

トリ肉腫および白血病ウイルスのレセプター遺伝子 TVA における 品種間の遺伝子型およびアレル頻度の解析

佐藤慎一¹・大竹 剛¹・上本吉伸¹・山本力也¹・宮田 透¹・
鈴木恒平²・山下秀次³・三橋忠由⁴・小林栄治¹

¹ 独立行政法人家畜改良センター, 福島県西白河郡西郷村小田倉 961-8511

² 農林水産先端技術研究所, 茨城県つくば市上横場字一杯塚 305-0854

³ 東海大学農学部, 熊本県阿蘇郡南阿蘇村河陽 869-1404

⁴ 独立行政法人農業生物資源研究所, 茨城県つくば市観音台 305-8602

TVA 遺伝子は, トリ白血病肉腫ウイルスサブグループ A (ASLV-A) に対する感受性および抵抗性を決定する遺伝子であり, 感受性および抵抗性を示す変異 (それぞれ *a* 型および *b* 型 (4 bp の挿入)) が報告されている。本研究では, TVA 遺伝子の変異について, 独立行政法人家畜改良センターで保有しているニワトリの遺伝子型頻度およびアレル頻度を調査した。本研究で供試したニワトリ品種・系統群は, 白色レグホン (01 系統および 11 系統), ロードアイランドレッド (YS 系統), 白色プリマスロック (LA 系統), 横斑プリマスロック (XS 系統), ライトサセックス, アローカナ, 名古屋種, 三河種および軍鶏である。遺伝子型は新たにプライマーを設計し, 得られた PCR 産物の電気泳動パターンから判定した。また本研究では, これまでの報告以外のアレルが検出されたため, 各アレルについて塩基配列を決定した。本研究で用いた 9 品種 10 系統の集団から, 全部で 7 つの遺伝子型が検出された。本研究において, *a* 型および *b* 型アレル以外に, Genbank で登録されている *c* 型 (7 bp の挿入) および新規の *d* 型 (6 bp の欠損) アレルが検出された。本研究から, 白色プリマスロック (LA 系統), ライトサセックス, アローカナ, 名古屋種およびロードアイランドレッドでは, 完全に遺伝子型 *aa* で固定されており, 白色レグホン (11 系統) については, 遺伝子型頻度 0.98 とほとんどの個体が遺伝子型 *aa* であることがわかった。また, 白色レグホン (01 系統) では, 遺伝子型 *bb* に完全に固定されていた。軍鶏では, 遺伝子型 *ac* および *cc* が同程度の割合で存在していた。横斑プリマスロック (XS 系統) および三河種では, 遺伝子型 *aa*, *ad* および *dd* が存在していた。このように本研究から, TVA 遺伝子について新規の変異が検出され, 集団間で多様性を示すことが明らかとなった。

キーワード: TVA 遺伝子, 遺伝子型頻度, ニワトリ白血病ウイルス, 抗病性, ニワトリ

緒 言

病気に対する抵抗性は, ニワトリの育種において重要な目標の一つとなっている。特に感染症に対する感受性・抵抗性については, 肉用鶏および卵用鶏における飼養費用の増加や生産物の低下に大きな影響を与えている。実際に, 出荷時体重の増加や産卵率の増加を目標に選抜された個体群では, 病気に対する抵抗性や免疫能が低下していることが指摘されている (Knap and Bishop, 2000; McKay *et al.*, 2000)。

抗病性を改良するための遺伝的な方法として, 主に家系選抜が

知られている。これは病気に対する抵抗性の多くがポリジーン効果により支配されていると考えられているためである (Lamont, 1998)。マレック病に対する抵抗性の改良は, ニワトリにおける選抜実験の成功例の一つである (Cole, 1968)。しかしながら, 抗病性の選抜実験には, 時間, 労力, 施設など多くのコストがかかってしまうなど問題点がある。近年, DNA マーカーの情報が蓄積されるとともに統計学的手法も発達してきたため, 病気に対する抵抗性に影響を与える遺伝子の探索が行われてきた (Vallejo *et al.*, 1998; Yonash *et al.*, 1999; Abasht *et al.*, 2006; Uemoto *et al.*, 2009)。病気に対する抵抗性の原因変異もしくは原因変異と連鎖不平衡の関係である DNA マーカーを特定することができれば, マーカー利用選抜などを用いることで, 改良が困難な形質についても, 正確度の高い急速な改良が可能となる。

TVA 遺伝子は, トリ肉腫および白血病ウイルス (ASLV)-A に対する感受性および抵抗性を決定する遺伝子であり, ASLV-A が細胞内へと侵入するときのレセプターをコードしている。このレセプターの特徴として, 低密度リポタンパク質受容体 (LDLR)

2009年10月9日受付, 2010年3月1日受理

連絡者: 佐藤慎一

〒679-4017 兵庫県たつの市揖西町土師 954-1

独立行政法人家畜改良センター兵庫牧場

Tel: 0791-66-0801

Fax: 0791-66-0803

E-mail: s1sato@nlbc.go.jp

のリガンド結合ドメイン (LDL-A) を含んでいることがあげられる (Bates *et al.*, 1993; Young *et al.*, 1993)。TVA の細胞外ドメインに存在する LDL-A は、ASLV-A の侵入に際して重要な役割を持つ領域の一つであり、必要不可欠な役割を持つ (Bates *et al.*, 1993; Rong and Bates, 1995)。近年になり、TVA 遺伝子は第 28 番染色体に位置づけられることが報告された (Elleder *et al.*, 2004a)。TVA 遺伝子の完全長 cDNA 配列が Elleder *et al.* (2004b) により決定され、全長型および短縮型の選択的スプライシング変異が存在することが報告された。また、Elleder *et al.* (2004b) は、ASLV-A 抵抗性系統で 2 つの異なる変異 (TVA^r および TVA²) を報告した。TVA^r はエクソン 2 内に存在し、LDL-A ドメインのアミノ酸置換 (システインからトリプトファン) を引き起こす結果、立体構造が変化し受容体としての機能を著しく低下させる役割を持つと考えられている。TVA² はエクソン 1 内の 4 bp の挿入であり、フレームシフトにより受容体タンパク質を未成熟な状態で生成してしまう。

本研究では、ASLV-A 抵抗性を示す変異のうち、特にフレームシフトにより受容体タンパク質を未成熟な状態で生成する変異である TVA² に注目し、独立行政法人家畜改良センターで保有しているニワトリ品種・系統群で、TVA² 変異の遺伝子型頻度およびアレル頻度がどのように異なるのかを調査し、集団内の ASLV-A 抵抗性変異の頻度を把握することを目的とした。

材料と方法

1. 供試鶏

本研究で供試したニワトリ系統群は、独立行政法人家畜改良センター岡崎牧場で保有している白色レグホン (01 系統および 11 系統をそれぞれ 60 羽および 95 羽)、ロードアイランドレッド (YS 系統: 76 羽)、白色プリマスロック (LA 系統: 30 羽)、横斑プリマスロック (XS 系統: 50 羽)、ライトサセックス (30 羽)、アローカナ (30 羽)、名古屋種 (30 羽)、三河種 (30 羽) および独立行政法人家畜改良センター兵庫牧場で保有している軍鶏 (30 羽) である。

2. PCR 反応および電気泳動

ニワトリ TVA 遺伝子のエクソン 1 内の遺伝子型を判定するために、塩基配列 (GenBank accession no. AY531258) から、TVA エクソン 1 領域を DNA 増幅するためのプライマー分子として、新たにオリゴヌクレオチド (5'-CTGCGCGCCGTCGCCCGCT-3' および 5'-GGCCGCTGCACTCA CCGTTGCCG-3') を設計した (図 1)。

ゲノム DNA は、フェノール・クロロホルム法により血液から抽出し、20 ng/ μ l に調整した。PCR 反応は、フォワードプライマーおよびリバースプライマーを各 6.25 pmol、dNTP を各 0.2 mM、Tris-HCl (pH 8.3) を 10 mM、KCl を 50 mM、MgCl₂ を 1.5 mM、AmpliTaq Gold DNA ポリメラーゼ (Applied Biosystems Japan, Tokyo, Japan) を 0.375 U、合計 10 μ l で行った。PCR 反応条件は、94°C で 10 分に続いて、94°C を 30 秒、55°C を 30 秒、72°C を 30 秒で 35 サイクル行い、最後に 72°C で 5 分の伸張反応を行った。得られた PCR 産物は、8% ポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動を行い、遺伝子型判定を行った。

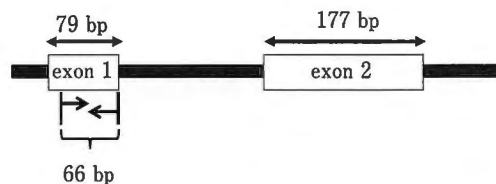


図 1. TVA 遺伝子におけるプライマーの設定部位
TVA 遺伝子のエクソン 1 とエクソン 2 を示す。プライマーはエクソン 1 内に設定し、PCR 産物は 66 bp となる。

3. 塩基配列の解析

本研究では、エクソン 1 内のアレルのうち、Elleder *et al.* (2004b) の報告が示す a 型アレルに相当する 66 bp のアレルとは異なる DNA が増幅されたため、増幅されたそれぞれの DNA 断片について塩基配列を決定した。上記で記した方法で PCR 反応を行い、PCR 産物については、ABI BigDye Terminator Sequencing kit v3.1 (Applied Biosystems Japan, Tokyo, Japan) を用いてダイレクトシーケンスを行った。シーケンスプライマーは PCR 反応に用いたプライマーで行った。シーケンス反応条件は、94°C を 20 秒、55°C を 10 秒、60°C を 4 分で 35 サイクル行なった。塩基配列は ABI PRISM 3730 DNA Sequencer and Sequencing Analysis 3.4 (Applied Biosystems Japan, Tokyo, Japan) を用いて決定した。

結果および考察

1. 遺伝子型について

TVA エクソン 1 配列の電気泳動像について、図 2 に示した。本研究で用いた 9 品種 10 系統の集団から、全部で 7 つの遺伝子型が検出された。Elleder *et al.* (2004b) は、2 つのアレル (感受性アレル TVA^s および抵抗性アレル TVA^{r2}) を報告しているが、本研究では、塩基配列の結果から、この 2 つ以外のアレルが検出され、図 3 の 4 タイプのアレルが特定された。Elleder *et al.* (2004b) は、本研究で検出された a 型アレルを TVA^s、b 型アレルを TVA^{r2} として報告しているが、本研究では、新たに c 型アレル (7 bp の挿入: TVA^c) および d 型アレル (6 bp の欠損: TVA^d) が検出された。c 型アレルについては、Genbank (accession no. BM486807 および BM488087) で登録されているが、d 型アレルについては、本研究で初めて検出された。

a, b, c および d 型アレルのアミノ酸配列について、図 3 に示す。Elleder *et al.* (2004b) は、TVA^{r2} はエクソン 1 内に 4 bp の挿入を起こし、フレームシフトにより受容体タンパク質が未成熟な状態で生成すると報告している。本研究で検出された c 型アレルは、7 bp の挿入であり、この挿入によりフレームシフトが起こる。図 3 より、アミノ酸配列を比較したところ、b 型アレルと似た配列を示し、感受性を示す a 型アレルとは異なることから、この c 型アレルについても抵抗性を示す可能性が示唆される。しかしながら、これまで c 型アレルを持つ個体の表型値に関する報告がないため、今後、表型値との関係について調査する必要がある。d 型アレルについては、6 bp の欠損であり、この欠損が起こるこ

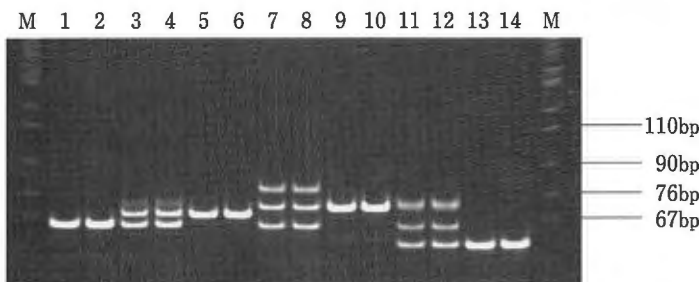


図 2. TVA 遺伝子エキソン 1 における PCR 産物の電気泳動像
M は DNA マーカーのサイズスタンダードを示す。アレル *a*, *b*, *c* および *d* をそれぞれ感受型, 4 bp 挿入, 7 bp 挿入および 6 bp 欠損アレルとする。列番号のうち, 1 と 2 は遺伝子型 *aa*, 3 と 4 は遺伝子型 *ab*, 5 と 6 は遺伝子型 *bb*, 7 と 8 は遺伝子型 *ac*, 9 と 10 は遺伝子型 *cc*, 11 と 12 は遺伝子型 *ad*, 並びに, 13 と 14 は遺伝子型 *dd* を示す。遺伝子型 *ab*, *ac* および *ad* ではそれぞれ 74 bp, 79 bp および 74 bp 付近にマイナーバンドが見られた。

<i>a</i> 型:	ATGGTGCGGTTGTTGGAGCTGCTGGTGCTGCTGCGCGCCGTCGCCCGG	48
	M V R L L E L L V L L R A V R P	
<i>b</i> 型:	ATGGTGCGGTTGTTGGAGCTGCTGGTGCTGCTGCGCGCCGTCGCCCGG	48
	* * * * * * * * * * * * * * * * * *	
<i>c</i> 型:	ATGGTGCGGTTGTTGGAGCTGCTGGTGCTGCTGCGCGCCGTCGCCCGG	48
	* * * * * * * * * * * * * * * * * *	
<i>d</i> 型:	ATGGTGCGGTTGTTGGAGCTGCTGGTGCTGCTGCGCGCCGTCGCCCGG	48
	* * * * * * * * * * * * * * * * * *	
<i>a</i> 型:	————CTGCCACCCACCTCCGCGCCGGCAACG	79
	L P T P T S A P G N	
<i>b</i> 型:	CTCG—CTGCCACCCACCTCCGCGCCGGCAACG	83
	L A A H P H L R A R Q	
<i>c</i> 型:	CTGCCACTGCCACCCACCCCGCGCCGGCAACG	86
	L P T A H P H P R S R Q	
<i>d</i> 型:	————CTGCCACCC—GCGCCGGCAACG	73
	* * * * - - * * * *	

図 3. TVA 遺伝子エキソン 1 のアレルおよびアミノ酸配列予測
a 型は感受型 (TVA^s), *b* 型は 4 bp 挿入 (TVA^{rs}), *c* 型は 7 bp 挿入 (TVA^{rs}), *d* 型は 6 bp 欠損アレル (TVA^d) を示し, 数字は塩基数を示す。アミノ酸配列において, * は *a* 型と同じ配列, — は欠損部位を示す。

とで N 末端側の細胞外ドメインのアミノ酸が 2 つ欠損するが, この領域は LDL-A 領域ではないことから, ASLV-A の感受性・抵抗性に影響を与えないアレルであることが推測される。ウズラでは TVA の塩基配列において, 欠損がみられた配列近傍で 2 アミノ酸を欠損しているが, ASLV-A に対して感受性を示す (Elleder *et al.*, 2004b)。しかしながら, これまで *d* 型アレルを持つ個体についても, 表型値との関係についての報告がないため, 今後調査していく必要がある。

2. 品種・系統ごとの対立遺伝子頻度の比較

本研究では, 白色レグホン (11 系統および 01 系統), ロードアイランドレッド (YS 系統), 白色プリマスロック (LA 系統), 横斑プリマスロック (XS 系統), ライトサセックス, アローカナ, 名古屋種, 三河種および軍鶏の計 9 品種 10 系統について, TVA 遺伝子エキソン 1 のアレルについて調査を行った。各品種の調査個体数, 遺伝子型頻度およびアレル頻度については, 表 1 に記している。

本研究では, 白色プリマスロック (LA 系統), ライトサセック

ス, アローカナ, 名古屋種およびロードアイランドレッドでは, 完全に遺伝子型 *aa* で固定されており, 白色レグホン (11 系統) については, 遺伝子型頻度 0.98 とほとんどの個体が遺伝子型 *aa* であった。*a* 型アレルは, 感受性アレルであることから, 本集団の個体群は, ASLV-A による感染が起こる可能性が示唆される。実際に, Uemoto *et al.* (2009) は, 本集団で用いた白色レグホン (11 系統) およびロードアイランドレッド (YS 系統) の各系統を用いてラウス肉腫ウイルス (RSV) A 株の感染試験を行ったところ, 腫瘍がそれぞれ 84.0% および 93.1% の高い割合で形成された。RSV は *v-src* 遺伝子が存在しているという違いがあるが, ASLV に属しており, RSV と ASLV-A はともに同じ受容体を介して細胞内に進入することが報告されている (Crittenden *et al.*, 1967)。このことから, 本集団で用いた品種・系統のうち, 遺伝子型 *aa* を持つ個体については, Elleder *et al.* (2004b) と同様に ASLV-A に対して感受性を持つことが示唆される。

白色レグホン (01 系統) では, 遺伝子型 *bb* に完全に固定されていた。*b* 型アレルは, 抵抗性アレルであることから, ASLV-A

表 1. 各品種・系統における調査個体数, 遺伝子型頻度およびアレル頻度

品種・系統	個体数	遺伝子型頻度 ¹							アレル頻度 ¹			
		aa	ab	ac	ad	bb	cc	dd	a	b	c	d
白色プリマスロック (LA 系統)	30	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
ライトサセックス	30	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
アローカナ	30	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
名古屋種	30	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
ロードアイランドレッド (YS 系統)	76	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
白色レグホン (01 系統)	60	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
白色レグホン (11 系統)	95	0.98	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.98	0.02	0.00	0.00
軍鶏	30	0.00	0.00	0.53	0.00	0.00	0.47	0.00	0.27	0.00	0.73	0.00
横斑プリマスロック (XS 系統)	50	0.06	0.00	0.00	0.38	0.00	0.00	0.56	0.25	0.00	0.00	0.75
三河種	30	0.20	0.00	0.00	0.67	0.00	0.00	0.13	0.53	0.00	0.00	0.47

¹各アレル a, b, c, d がそれぞれ, 感受性アレル, 4 bp 挿入アレル, 7 bp 挿入アレル, 6 bp 欠損アレルを示している。

による感染が起こらない可能性がある。実際に, この系統について, 58 羽を用いて RSV-A 株の感染試験を行ったところ, 感染率は 0% であった (データ未提示)。このことから遺伝子型 bb を持つ個体については, Elleder *et al.* (2004b) と同様に ASLV-A に対して抵抗性を持つことが示唆される。

軍鶏では, 遺伝子型 ac および cc が同程度の割合で存在し, c 型アレルのアレル頻度が 0.73 と高頻度であった。c 型アレルは 7 bp の挿入であり, この挿入によりフレームシフトがおこり, b 型アレルと似たアミノ酸構造をとることから抵抗性を示す可能性がある。しかしながら, c 型アレルと表型値との関連性についてはこれまでに報告がないことから, 今後, この品種集団を用いて解析することで c 型アレルの表型値に与える影響について調査する必要がある。

横斑プリマスロック (XS 系統) および三河種では, 遺伝子型 aa, ad および dd が存在していた。特に, 横斑プリマスロックでは d 型アレルの頻度が 0.75 と高い値を示していた。d 型アレルは 6 bp の欠損であり, アミノ酸 2 個を欠損すると推定される。この欠損領域は, 細胞外ドメインであるが LDL-A 領域外であり, ASLV-A の感受性・抵抗性には影響を与えないと考えられる。そのため, d 型アレルを持つ個体は, a 型アレルと同様に感受性を示す可能性がある。しかしながら, この d 型アレルは本研究で初めて検出されたアレルであるため, これまで表型値との関連性については調査されていない。そのため, 今後, この品種集団を用いて相関解析を行うことで, d 型アレルが表型値に与える影響について調査していく必要がある。

Elleder *et al.* (2004b) は, ASLV-A 抵抗性系統で 2 つの異なる変異を報告している。TVA^r はエクソン 2 内に存在し, LDL-A ドメインのアミノ酸置換 (システインからトリプトファン) を引き起こす結果, 立体構造を変化させ ASLV-A の感染を著しく低下させる役割を持つ。しかしながら, この変異から生成される変異型タンパク質のうち, 少量ではあるが感受性型とよく似た構造を持つタンパク質も同時に形成される (Elleder *et al.*, 2004b)。この少量のタンパク質は感受性型と同様に ASLV-A レセプターとしての働きを持つため, 発現量の多い場合には, 感染を起こすことが

指摘されている (Elleder *et al.*, 2004b)。そのため, 本研究では, 2 つの変異型のうち, タンパク質を未成熟な状態で生成する TVA^r に着目して, 遺伝子型頻度およびアレル頻度について調査した。しかしながら, 本研究で確認された TVA^r と TVA^d について, ASLV-A に対する感受性・抵抗性は不明である。そのため, 今後はエクソン 2 内の遺伝子配列, 特に TVA^r についても多型解析を行い, TVA^r および TVA^d との関連性を調査する必要がある。

本研究では, ASLV-A の感染に影響を与える遺伝子として報告されている TVA 遺伝子について, 感受性・抵抗性を示すエクソン 1 のアレルを調査することで, 家畜改良センターが所有する鶏群の遺伝的組成を把握することを目的とした。本研究では, Elleder *et al.* (2004b) が報告したアレルとは異なる 2 つのアレルを検出したことから, 今後, この 2 つのアレルについて, ASLV-A に対する感受性・抵抗性を調査していく必要がある。また, 各品種・系統の遺伝的組成については, 品種・系統間で異なる遺伝子型を示していた。今後, 改良が困難な抗病性形質の有用な情報となるよう, 遺伝子型と感染試験に対する表現型との関係についても情報を蓄積していく必要がある。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり, サンプル収集にご協力頂きました家畜改良センター岡崎牧場, 並びに兵庫牧場の方々に感謝の意を表します。

引用文献

- Abasht B, Dekkers JC and Lamont SJ. Review of quantitative trait loci identified in the chicken. *Poultry Science*, 85 : 2079-2096. 2006.
- Bates P, Young JA and Varmus HE. A receptor for subgroup A Rous sarcoma virus is related to the low density lipoprotein receptor. *Cell*, 74 : 1043-1051. 1993.
- Cole RK. Studies on genetic resistance to Marek's disease. *Avian Diseases*, 12 : 9-28. 1968.
- Crittenden LB, Stone HA, Reamer RH and Okazaki W. Two

- loci controlling genetic cellular resistance to avian leukosis-sarcoma viruses. *Journal of Virology*, 1 : 898-904. 1967.
- Elleder D, Plachy J, Hejnar J, Geryk J and Svoboda J. Close linkage of genes encoding receptors for subgroups A and C of avian sarcoma/leucosis virus on chicken chromosome 28. *Animal Genetics*, 35 : 176-181. 2004a.
- Elleder D, Melder DC, Trejbalova K, Svoboda J and Federspiel MJ. Two different molecular defects in the Tva receptor gene explain the resistance of Two tva^r lines of chickens to infection by subgroup A avian sarcoma and leukosis viruses. *Journal of Virology*, 78 : 13489-13500. 2004b.
- Knap PW and Bishop SC. Relationships between genetic change and infectious disease in domestic livestock. In : *The challenge of genetic change in animal production* (Hill WG, Bishop SC, McGuirk B, McKay JC, Simm G and Webb AJ eds.) no. 27. pp. 65-80. Occasional publication. British Society of Animal Science. Edinburgh. 2000.
- Lamont SJ. Impact of genetics on disease resistance. *Poultry Science*, 77 : 1111-1118. 1998.
- McKay JC, Barton NF, Koerhuis ANM and McAdam J. The challenge of genetic change in the broiler chicken. In : *The challenge of genetic change in animal production* (Hill WG, Bishop SC, McGuirk B, McKay JC, Simm G and Webb AJ eds.) no. 27. pp. 1-7. Occasional publication. British Society of Animal Science. Edinburgh. 2000.
- Rong L and Bates P. Analysis of the subgroup A avian sarcoma and leukosis virus receptor : the 40-residue, cysteine-rich, low-density lipoprotein receptor motif of Tva is sufficient to mediate viral entry. *Journal of Virology*, 69 : 4847-4853. 1995.
- Uemoto Y, Saburi J, Sato S, Odawara S, Ohtake T, Yamamoto R, Miyata T, Suzuki K, Yamashita H, Irina C, Plastow G, Mitsuhashi T and Kobayashi E. Quantitative trait loci affecting Rous Sarcoma Virus Induced Tumor Regression Trait in F2 Intercross Chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22 : 1359-1365. 2009.
- Vallejo RL, Bacon LD, Liu HC, Witter RL, Groenen MA, Hillel J and Cheng HH. Genetic mapping of Marek's disease virus induced tumors in F2 intercross chickens. *Genetics*, 148 : 349-360. 1998.
- Yonash N, Bacon LD, Witter RL and Cheng HH. High resolution mapping and identification of new quantitative trait loci (QTL) affecting susceptibility to Marek's disease. *Animal Genetics*, 30 : 126-135. 1999.
- Young JA, Bates P and Varmus HE. Isolation of a chicken gene that confers susceptibility to infection by subgroup A avian leukosis and sarcoma viruses. *Journal of Virology*, 67 : 1811-1816. 1993.

The Distribution of Genotypic and Allelic Frequencies among Breeds about *TVA* Receptor Gene for the Subgroup A Avian Sarcoma and Leukosis Viruses

Shin-ichi Sato¹, Tsuyoshi Ohtake¹, Yoshinobu Uemoto¹, Rikiya Yamamoto¹, Toru Miyata¹, Kohei Suzuki², Hideji Yamashita³, Tadayoshi Mitsuhashi⁴ and Eiji Kobayashi¹

¹ National Livestock Breeding Center, Nishigo, Fukushima, 961-8511

² STAFF Institute, Ippaizuka, Tsukuba, Ibaraki, 305-0901

³ Department of Animal Science, Tokai University, Kawayo, Aso-gun, Kumamoto, 869-1404

⁴ National Institute of Livestock and Grassland Sciences, Tsukuba, Ibaraki, 305-0901

TVA gene is closely associated on the susceptibility and resistance of subgroup A avian sarcoma and leukosis viruses (ASLV-A), and two different mutations of exon 1, which were type *a* allele (wild type) and type *b* allele (4bp insertion), were identified between susceptible line and resistant line, respectively. In this study, we investigated the distribution of genotypic and allelic frequencies in White Leghorn (line 01 and line 11), Rhode Island Red (YS line), White Plymouth Rock (LA line), Barred Plymouth Rock (XS line), Light Sussex, Araucana, Nagoya, Mikawa, and Shamo, which were maintained at the National Livestock Breeding Center (NLBC). The mutation region segments were amplified by the polymerase chain reaction (PCR), and the PCR product were examined on polyacrylamide gel electrophoresis and sequenced in these populations. In this study, a total of seven genotypes were detected, and four alleles were identified in these populations ; type *a* allele, type *b* allele, one known type *c* allele (7bp insertion) and one novel type *d* allele (6 bp deletion). In this study, White Plymouth Rock (LA line), Light Sussex, Araucana, Nagoya and Rhode Island Red (YS line) are completely fixed as genotype *aa*, and White Leghorn (line 11) are also almost fixed. White Leghorn (line 01) was fixed as genotype *bb*. For Shamo, genotype *ac* and *cc* were detected at the same rate of genotypic frequencies. We also detected genotype *aa*, *ad* and *dd* in Barred Plymouth Rock (XS line) and Mikawa. These results indicated that the novel mutations of *TVA* gene were found and these mutations were variable in these populations.

(*Japanese Journal of Poultry Science*, 47 : J65-J70, 2010)

Key words : avian sarcoma and leukosis viruses, chicken, disease resistance, genotype frequencies, *TVA* gene