

## 烏骨鶏と白色レグホーンにおけるプロラクチン遺伝子領域周辺の連鎖不平衡ブロックについて

岳 佳妮<sup>1</sup>・松田莉朋<sup>1</sup>・ローシャン ジャーハン<sup>1,2</sup>・下桐 猛<sup>3</sup>・穴井豊昭<sup>1</sup>・和田康彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 佐賀大学農学部, 佐賀県佐賀市本庄町 840-8502

<sup>2</sup> 鹿児島大学大学院連合農学研究科, 鹿児島県鹿児島市郡元 890-8580

<sup>3</sup> 鹿児島大学農学部, 鹿児島県鹿児島市郡元 890-8580

白色レグホーンのプロラクチン遺伝子のプロモーター領域には、烏骨鶏や赤色野鶏には認められていない 24-bp の挿入が存在する。また、大分県畜産試験場の烏骨鶏選抜集団第 4 世代の 311 羽には In/In 型の個体は存在しないことが報告されている。そこで、本研究では烏骨鶏の就巢性と産卵率の改良を目的として、プロラクチン遺伝子領域の周辺に 1 塩基多型マーカーを開発し、烏骨鶏と他の鶏品種との間での連鎖不平衡ブロックについて検討した。24-bp の挿入の有無に加えて、プロラクチン遺伝子の転写開始点上流 (cPRO1d; -3764) と転写終了点下流 (cPRO5b; +607, cPRO2b; +3643) の 3 か所の 1 塩基多型について、日本各地から収集した烏骨鶏 53 羽, 日本在来品種 19 羽, レイヤー 23 羽, その他の品種 22 羽の遺伝子型判定を行った。その結果, cPRO2b では烏骨鶏の遺伝子型は GG 37 羽, GA 14 羽, AA 2 羽であり, レイヤーでは GG 0 羽, GA 1 羽, AA 22 羽であった。cPRO5b においても烏骨鶏で GG 36 羽, GC 13 羽, CC 4 羽であり, レイヤーでは全個体が AA 型であった。烏骨鶏とレイヤーとの間の  $\chi^2$  値は cPRO1d で 24.0, In/Del 変異で 76.0, cPRO5b で 59.9, cPRO2b で 62.9 とすべて有意であることからプロラクチン遺伝子領域周辺に連鎖不平衡ブロックが存在することが明らかとなった。一方, 烏骨鶏とその他の品種の間の  $\chi^2$  値は全てのマーカーで有意ではなかった。しかし烏骨鶏と日本在来品種の間では In/Del 変異と cPRO5b において 5% 水準で有意であった。また, レイヤーとその他の品種の間およびレイヤーと日本在来品種の間の  $\chi^2$  値は全て 1% 水準で有意であった。

キーワード: 烏骨鶏, プロラクチン遺伝子, 連鎖不平衡ブロック, 1 塩基多型, 就巢性

### 緒 言

近年の健康志向や自然食品ブームで、烏骨鶏の卵は健康食品として高額で取引されている。一般に卵用鶏が年間約 300 個以上産卵するのに対し、烏骨鶏は年間 50-200 個程度しか産卵しない (Nirasawa *et al.*, 1997; 和田ら, 2008b)。烏骨鶏の産卵率が低いのは烏骨鶏の就巢性が強いと考えられている。この就巢性は主に脳下垂体前葉のプロラクチン分泌細胞によって生産され分泌されるプロラクチン (PRL) によって誘起されると言われている。

プロラクチンとはポリペプチド・ホルモンであり、1) 水と電解質代謝、2) 成長と発育、3) 内分泌腺システムと新陳代謝、4) 脳、5) 行動、6) 繁殖、7) 免疫調整などの生理作用の調節に関与すると考えられているが、鳥類で最も研究されたプロラクチンの生理作用は抱卵行動との関係についてである (Leclerc *et al.*, 2007)。

家禽の抱卵行動の開始はプロラクチン分泌の増加によって誘導され、卵胞の発育の退行と卵生産の低下が起こる (Ishida *et al.*, 1991)。また、雌鶏の血漿プロラクチン濃度は、抱卵中高い値で維持されるが孵化とともに減少する (Sharp *et al.*, 1988)。

Jiang *et al.* (2005) はプロラクチン遺伝子のプロモーター領域について、烏骨鶏や白色レグホーン、中国在来品種について塩基配列の多型性を検討した結果、-377~-354 (GeneBank accession no. AB11434) では烏骨鶏や他の中国在来鶏に対して白色レグホーンでは 24-bp の挿入が存在することを報告している。彼らは品種毎に 24-bp の挿入の有無について遺伝子型頻度を算出し、烏骨鶏のように就巢性の強い品種では In/In 型の個体がほとんど存在しないことから、この 24-bp の挿入の有無が就巢性と関係があるのではないかと述べている。

和田ら (2008a) は日本で飼育されている 53 羽の烏骨鶏について 24-bp の挿入の有無についてタイピングした結果、In/In 型の個体が存在しなかったことを報告した。また、遺伝子頻度から予想される烏骨鶏と他の品種 (日本在来品種 19 羽, コマーシャル品種 6 羽) の遺伝子型別の期待数と実測数を比較するために、 $2 \times 3$  のカイ二乗検定を行った。その結果、この遺伝子座においては、烏骨鶏と他の鶏品種で遺伝子型頻度において有意な差異があることを明らかにした。

和田ら (2008b) はプロラクチン遺伝子のプロモーター領域の

2011 年 2 月 25 日受付, 2011 年 7 月 13 日受理

連絡者: 和田康彦

〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄町

佐賀大学農学部

Tel: 0952-28-8787

Fax: 0952-28-8787

E-mail: ywada@cc.saga-u.ac.jp

24-bp の挿入の有無について、大分県畜産試験場の烏骨鶏選抜集団第 4 世代の 311 羽について遺伝子型判定を行った結果、Jiang *et al.* (2005) と和田ら (2008a) と同様に In/In 型の個体が存在しなかったことを報告した。また、Jiang *et al.* (2005) はニワトリにおけるプロラクチン遺伝子およびプロラクチンレセプター遺伝子の多型と就巢性の関連について、白色レグホーン、Hy-Line レイヤー、Avian ブロイラー、中国在来品種 (烏骨鶏など) について検討した。その結果、プロラクチン遺伝子プロモーター領域での 24-bp の挿入については産卵率との間の関連性を確認したが、プロラクチンレセプターの 3 つの SNP では就巢性との間で有意な関連性が認められなかった。

そこで、本研究では烏骨鶏の就巢性を除去し、産卵率を改良することを旨として、プロラクチン遺伝子プロモーター領域の In/Del 変異の他にプロラクチン遺伝子領域とその周辺に 3 つの 1 塩基多型マーカーを開発し、烏骨鶏と他の鶏品種との間の連鎖不平衡について検討した。

## 材料と方法

日本各地から収集した烏骨鶏 53 羽 (白羽 42 羽, 黒羽 11 羽), 日本在来品種 19 羽 (愛媛地鶏 2 羽, 薩摩鶏 2 羽, 名古屋種 5 羽, 糸毛チャボ 4 羽, 比内鶏 2 羽, 土佐九斤 2 羽, シャモ 2 羽) およびレイヤー 23 羽 (白色レグホーン 2 羽, コマーシャルレイヤー 21 羽), その他 22 羽 (白色プリマスロック 11 羽, ロードアイランドレッド 8 羽, 交雑品種 1 羽, 横斑プリマスロック 2 羽) を利用

した。

Pure Gene キット (フナコシ) を使用し、メーカー指定のプロトコルに従って各個体の全血からゲノム DNA を抽出した。ニワトリの全ゲノムシーケンスからプロラクチン遺伝子の転写開始点上流と転写終了点下流に PCR プライマーを開発し、これらのゲノム DNA をテンプレートとした PCR を行い、Big Dye ターミネーターサイクルシーケンシングキット (ABI BigDye Ver.3.1) を用いた PCR ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、1 塩基多型を探索した。その結果、転写開始点上流 (cPRO1d; -3764), 転写終了点下流 (cPRO5b; +607, cPRO2b; +3643) の 3 か所に 1 塩基多型を発見した。これらの PCR のプライマーとアニーリング温度を表 1 に、各々の 1 塩基多型の位置を図 1 に示した。

In/Del 変異については和田ら (2008b) と同様の方法で電気泳動のバンド位置より 24-bp の挿入の有無を判定した。cPRO1d と cPRO2b については、PCR ダイレクトシーケンス法で塩基配列を解読して遺伝子型を決定した。cPRO5b についてはセロリから抽出した CEL I エンドヌクレアーゼによる TILLING 法 (McCallum *et al.*, 2000) を用いたジェノタイピングを行った。

各マーカーのタイピング結果から遺伝子型頻度を算出し、各個体を「烏骨鶏」、「日本在来品種」、「レイヤー」および「その他の品種」の 4 グループに分けて、それぞれの組み合わせについて、遺伝子型別の羽数分布に差があるかどうかをカイ二乗検定によって検討した。

表 1. 本研究で用いた PCR 用のプライマーセット

プライマー	塩基配列	サイズ	アニーリング温度 (°C)
cPRO1d2F	CCA GGC ACC TGG TAT CAG AT	20	59
cPRO1d2R	AGC TCC ACT GGT GCA CAT TT	20	
cPRO5bF	CAT TTC TCT CTG CGC TCC TC	20	62
cPRO5bR	AAC TTT GAA AAC CGG GTG TG	20	
cPRO2bF	TCC TGA AGA CTC AAG CTG ACC	21	62
cPRO2bR	CCC TTA CCC ATC TGC TTT CA	20	
PRLpro2F	GGT GGG TGA AGA GAC AAG GA	20	60
PRLpro2R	TGC TGA GTA TGG CTG GAT GT	20	

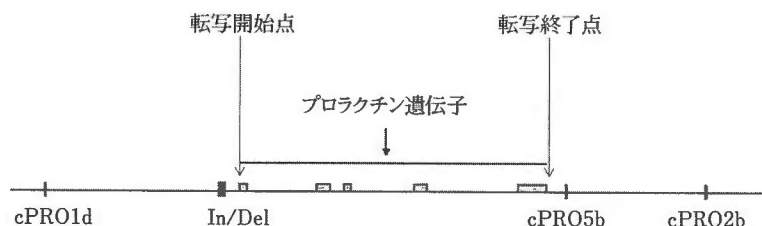


図 1. 烏骨鶏におけるプロラクチン遺伝子プロモーター領域の In/Del 変異とプロラクチン遺伝子の周辺領域の 1 塩基多型。24-bp の挿入 (転写開始点上流-377~-354, GeneBank accession no. AB11434), cPRO1d (転写開始点上流-3764), cPRO5b (転写終了点下流+607), cPRO2b (転写終了点下流+3643)。

連鎖不平衡解析ソフトウェア EH (<http://linkage.rockefeller.edu/ott/eh.htm>) を用いて common disease-common variant-common origin hypothesis を前提とした、ハプロタイプ推定による連鎖不平衡検定 (Marchini *et al.*, 2006) を実施した。ここで、In/Del 変異, cPRO2b, cPRO5b について、就巢性のある烏骨鶏のデータを「case」として、烏骨鶏以外のデータを「control」とし、全体のデータを「case+control」として、それぞれの尤度比を得て、以下の式で T を計算した。 $\chi^2$  は T の 2 倍になる。

$$T = \ln(L, \text{cases}) + \ln(L, \text{controls}) - \ln(L, \text{cases} + \text{controls})$$

就巢性のないレイヤーとそれ以外についても、ハプロタイプの頻度を算出し、連鎖不平衡の分析を行った。

### 結 果

各品種の遺伝子型判定の結果を表 2 に示した。In/Del 変異では烏骨鶏の遺伝子型は Del/Del 型 46 羽, In/Del 型 7 羽, In/In 型 0 羽であり、大きく偏っていた。また、日本在来品種の遺伝子型は Del/Del 型 10 羽, In/Del 型 6 羽, In/In 型 3 羽, その他の品種の遺伝子型は Del/Del 型 18 羽, In/Del 型 3 羽, In/In 型 1 羽であり、烏骨鶏の遺伝子型の結果と同様に Del/Del 型に偏っていた。一方、レイヤーの遺伝子型は Del/Del 型 0 羽, In/Del 型 0

羽, In/In 型 23 羽であり、烏骨鶏とは異なり In/In 型に偏った。

cPRO2b では烏骨鶏の遺伝子型は GG 37 羽, GA 14 羽, AA 2 羽と GG 型に偏った。日本在来品種の遺伝子型は GG 8 羽, GA 9 羽, AA 2 羽, その他の品種の遺伝子型は GG 13 羽, GA 6 羽, AA 3 羽であり、烏骨鶏の遺伝子型パターンと類似していた。一方、レイヤーでは GG 0 羽, GA 1 羽, AA 22 羽と烏骨鶏とは異なり AA 型に偏った。

cPRO5b においては烏骨鶏で GG 37 羽, GC 14 羽, CC 2 羽と GG 型に偏った。日本在来品種は GG 6 羽, GC 13 羽, CC 0 羽, その他の品種は GG 9 羽, GC 10 羽, CC 3 羽とヘテロ型が最も個体数が多く、レイヤーでは全個体が CC 型であった。

cPRO1d においては、烏骨鶏で GG 9 羽, GA 23 羽, AA 21 羽と GG 型の個体が少なかったが、日本在来品種で GG 7 羽, GA 11 羽, AA 1 羽, その他の品種で GG 7 羽, GA 12 羽, AA 3 羽と烏骨鶏とは異なり AA 型の個体が少なかった。一方、レイヤーでは全ての個体が AA 型であった。

烏骨鶏×レイヤー, 烏骨鶏×その他の品種, 烏骨鶏×日本在来品種, レイヤー×その他の品種, レイヤー×日本在来鶏, その他の品種×日本在来品種についてカイ二乗検定を行った結果を表 3 に示した。烏骨鶏×レイヤー間での  $\chi^2$  値は cPRO1d で 24.0, In/Del 変異で 76.0, cPRO5b で 59.9, cPRO2b で 62.9 と高度にすべ

表 2. グループ別の遺伝子型判定結果

グループ	遺伝子型	cPRO1d	In/Del	cPRO5b	cPRO2b
烏骨鶏	GG/SS*/GG/GG	9	46	37	37
	GA/SW**/GC/GA	23	7	14	14
	AA/WW/CC/AA	21	0	2	2
日本在来品種	GG/SS/GG/GG	7	10	6	8
	GA/SW/GC/GA	11	6	13	9
	AA/WW/CC/AA	1	3	0	2
レイヤー	GG/SS/GG/GG	0	0	0	0
	GA/SW/GC/GA	0	0	0	1
	AA/WW/CC/AA	23	23	23	22
その他の品種	GG/SS/GG/GG	7	18	9	13
	GA/SW/GC/GA	12	3	10	6
	AA/WW/CC/AA	3	1	3	3

\* S ; 24-bp deletion, \*\* W ; 24-bp insertion

表 3. 遺伝子型頻度における各グループ間の  $\chi^2$  値

	cPRO1d	IN/DEL	cPRO5b	cPRO2b
烏骨鶏×レイヤー	24.0**	76.0**	59.9**	62.9**
烏骨鶏×その他の鶏品種	5.3 <sup>NS</sup>	2.5 <sup>NS</sup>	4.7 <sup>NS</sup>	2.5 <sup>NS</sup>
烏骨鶏×日本在来品種	8.5 <sup>NS</sup>	13.1*	12.1*	4.8 <sup>NS</sup>
レイヤー×その他の鶏品種	34.4**	41.2**	34.4**	31.0**
レイヤー×日本在来品種	38.1**	31.3**	42.0**	31.0**
その他の鶏品種×日本在来品種	0.8 <sup>NS</sup>	4.1 <sup>NS</sup>	3.8 <sup>NS</sup>	1.8 <sup>NS</sup>

\*\* :  $P < 0.01$ , \* :  $P < 0.05$ , <sup>NS</sup> : not significant

て有意であった。一方、烏骨鶏とその他の品種の間の $\chi^2$ 検定の結果では全てのマーカーで有意ではなかったが、烏骨鶏と日本在来品種との間の $\chi^2$ 値の結果では In/Del 変異と cPRO5b において 5% 水準で有意であった。また、レイヤーとその他の品種の間およびレイヤーと日本在来品種の間の $\chi^2$ 値では全て 1% 水準で有意であった。

In/Del 変異, cPRO5b, cPRO2b において, EH プログラムを用いたハプロタイプの頻度推定から得られた連鎖不平衡検定の結果について, 「烏骨鶏とそれ以外」では case (烏骨鶏) で -75.19, controls (それ以外) で -172.12 であり, 「レイヤーとそれ以外」では case (レイヤー) で -4.25, controls (それ以外) で -189.64 であった。また, それぞれの $\chi^2$ 値は 75.12, 181.96 で, どちらも 1% 水準で非常に高い有意性が認められた。

## 考 察

就巢性の遺伝は非常に複雑であり, 一部の鳥類では就巢性の発生を人為淘汰によって効果的に減らすことができるが, その過程はきわめて長くかかると言われている。また, 就巢性の強い烏骨鶏を白色レグホーンのように産卵率で改良すると, 薬用鶏としての烏骨鶏の特性が失われてしまう可能性も否定できない。

プロラクチンは雌鶏の抱卵行動の開始と維持に重要な役割を演じる (Sharp *et al.*, 1988 ; March *et al.*, 1994)。上昇した血中プロラクチンの濃度は就巢性の発現と関連しており (Burke and Dennison, 1980), 抱卵中では下垂体前葉で分泌されるプロラクチン mRNA は一番高いレベルに至ることが報告されている (Talbot *et al.*, 1991)。これはプロラクチンが就巢性の発現と維持において重要であることを意味している。

Dunn *et al.* (1998) はニワトリのプロラクチン遺伝子をクローニングし, マッピングしたが, 就巢性に関する原因遺伝子の情報はまだ不足している。Cui *et al.* (2006) はノンダーエ (Nongdahe) と烏骨鶏の F2 集団 374 羽について, 24-bp の挿入の有無と産卵数との関連性を調べた結果, In/Del 変異を持つ個体は Del/Del 変異を持つ個体に比べて 1% 水準で有意な産卵数増加効果を持っていることを示した。

和田ら (2008b) は烏骨鶏選抜集団の第 4 世代における 151-450 日齢の産卵率の最小二乗分散分析において, プロラクチンの In/Del 変異に有意な関連性は認められなかったものの, 産卵率に対する母鶏の効果が認められたことから, この集団において産卵率に遺伝変異が残っており, プロラクチン遺伝子のプロモーター領域以外にも, 産卵率に効果を及ぼす遺伝変異が存在するものと推察した。

一方, Cui *et al.* (2006) はプロラクチン遺伝子上流の -2000 から -2400 付近で 6 箇所 の 1 塩基多型を発見し, それらと産卵数などとの関連について検討したが, プロモーター領域の In/Del 変異のように有意な効果を持つ 1 塩基多型は存在しなかったと報告している。また, その実験で利用したすべてのニワトリ 587 羽について, これらの 1 塩基多型のハプロタイプについて最小二乗分散分析法で検討した結果, 1 つのハプロタイプが産卵数に有意に関連していることを報告した。

本研究で, プロラクチン遺伝子プロモーター領域の In/Del 変

異の他にプロラクチン遺伝子領域とその周辺に 3 つの 1 塩基多型マーカー (cPRO1d, cPRO5b と cPRO2b) を開発し, 烏骨鶏とそれ以外のグループとの間での連鎖不平衡ブロックについて検討した。各グループの遺伝子型判定の結果, In/Del 変異では烏骨鶏とその他の品種の遺伝子型頻度は大きく偏っており, レイヤーの遺伝子型頻度と反対の結果を示した。cPRO2b および cPRO5b では各グループの遺伝子型頻度の傾向は In/Del 変異の結果と類似しているが, cPRO1d においては, レイヤー以外のグループは特徴的な遺伝子型頻度の傾向を示さなかった。

一方, 各品種の間のカイ二乗検定の結果は, 烏骨鶏とレイヤーとの間の $\chi^2$ 値は 4 つの遺伝子座すべてで高度に有意であり, プロラクチン遺伝子の転写開始点上流 4 kbp 付近から転写終了点下流 4 kbp 付近にかけて連鎖不平衡ブロックが存在することが明らかとなった。EH プログラムを用いたハプロタイプの頻度推定から得られた連鎖不平衡の結果について, 「烏骨鶏とそれ以外」および「レイヤーとそれ以外」ではそれぞれ, どちらも 1% 水準で非常に高い有意性が認められ, 烏骨鶏とレイヤーにおいてプロラクチン遺伝子とその周辺の DNA マーカーの間に連鎖不平衡があることを確認した。ただし, cPRO2b よりも q 末端側については未調査であるので, q 末端側にさらに DNA マーカーを設定して連鎖不平衡ブロックの大きさを確認する必要がある。

本研究で連鎖不平衡ブロックが生じた原因について, 1) 烏骨鶏, レイヤーともにその用途や品種特性から他のグループとの交雑が控えられてきたことによる交配の偏り, 2) 烏骨鶏やレイヤーの外観などの品種維持の指標となる形質の原因遺伝子が近傍にあるか, 3) プロラクチン遺伝子そのものが原因遺伝子として選抜に影響しているという 3 つの可能性が考えられた。今後は, QTL 解析やゲノム解析を進めるなかで, これらについて検討していく必要がある。さらに今回発見した連鎖不平衡領域とニワトリの産卵率などの生産形質との関連についてさらに検討する必要があると考えられた。また, 本研究では就巢性に関する形質を測定していないため, 就巢性と本研究で検出した連鎖不平衡ブロックとの直接的な関連性は不明であり, 今後, 検討する必要がある。さらに, ドーパミン D1 受容体およびドーパミン D2 受容体遺伝子での多型がニワトリの産卵率や就巢性と関連しているとの報告もあり (Xu *et al.*, 2010a, 2010b), これらの遺伝子とプロラクチンおよびプロラクチン受容体遺伝子との関連性についても慎重に検討する必要がある。

## 引用文献

- Burke WH and Dennison PT. Prolactin and luteinizing hormone levels in female turkeys (*Meleagris gallopavo*) during a photoinduced reproductive cycle and broodiness. *General Comparative Endocrinology*, 41 : 92-100. 1980.
- Cui JX, Du HL, Liang Y, Deng XM, Li N and Zhang XQ. Association of polymorphisms in the promoter region of chicken prolactin with egg production. *Poultry Science*, 85 : 26-31. 2006.
- Dunn IC, McEwan G, Okhubo T, Sharp PJ, Paton IR and Burt DW. Genetic mapping of the chicken prolactin receptor gene : a candidate gene for the control of broodiness. *Brit-*

- ish Poultry Science, 39 : S23-S24. 1998.
- Ishida H, Shimada K, Sato K, Seo H, Murata Y, Matsui N and Zadworny D. Developmental expression of the prolactin gene in the chicken. *General and Comparative Endocrinology*, 83 : 463-467. 1991.
- Jiang RS, Xu GY, Zhang XQ and Yang N. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens. *Poultry Science*, 84 : 839-845. 2005.
- Leclerc B, Zadworny D, Bèdècarrats G and Kühnlein U. Ontogenesis of the expression of prolactin receptor messenger ribonucleic acid during late embryogenesis in turkeys and chickens. *Poultry Science*, 86 : 1174-1179. 2007.
- March JB, Sharp PJ, Wilson PW and Sang HM. Effect of active immunization against recombinant-derived chicken prolactin fusion protein on the onset of broodiness and photoinduced egg laying in bantam hens. *Journal of Reproduction Fertility*, 101 : 227-233. 1994.
- Marchini J, Cutler D, Patterson N, Stephens M, Eskin E, Halperin E, Lin S, Qin ZS, Munro HM, Abecasis GR and Donnelly P. A comparison of phasing algorithms for trios and unrelated individuals. *American Journal of Human Genetics*, 78 : 437-450. 2006.
- McCallum CM, Comai L, Greene EA and Henikoff S. Targeted screening for induced mutations. *Nature Biotechnology*, 18 : 455-457. 2000.
- Nirasawa K, Takahashi H, Furukawa T, Kikuchi K, Noguchi J, Izaike Y and Oishi T. Chicken genetic resources in Japan and new evaluation research. Research Council Secretariat of MAFF and National Institute of Agrobiological Resources. Tsukuba. 1997.
- Sharp PJ, Macnamee MC, Sterling RJ, Lea RW and Pedersen HC. Relationships between prolactin, LH and broody behaviour in bantam hens. *Journal of Endocrinology*, 118 : 279-286. 1988.
- Talbot RT, Hanks MC, Sterling RJ, Sang HM and Sharp PJ. Pituitary prolactin messenger ribonucleic acid levels in incubating and laying hens: effects of manipulating plasma levels of vasoactive intestinal polypeptide. *Endocrinology*, 129 : 496-502. 1991.
- 和田康彦・戸谷温子・岳 佳妮・ローシャン ジャーハン. 烏骨鶏とほかの鶏品種におけるプロラクチン遺伝子のプロモーター領域における 24-bp 挿入の比較. *西日本畜産学会報*, 51 : 39-42. 2008a.
- 和田康彦・中牟田裕子・岳 佳妮・松田莉朋・阿部正八郎・阿南加治男. 烏骨鶏選抜集団におけるプロラクチン遺伝子プロモーター領域の 24-bp の挿入と生産形質との関連. *日本家禽学会誌*, 45 : J82-J86. 2008b.
- Xu H, Shen X, Zhou M, Fang M, Zeng H, Nie Q, Zhang X. The genetic effects of the dopamine D1 receptor gene on chicken egg production and broodiness traits. *BMC Genetics*, 11 : 17. 2010a.
- Xu HP, Shen X, Zhou M, Luo CL, Kang L, Liang Y, Zeng H, Nie QH, Zhang DX, Zheng XQ. The dopamine D2 receptor gene polymorphisms associated with chicken broodiness. *Poultry Science*, 89 : 428-438. 2010b.

## Linkage Disequilibrium Block around the Prolactin Gene Region between Silkie Fowl and White Leghorn

Yue Jiang<sup>1</sup>, Riho Matsuda<sup>1</sup>, Jahan Rowshan<sup>1,2</sup>, Takeshi Shimogiri<sup>3</sup>,  
Toyoaki Anai<sup>1</sup> and Yasuhiko Wada<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, Saga University, Saga city, Saga pref. 840-8502

<sup>2</sup> The United Graduate School of Agriculture, Kagoshima University, Kagoshima city, Kagoshima pref. 890-8580

<sup>3</sup> Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Kagoshima city, Kagoshima pref. 890-8580

In White Leghorn, the promoter region of prolactin gene contains a 24-bp insertion. It was reported that a homozygous 24-bp insertion was not found in all Silkie fowls of the fourth generation in Oita prefecture selection program. In this study, three single nucleotide polymorphism (SNP) markers, upstream of the start point of transcription (cPRO1d, -3764) and downstream of the end point of transcription (cPRO5b, +607; cPRO2b, +3643), were found around the prolactin gene region. These SNP markers and the 24-bp insertion locus were genotyped for 53 Silkie fowls, 19 Japanese native chickens, 23 layers, and 22 other breeds. Regarding cPRO2b, the genotype of Silkie fowl was found to be biased (GG 37, GA 14, AA 2); however, the genotype of the layers showed a reverse pattern (GG 0, GA 1, AA 22). The genotype pattern of cPRO5b was also found to be biased (Silkie fowls : GG 36, GC 13, CC 4; layers : GG 0, GC 0, CC 23). The  $\chi^2$  values between the Silkie fowls and layers were 24.0 (CPRO1d), 76.0 (24-bp insertion), 59.9 (cPRO5b), and 62.9 (cPRO2b), and all the values are highly significant. The  $\chi^2$  values between the Silkie fowls and other breeds were not significant; however, the values between the layers and other breeds or Japanese native chickens were significant ( $P < 0.01$ ). The values between the Silkie fowls and Japanese native chickens were significant with regard to the 24-bp insertion and cPRO 5b. These results indicate the presence of a linkage disequilibrium block around the prolactin gene region between the Silkie fowl and White Leghorn.

(*Japanese Journal of Poultry Science*, 48 : J63-J68, 2011)

**Key words** : broodiness, linkage disequilibrium, prolactin gene, Silkie fowl, single nucleotide polymorphism