3/5
	2	3/4
	3	3/4
雌親	1	1/2
	2	1/1
	3	1/1
	4	1/1
	5	1/1
	6	1/1
	7	1/1
	8	1/1
	9	1/1

表3 ミスマッチ増幅変異アッセイ法に用いたPCRプライマー

プライマーセット	プライマー (5'→3')	サイズ (bp)	ターゲットポジション (AB214534; Ohkubo, 2005)	PCR増幅ハプロタイプ				
				1	2	3	4	5
CCKAR-220-145	CCCAACAGTAGGCCAGTAACA GGTGAAGTAAGCTCTTTAAC _a At	190	g 220. A > G	+	-	-	+	+
CCKAR-220-23	CCCAACAGTAGGCCAGTAACA GGTGAAGTAAGCTCTTTAAC _a Ac	190	g 220. A > G	-	+	+	-	-
CCKAR-767-125	GAGcGTGTCTACATTCAAC _a Tc GTTGGCTGTGCTGTTGTTGT	208	g 767. T > C	+	+	-	-	+
CCKAR-749-34	CTATGTGCAGGTATCTCTGTG _c Gt GTTGGCTGTGCTGTTGTTGT	228	g 749. T > C	-	-	+	+	-
CCKAR-1547-1	GCTGC _a CTAAGCAGAA _a GaCa CCACTTGTAGCCCCTTCTGA	151	g 1547. G > A	+	-	-	-	-
CCKAR-1547-2345	CTGC _c CTAAGCAGA _a GaCg CCACTTGTAGCCCCTTCTGA	187	g 1547. G > A	-	+	+	+	+

小文字のアンダーラインで示した箇所は、誘導されるミスマッチを表す。3' - 末端の小文字で示した部分は、目的とする一塩基多型を表す。それぞれのプライマーセットがPCRによって増幅可能、不可能なハプロタイプは、それぞれ「+」または「-」として示す。

表4 F2家系集団における発育形質の表型値およびコレシストキニンA受容体遺伝子ハプロタイプの影響

形質	個体数	表型値			ハプロタイプ1			ハプロタイプ3			ハプロタイプ4			分散		
		平均値	標準偏差	LRT	P値	平均値	標準偏差	LRT	P値	平均値	標準偏差	LRT	P値	Rvar	Fvar	(Rvar-Fvar)/Rvar (%)
4週齢体重 (g)	417*	231.1 ± 38.3	1.5	n.s.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10週齢体重 (g)	418	960.6 ± 163.5	36.6	5.7×10^{-8}	547.9 ± 17.0	496.8 ± 18.2	502.7 ± 18.9	16554.7	15325.1	7.4						
14週齢体重 (g)	418	1,466.9 ± 260.7	57.7	1.9×10^{-12}	867.1 ± 23.2	779.2 ± 24.8	790.0 ± 25.7	31852.9	28021.5	12.0						
0-4週齢平均日増体重 (g/日)	417*	5.2 ± 1.0	1.5	n.s.	-	-	-	-	-	-						
4-10週齢平均日増体重 (g/日)	417*	17.4 ± 3.3	46.5	4.4×10^{-10}	10.1 ± 0.3	9.0 ± 0.4	9.0 ± 0.4	6.8	6.2	9.4						
10-14週齢平均日増体重 (g/日)	418	18.1 ± 4.4	50.1	7.5×10^{-11}	11.4 ± 0.2	10.1 ± 0.3	10.2 ± 0.3	7.1	6.3	11.5						
0-14週齢平均日増体重 (g/日)	418	14.6 ± 2.7	57.5	2.2×10^{-12}	8.7 ± 0.2	7.8 ± 0.3	7.9 ± 0.3	3.3	2.9	12.0						

LRT: 対数尤度比, n. s. 有意差なし

Rvar: ハプロタイプ効果を除いた性とポリジーン効果を含むモデルでの残差分散, Fvar: 性、ハプロタイプ、ポリジーン効果を含んだモデルでの残差分散

* 4週齢体重と0-4、4-10週齢平均日増体重 (g/日)は、1個体データ不足による。

CCK, CCKAR, CCKBRの機能は鳥類や哺乳類で広く研究されている。例えば、CCKの静脈注射はニワトリの食物摂取量を抑制する (Savory と Gentle, 1980)。また、CCKはニワトリの腸運動 (Rodríguez-Sinovas ら 1997; Martin ら 1995; Martinez ら 1995)、胆嚢の胆汁の流れ (Duke ら

1987)を調節する。さらに、CCKはニワトリとアヒルの膵臓からアミラーゼ分泌を刺激する (Satoh ら 1994; Xiao と Cui 2004)。近年、Ohkuboら (2007)は、CCKARのmRNAは、前胃と砂嚢を除き、主に消化管に分布するが、CCKBRのmRNAは主に脳に存在することを報告している。

これらの研究は、CCK, CCKAR, CCKBRが哺乳類と同様に鳥類の食欲調節に重要な役割を果たしていることを示唆している。

これらの3つの遺伝子の作用を研究するためにCCK, CCKAR, CCKBR遺伝子ノックアウトマウスが作出されている(Robinsonら2000)。しかしながら、飽満へのCCKの影響が立証されているにもかかわらず、3頭のノックアウトマウスは全て成長し、正常な体重を示す。対照的に、遺伝子突然変異(Miyasakaら1994)のためにCCKAR遺伝子を欠くOtsuka Long Evans Tokushima Fatty (OLETF)ラットはコントロール(Long Evans Tokushima Otsuka)ラットより出生後1日目から大きくなるまで体重が重い(Schroederら2006)。CCKAR遺伝子ノックアウトマウスとOLETFラットとの表現型における違いは、CCKAR遺伝子の欠損が生理学的変化に影響を及ぼす種間差によるものかもしれない。

本研究では、CCKAR遺伝子がノックアウトされていないので、タンパク質配列によるハプロタイプと発育形質との関連性について説明することはできない。さらに、CCKAR遺伝子のコード領域に検出されたSNPsによるアミノ酸配列の違いは認められなかった。よって、CCKAR遺伝子のタンパク質は機能上正常であり、今のところ、CCKAR遺伝子のハプロタイプに何か機能的意義があるかどうかは不明である。本研究で検出された関連は、直接これらの形質の調節にかかわるハプロタイプと別の連鎖遺伝子との間の連鎖不平衡によって引き起こされる可能性も考えられる。

CCKAR遺伝子のハプロタイプと発育形質との関連性を説明する1つの可能性として、CCKAR遺伝子の5'非翻訳領域(5' UTR)におけるSNPがCCKAR遺伝子の発現調節に関与している可能性が考えられる。実際、CCKAR遺伝子の5' UTRにおける推定YY1結合部位(TCTTC(C/A)TAG)(ParkとAtchison1991; Shiら1991)に対応し

たSNPが第4番染色体上のドラフトシーケンスマップ(2006 assembly)(AB604331:g.420C>A)75630198bpに検出された。g.420C>Aにおいてハプロタイプ1のSNPはAアリルであったが、ハプロタイプ3および4、ニワトリゲノムのドラフトシーケンスではCアリルであった。これまでブロイラー、レイヤー、烏骨鶏について、このSNPは報告されていない(Ensembl Genome Browser 2004)。

YY1はプロモーターに依存する転写活性化因子、抑制体、転写開始要素結合タンパク質として機能する亜鉛フィンガータンパク質である(ShrivastavaとCalame1994)。Houstonら(2006)はブタのCCKAR遺伝子の5' UTRにおけるYY1結合部位のSNPが飼料摂取量や発育に影響することを報告している。このメカニズムはHoustonら(2006)によって推察されているものと同様であり、ブタとニワトリとの種間差に関係がないと考えられる。しかしながら、各SNPが遺伝子発現調節に及ぼす影響を解明するためには、今後更なる研究が必要である。

以上の結果から、発育が異なる比内鶏の系統間交配により作出されたF₂家系集団において、CCKAR遺伝子のハプロタイプと発育形質に有意な関連性が認められ、CCKAR遺伝子のハプロタイプが比内鶏の発育形質改良のための選抜指標として有効であることが確認された。

謝 辞

本研究は「動物ゲノムを活用した新市場創出のための技術開発(動物ゲノム情報を活用した新市場創造のための研究)」委託事業によるものです。

引用文献

Abasht B, Dekkers JCM, Lamont SJ. 2006. Review of quantitative trait loci identified in the chicken. Poultry Science 85, 2079-2096.

- Ankra-Badu GA, Le Bihan-Duval E, Mignon-Grasteau S, Pitel F, Beaumont C, Duclos MJ, Simon J, Carré W, Porter TE, Vignal A, Cogburn LA, Aggrey SE. 2010. Mapping QTL for growth and shank traits in chickens divergently selected for high or low body weight. *Animal Genetics* 41, 400-405.
- Andersson L. 2001. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature Reviews Genetics* 2, 130-138.
- Arya R, Duggirala R, Jenkinson CP, Almasy L, Blangero J, O'Connell P, Stern MP. 2004. Evidence of a novel quantitative-trait locus for obesity on chromosome 4p in Mexican Americans. *The American Journal of Human Genetics* 74, 272-282.
- Cao ZP, Wang SZ, Wang QG, Wang YX, Li H. 2007. Association of spot14 α gene polymorphisms with body weight in the chicken. *Poultry Science* 86, 1873-1880.
- Cha RS, Zarbl H, Keohavong P, Thilly WG. 1992. Mismatch amplification mutation assay (MAMA): application to the c-H-ras gene. *PCR Methods and Applications* 2, 14-20.
- Duke GE, Larntz K, Hunter H. 1987. The influence of cholecystokinin, vasoactive intestinal peptide and secretin on pancreatic and biliary secretion in laying hens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology* 86, 97-102.
- Ensembl Genome Browser. European Bioinformatics Institute, UK. <http://uswest.ensembl.org/index.html>. 2004.
- Fang M, Nie Q, Luo C, Zhang D, Zhang X. 2010. Associations of GHSR gene polymorphisms with chicken growth and carcass traits. *Molecular Biology Reports* 37, 423-428.
- Gibbs J, Young RC, Smith GP. 1973. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 84, 488-495.
- Houston RD, Haley CS, Archibald AL, Cameron ND, Plastow GS, Rance KA. 2006. A polymorphism in the 5'-untranslated region of the porcine cholecystokinin type A receptor gene affects feed intake and growth. *Genetics* 174, 1555-1563.
- Hu ZL, Fritz ER, Reecy JM. 2007. AnimalQTLdb: a livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Research* 35, 604-609.
- Innis RB, Snyder SH. 1980. Distinct cholecystokinin receptors in brain and pancreas. : *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 77, 6917-6921.
- Kissileff HR, Pi-Sunyer FX, Thornton J, Smith GP. 1981. C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in man. *The American Journal of Clinical Nutrition* 34, 154-160.
- Lei M, Peng X, Zhou M, Luo C, Nie Q, Zhang X. 2008. Polymorphisms of the IGF1R gene and their genetic effects on chicken early growth and carcass traits. *BMC Genetics* 9, 70.
- Lei MM, Nie QH, Peng X, Zhang DX, Zhang XQ. 2005. Single nucleotide polymorphisms of the chicken insulin-like factor binding protein 2 gene associated with chicken growth and carcass traits. *Poultry Science* 84, 1191-1198.
- Leng L, Wang S, Li Z, Wang Q, Li H. 2009. A polymorphism in the 3' -flanking region of insulin-like growth factor binding protein 2 gene associated with abdominal fat in chickens. *Poultry Science* 88, 938-942.
- Li ZH, Li H, Zhang H, Wang SZ, Wang QG, Wang YX. 2006. Identification of a single nucleotide polymorphism of the insulin-like growth factor binding protein 2 gene and its association with

- growth and body composition traits in the chicken. *Journal of Animal Science* 84, 2902-2906.
- Martin MT, Fernández E, Rodríguez-Sinovas A, Goñalons E. 1995. Effects of cholecystokinin on chicken cecal motility: mechanisms involved. *Life Sciences* 56, 601-610.
- Martinez V, Jiménez M, Goñalons E, Vergara P. 1995. Modulation of the migrating myoelectric complexes by cholecystokinin and gastrin in the gastrointestinal tract of chickens. *Poultry Science* 74, 563-576.
- Miyasaka K, Kanai S, Ohta M, Kawanami T, Kono A, Funakoshi A. 1994. Lack of satiety effect of cholecystokinin (CCK) in a new rat model not expressing the *CCKAR* receptor gene. *Neuroscience Letters* 180, 143-146.
- Nie Q, Fang M, Xie L, Zhou M, Liang Z, Luo Z, Wang G, Bi W, Liang C, Zhang W, Zhang X. 2008. The PIT1 gene polymorphisms were associated with chicken growth traits. *BMC Genetics* 9, 20.
- Ohkubo T, Shamoto K, Ogino T, 2007. Structure and tissue distribution of cholecystokinin-1 receptor in chicken. *Journal of Poultry Science* 44, 98-104.
- Park K and Atchison M. 1991. Isolation of a candidate receptor/activator, NF-E1(YY-1, δ), that bind to the immunoglobulin k 3' enhancer immunoglobulin heavy-chain μ E1 site. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88, 9804-9808.
- And the Pérez-Enciso M, Misztal. I. 2004. Qxpak: a versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analyses. *Bioinformatics* 20, 2792-2798.
- Qu JT, Tang SQ, Sun DX, Zhang Y. 2009. Polymorphisms of three neuroendocrine-correlated genes associated with growth and reproductive traits in the chicken. *Poultry Science* 88, 722-727.
- 力丸宗弘, 佐々木修, 小出水規行, 小松恵, 高橋大希, 鈴木啓一, 高橋秀彰. 2013. 比内鶏の発育形質関連QTL解明とその検証 (第1報) - 比内鶏の発育形質に関するQTL解析 -. 秋田県畜産試験場研究報告 27, 27-33.
- Robinson SW, Dinulescu DM, Cone RD. 2000. Genetic models of obesity and energy balance in the mouse. *Annual Review of Genetics* 34, 687-745.
- Rodríguez-Sinovas A, Fernandez E, Manteca X, Fernández AG, Goñalons E. 1997. CCK is involved in both peripheral and central mechanisms controlling food intake in chickens. *The American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 272, R334-340.
- Rubin CJ, Zody MC, Eriksson J, Meadows JR, Sherwood E, Webster MT, Jiang L, Ingman M, Sharpe T, Ka S, Hallböök F, Besnier F, Carlborg O, Bed'hom B, Tixier-Boichard M, Jensen P, Siegel P, Lindblad-Toh K, Andersson L. 2010. Whole-genome resequencing reveals loci under selection during chicken domestication. *Nature* 464, 587-591.
- Sankaran H, Goldfine ID, Deveney CW, Wong KY, Williams JA. 1980. Binding of cholecystokinin to high affinity receptors on isolated rat pancreatic acini. *The Journal of Biological Chemistry* 255, 1849-1853.
- Satoh S, Furuse M, Choi YH, Okumura J. 1994. Cholecystokinin is not a major regulator in the digestive system in the chicken. *Cellular and Molecular Life Sciences* 50, 812-814.
- Savory CJ and Gentle MJ. 1980. Intravenous injections of cholecystokinin and caerulein suppress food intake in domestic fowls. *Experientia* 36, 1191-1192.
- Schroeder M, Zagoory-Sharon O, Lavi-Avnon Y, Moran TH, Weller A. 2006. Weight gain and maternal behavior in CCK1 deficient rats. *Physiology and Behavior* 89, 402-409.

- Shi Y, Seto E, Chang LS, and Shenk T. 1991. Transcriptional repression by YY1, a human GLI-kruippel-protein, and relief of repression by adenovirus E1A protein. *Cell* 67, 377-388.
- Shrivastava A, Calame K. 1994. An analysis of genes regulated by the multi-functional transcriptional regulator Yin Yang-1. *Nucleic Acids Research* 22, 5151-5155.
- UCSC Genome Browser Home. University of California, Santa Crus, USA. <http://genome.ucsc.edu/>. 2004.
- Uemoto Y, Sato S, Ohtake T, Sato S, Okumura Y, Kobayashi E. 2011. Ornithine decarboxylase gene is a positional candidate gene affecting growth and carcass traits in F2 intercross chickens. *Poultry Science* 90, 35-41.
- Xiao R and Cui Z J. 2004. Mutual dependence of VIP/PACAP and CCK receptor signaling for a physiological role in duck exocrine pancreatic secretion. *The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 286, R189-198.
- Zhang ZR, Liu YP, Yao YG, Jiang XS, Du HR, Zhu Q. 2009. Identification and association of the single nucleotide polymorphisms in calpain3 (CAPN3) gene with carcass traits in chickens. *BMC Genetics* 10, 10.