

遺伝的多様性の確保による東京うこっけいの安定的な系統維持

〔令和元～令和5年度〕

椎名浩己
(畜産技術科)

【要 約】雄の選抜羽数を5羽に増加し、毎世代120羽以上の選抜羽数を確保することで遺伝的多様性の低下を抑制できる。交配するグループの組み合わせが一順する世代ごとに凍結精液を使用することで、多様性の長期的な維持や近交退化のリスクの低減が期待できる。

【目 的】

東京うこっけい維持群の遺伝的多様性の低下が懸念されている。そこで、遺伝的多様性の維持に有効な系統維持条件や凍結精液の利用方法を確立する。また、集団内で発生した遺伝子疾患の原因を解明してキャリアを排除することで、安定的な系統維持を図る。

【成果の概要】

1. 試験開始世代の東京うこっけいの遺伝的多様性の解明

第24世代の東京うこっけい93羽について、ISAG/FAO 推奨の30個のマイクロサテライト (MS) マーカーのうち、遺伝子型が得られた24遺伝子座の1遺伝子座あたりの平均対立遺伝子数 (N_e) は1.88、有効な対立遺伝子数 (N_e) は1.50、平均ヘテロ接合度の観察値 (H_o) は0.35、期待値 (H_e) は0.33であり、遺伝的多様性が低いことが示唆された。一方で、近交係数 (F_{IS}) は全ての遺伝子座においてハーディ・ワインベルグ平衡と有意なずれがみられなかったため、集団の交配は任意交配に近い状態であると考えられた (表1)。

2. 東京うこっけい集団における高多型MSマーカーの開発

第24世代の東京うこっけい雌92羽および雄35羽のDNAから全ゲノムシーケンス解析を行い、検出されたMSのうち N_e が3以上または H_e が0.5以上の32領域を高多型MSとして抽出した (データ記載なし)。これらのMSマーカーによる集団の N_e は3.38、 H_e は0.65であり、当該マーカーにより多様性が高い領域を検出できることを確認した (表2)。

3. 維持条件ごとの遺伝的多様性の推移のシミュレーション

(1) 雄の選抜羽数の変化による遺伝的多様性の推移への影響の検証

グループあたり10羽の雌を選抜して10グループを維持している集団において、各グループの雄の選抜羽数を従来の2羽から5羽に増加した場合の N_e および H_e の低下速度 (35世代目までの1世代あたりの低下値の平均) は、雄2羽の集団の低下速度を1としたときに、それぞれ0.60、0.71であった (図1)。また、12世代目以降の N_e に集団間で有意な差がみられた。各世代の H_e に集団間で有意な差はみられなかった。

(2) 選抜総羽数の変化による遺伝的多様性の推移への影響の検証

選抜総羽数の増加に伴い N_e および H_e の低下速度は緩やかになるため、毎世代150羽を選抜する集団が理想だが、120羽の集団でも14世代目までは有意な差がみられず、低下速度も大きく増加しないため、最低でも120羽以上を選抜することが望ましい (図2)。全体の選抜羽数を確保すれば、グループの分け方による差はほぼない (データ記載なし)。

4. 凍結精液の利用による遺伝的多様性の復元

(1) シミュレーションによる復元効果の検証

試験開始世代の凍結精液を世代更新後に利用することで N_a および H_E を復元可能だが、交配するグループの組み合わせが一順する世代（9年後）に利用しても、3世代程前の数値までしか復元できないため、復元効果は高くない（図3）。18年後の利用では10世代程前まで復元することが可能だが、利用前に近交退化による影響が生じる可能性も懸念される。そのため、凍結精液は定期的な使用が効果的であり、9年ごと利用することで N_a および H_E を一定の水準で長期的に保ち続けることが可能である（図4）。特に、 H_E は9年ごとに数値が大きく低下していたため、近交退化のリスクの低減が期待できる。

(2) 凍結精液の利用方法の確立

凍結精液を用いた人工授精では、深部注入法により受精率が向上する。希釈液のメチルアセトアミド (MA) 濃度の違いによる受精率の差はみられなかった。人工授精の頻度を週3回にすることで、受精率を50.1%まで向上させることができる（図5）。

5. 初生ヒナの頸曲がりの原因解明

PCR法による雌雄鑑別の結果、疾患ヒナは全て雌であった（データ記載なし）。正常ヒナおよび疾患ヒナのDNAを用いたバルクセグレガント分析により、疾患の原因領域をZ染色体の3.3Mbまで絞り込み、当該領域において原因の候補となる多型を129個抽出した（データ記載なし）。そのうち、アミノ酸配列に影響するナンセンス変異がみられた多型を疾患原因の最有力候補とした（表3）。当該変異がみられたSLC1A3遺伝子のmRNA発現量は、疾患ヒナにおいて有意に低かった（図6）。原因領域上にある他の遺伝子のmRNA発現量は正常ヒナと疾患ヒナで有意な差はみられなかった（図7）。また、PCR-RFLP法により正常ヒナおよび疾患ヒナの当該領域の遺伝子型を判別したところ、疾患の発生と遺伝子型に矛盾はみられなかった（図8、表4）。これらのことから、当該変異は集団で発生した疾患の原因である可能性が高い。また、集団内における全ての選抜雄の遺伝子型を調べることで、キャリア個体を特定して集団から淘汰した（表5）。

【残された課題・成果の活用・留意点】

シミュレーションとは異なり、実際の現場では予期せぬ事象による選抜羽数の減少や、精液の混合による雄の遺伝情報の偏りなどが懸念される。また、選抜個体の産卵率や増体などの生産成績との兼ね合いも重要となるため、許容できる成績のラインを決めておくほうがよい。また、凍結精液の保存は早い世代のものほどよいので、早急に十分量を作製して保存しておく必要がある。

【具体的データ】

N_a	N_e	H_0	H_E	F_{IS}
1.88	1.50	0.35	0.33	-0.04

N_a	N_e	H_0	H_E	F_{IS}
3.38	2.71	0.65	0.61	-0.06

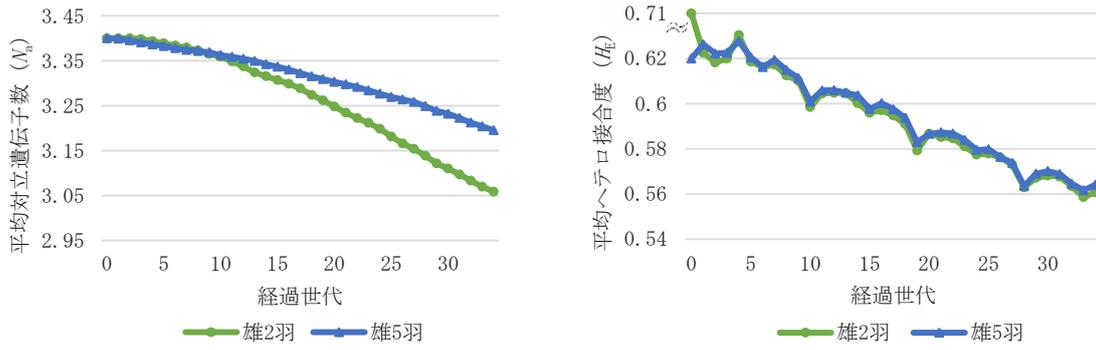


図1 雄の選抜羽数を変化させたときの遺伝的多様性の推移

*) N_e は 12 世代後以降に有意差あり (t-test $P < 0.05$)

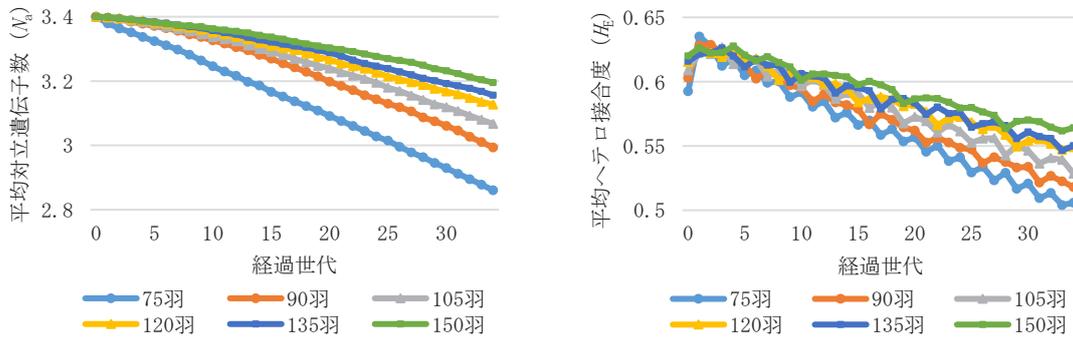


図2 選抜総羽数を変化させたときの遺伝的多様性の推移

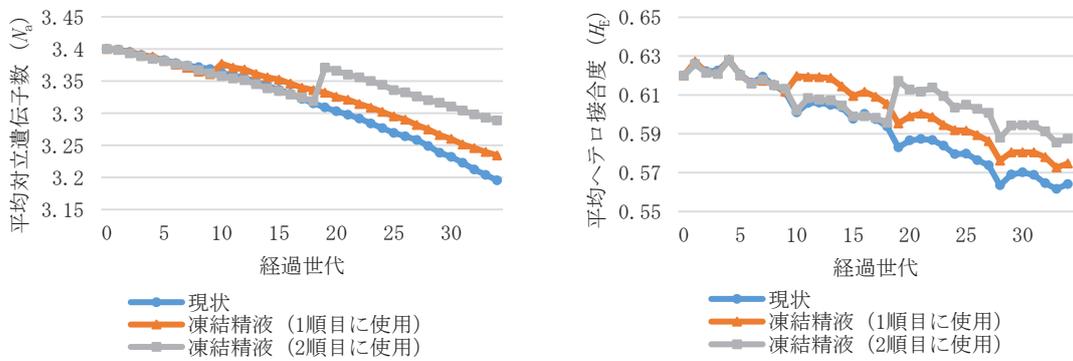


図3 凍結精液の利用による遺伝的多様性の復元効果

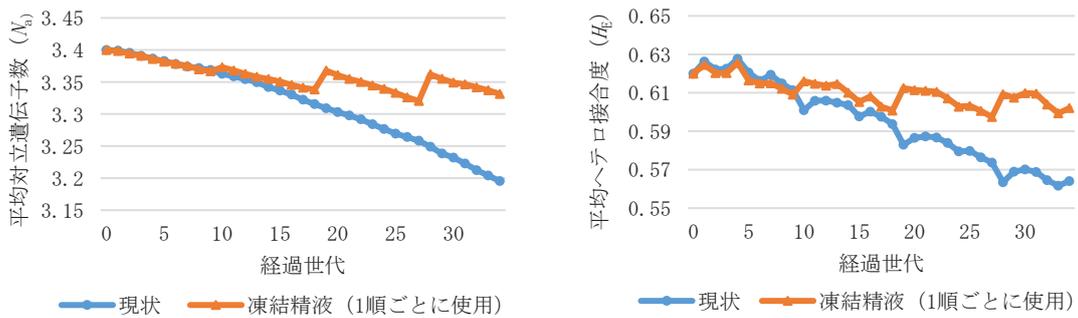


図4 凍結精液の反復利用による遺伝的多様性の復元効果

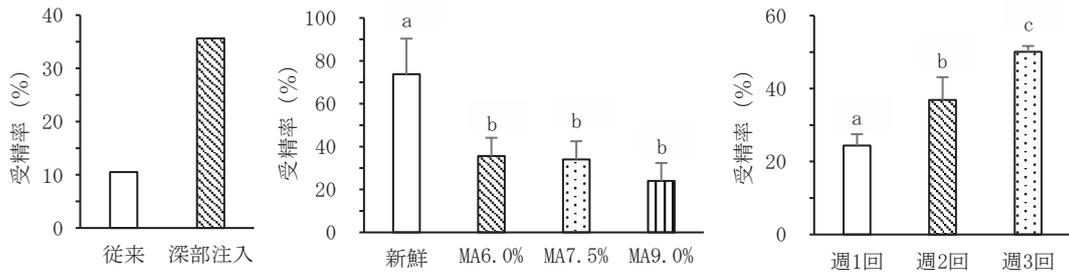


図5 凍結精液の利用方法の検証

* 左は注入法の比較, 中央はMA濃度の比較, 右は利用頻度の比較。異符号間に有意差あり (Tukey法 P<0.05)

表3 疾患原因の候補となるZ染色体上の多型

染色体	染色体上の位置(bp)	対立遺伝子		変異頻度 (%)		遺伝子名	変異種類	アミノ酸変化
		リファレンス	変異	疾患群	正常群			
Z	11191605	C	T	100 (19/19)	NA	SLC1A3	stopgain	p.Arg69*

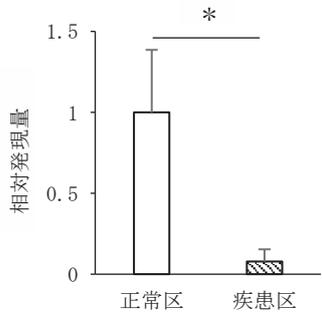


図6 SLC1A3 遺伝子の mRNA 発現量 (*P<0.05 n=10)

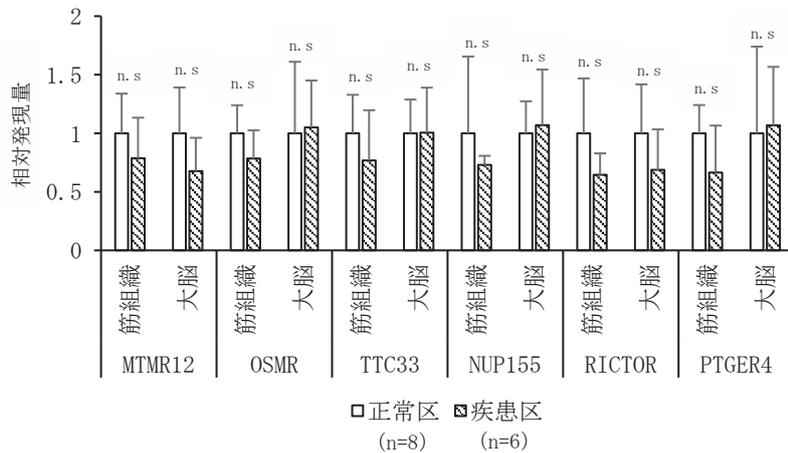


図7 原因領域上に位置するその他の遺伝子の mRNA 発現量

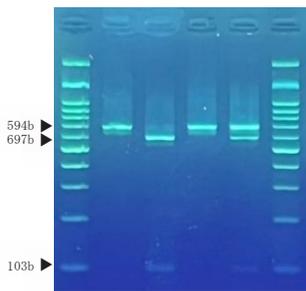


図8 PCR-RFLP 法によるキャリア判別

* 左から Ladder(100bp), 正常雌, 疾患雌, 正常雄, キャリア雄, Ladder(100bp)を示す。

表4 正常ヒナおよび疾患ヒナの遺伝子型解析

	性別	対立遺伝子	
		C	T
正常ヒナ	♀	33	0
疾患ヒナ	♀	0	69

表5 選抜雄におけるキャリアの判別結果

	性別	遺伝子型		
		C/C	C/T	T/T
キャリア	♂	0	5	0
維持群 選抜個体	♂	34	0	0

【発表資料】

1. 椎名・小林 (2019) 日本家禽学会 2019 年度秋季大会講演要旨, P1.
2. 特許出願中 (2023)
3. Koki Shiina and Eiji Kobayashi (2023) British Poultry Science