

「アグーブランド豚」識別法の確立

(1)アグー種豚雌のミトコンドリアDNA d-loop領域における母系解析

島袋宏俊 稲嶺修 渡部翔之 知念司
宮城正男 美川智* 奥村直彦**

I 要 約

アグーブランド豚推進協議会（以下、協議会）で登録されている琉球在来豚アグー（以下、アグー）種豚雌239頭のミトコンドリアDNA（以下、mtDNA）d-loopの242bp領域において母系解析を行った。その結果、東洋系タイプは191頭で、供試豚全体に占める比率は79.9%であった。

II 緒 言

アグーは、14世紀末期の三山時代から15世紀の琉球王朝時代にかけて中国から伝来した琉球島豚がルーツであると考えられている¹⁾。その琉球島豚は、冊封使を接待するために飼育が本格化したといわれている²⁾。明治時代に入り、琉球島豚はバークシャー種と交配され、本県の在来家畜として固定されていったものがアグーであるという歴史的背景がある¹⁾。

mtDNA d-loop 領域の母系解析は、そのアグーのルーツを科学的根拠を持って証明することが可能となるため、アグーブランド力を強化できる可能性がある。そのため、協議会ではアグー種豚雌においては東洋系タイプのみを登録認定の対象とすること検討しているが、その登録体制を構築する前に、アグー種豚雌全体について東洋系タイプの占める比率を把握する必要があると考えている。

筆者ら³⁾は、協議会で登録認定されたアグー集団の mtDNA d-loop 領域の母系解析を行い、2つの東洋系タイプと3つの西洋系タイプのハプロタイプに分類している。しかし、協議会で登録された豚雌全体についてはいまだ解析がなされていない。

そこで、協議会が登録認定したアグー種豚雌239頭について、mtDNA d-loopの242bp領域において母系解析を行ったので報告する。

III 材料および方法

1. 供試豚

供試豚は協議会によって登録され、認定されているアグー種豚雌286頭を用いた。

2. DNAの抽出

DNAの抽出には-20℃で冷凍保存されている耳介組織を用いた。採材した耳の組織は、プロテイナーゼK (10mg/ml:和光純薬工業株式会社製)を含んだDNA抽出バッファー (1.2%SDS, 12.0mM EDTA, 100mM Tris-HCl [pH8.5], 0.5%NP-40)で溶解後、フェノールクロロホルム処理にて精製し、エタノール沈殿により全ゲノムDNAを抽出した。

3. mtDNA d-loop領域のPCR

mtDNA d-loop領域のPCRには全ゲノムDNA50ngを用いた。プライマーには、mitM1 (Forward primer 5' -GGAGACTAACTCCGCCATCA-3', Reverse primer 5' -GCACCTGTTTTRGATTRTCG-3') 10.0pmolを使用した。PCRは、サーマルサイクラー (GeneAmpTM PCR System9700:Applied Biosystems社製)を用い、反応条件は94℃30秒, 68℃1分を10サイクル, 94℃30秒, 60℃20秒, 72℃1分を40サイクルとした。

4. 塩基配列の決定

塩基配列はこのPCR増幅産物とBigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied biosystems社製)を用い、ジデオキシ法により決定した。シークエンス用のプライマーには、mitM1f (5' -GGAGACT

* (独)農業生物資源研究所 ** (社)農林水産先端技術産業振興センター農林水産先端技術研究所

AACTCCGCCATCA-3') 1.6pmolを使用した。塩基配列の決定にはシーケンサー (3130xlGenetic Analyzer :Applied Biosystems社製)を用いた。

5. 調査項目

1) ハプロタイプ別頭数

得られたd-loopの242bp領域の塩基配列について、筆者ら¹⁾の報告によるハプロタイプと照合し、東洋系タイプと西洋系タイプの頭数を調べた。

IV 結果および考察

1. ハプロタイプ別頭数

アグー種豚雌239頭のハプロタイプとその頭数を表1に示した。タイプ別頭数については東洋系タイプ2が140頭と最も多く、次いで東洋系タイプ1の51頭であった。東洋系タイプの頭数は191頭で、供試豚全体に占める比率は79.9%であった。

表1 アグー種豚雌のmtDNA d-loop領域における塩基置換部位

ハプロタイプ		塩基置換部位(b)								頭数		
		108	124	131	137	146	154	159	182		242	
東洋系	タイプ1	C	A	-	A	T	T	G	C	T	51	191
	タイプ2	C	A	-	A	T	T	G	C	C	140	
西洋系	タイプ1	T	T	G	C	C	C	A	T	T	22	48
	タイプ2	T	T	G	C	C	C	A	C	T	26	

2011年2月28日現在、協議会によって登録認定されている種豚は570頭である。そのうち雌の登録頭数は286頭であったが、DNA品質の劣化により塩基配列の決定されないもの(以下、NT)が47頭認められた。その結果、母系解析によりハプロタイプ別頭数が判明したのは239頭で、種豚雌全体の83.6%を占める。

図1は、協議会によって登録されている種豚570頭中の雄、雌の東洋系タイプ、西洋系タイプおよびNTに区分した比率を示す。協議会が雄と東洋系タイプ雌のみを登録対象とする場合、アグー集団全体の83.3%の大部分を占めるため、雌の西洋系タイプ8.4%を登録対象から除いてもアグー集団全体に与える影響は少ないと考えられる。

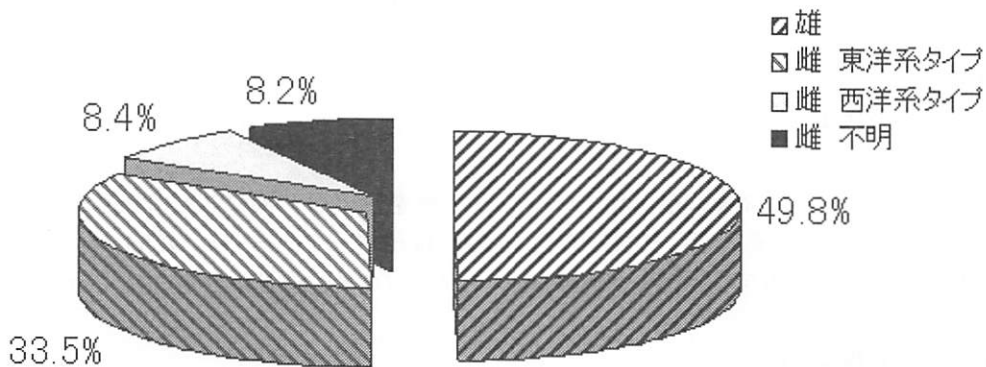


図1 アグー集団の雄および雌の各タイプの示す比率

注) 雌 NT : DNA品質の劣化により、塩基配列の決定されないもの

これらの結果から、mtDNA d-loop領域の母系解析は、東洋系タイプと西洋系タイプとの判別を可能とし、アグーのルーツを科学的根拠を持って証明することが可能である。そのため、琉球島豚が中国か

ら伝来し、本県にアグーが固定され、アグーを在来家畜として活用してきたという歴史的背景を強調することが可能となる。

西洋タイプの種豚雌を除き、東洋系タイプの種豚雌のみを登録する体制は、現在登録認定されているアグー集団の大部分を占めるため、アグー集団の全体が小さくなるような遺伝的影響を及ぼす可能性は少ないと考えられる。また、西洋系タイプの種豚雄を残留することによってアグー集団の遺伝的多様性の保持が図られる。

さらに、筆者ら¹⁾のマイクロサテライトマーカーによる解析においては、東洋系タイプに遺伝的多型性に乏しいアグー集団が認められているため、その集団の母豚に、遺伝的多型性の異なる西洋系タイプのアグー種豚雄を交配することによって、その産子以降の種豚では、雄由来のDNAを取り込んだ結果、遺伝的多様性に富む遺伝子型が期待できる。

その結果、現在ほとんどの農場において課題になっている産子数および産子の生存数の低下や奇形等に起因すると考えられている近交退化が緩和され、アグー種豚の増殖やアグーブランド豚の生産性の増大が期待できる。

そのような観点から、西洋系タイプのアグー種豚雄は貴重で、今後そのような種豚の凍結精液を多く製造し、多数の指定農場において人工授精がルーチンで行われる体制を構築していくことが必要であると考えられる。

以上のことから、mtDNA d-loop 領域の母系解析を利用して、将来アグー種豚雌が東洋系タイプに統一されるという登録体制は、アグーブランド力を強化させるのに有効な手段であると考えられる。

謝 辞

本研究を行うにあたり、アグーのDNA採取等にご協力いただいた（社）沖縄県家畜改良協会 永田存氏に深く感謝いたします。

V 引 用 文 献

- 1) 島袋正敏(1989) 沖縄の豚と山羊, ひるぎ社
- 2) 陳舜臣 (2002) 沖縄の歴史と旅, PHP研究所
- 3) 島袋宏俊・稲嶺修・仲村敏・大城まどか・美川智・佐藤正寛・石井和雄・与古山稔 (2008) 琉球在来豚(アグー)の近交退化を緩和するための育種技術の確立(3) ミトコンドリアDNA d-loop領域における母系解析, 沖縄畜研セ研報, 46, 43-50