

遺伝子解析によるトウキョウXの生産性向上試験

[平成 20~22 年度]

上原由史 鈴木亜由美* 塗本雅信*² 奥村直彦*³

(畜産技術科・*²家改事・*³STAFF 研) *現農振事

【要 約】 トウキョウX種雌豚から DNA を採取して卵胞刺激ホルモン受容体 (*FSHR*) 遺伝子多型を解析し、繁殖成績との関連を分析し遺伝子型間の有意差が認められた。トウキョウX豚と他品種豚を判別する DNA マーカーを用いたトウキョウX豚判別技術を確立した。

【目的】

トウキョウX豚は肉質の良さから消費者には好評であり、増産が望まれているが、産子数が一般の豚よりも少ないこともあり、生産頭数は伸び悩んでいる。そこで、より繁殖能力の高い種豚を選抜するため、産子数と関係があると言われている *FSHR* 遺伝子を解析して実際の繁殖成績と比較し、遺伝子型による種雌豚の生産性を検討した。さらに、トウキョウX豚判別技術の確立を試みた。豚の品種を判別する従来法は、毛色遺伝子を用いている。そのため有色品種（バーカシャー種）と白色品種の判定には適しているが、トウキョウX豚には毛色多型が存在するため、毛色関連遺伝子の多型を判別に用いることができない。そこでブランドの維持発展のために、独自のトウキョウX豚判別技術の開発を目指す。

【成果の概要】

1. *FSHR* 遺伝子の多型解析と繁殖成績の関連性の解析

青梅畜産センターと生産農家 8 戸より、トウキョウX種雌豚の毛根を採取し、(社) 家畜改良技術研究所にて *FSHR* 遺伝子中の多型を解析した。全 323 頭のうち、2 産以上分娩している個体 322 頭の繁殖成績を用いて、遺伝子型と総産子数の関連を分析した(表 1)。各遺伝子型の出現数に大きな偏りは見られなかった。

(1) 2000~2009 年までの、青梅畜産センターにおけるトウキョウX維持群の分娩供試回数を調査したところ、平均 4.3 ± 3.0 産であった。また、9 産以上の分娩は全体の 20% 以下であることから、解析に用いる繁殖成績は 2 ~ 8 産までとした(図 1)。

全体の各産次ごとの受胎母豚頭数は 2 産の 293 頭から減少し、12 産で 15 頭となり 13 産で 9 頭となった。平均産子数は 3 産をピークに、以降は徐々に減少する傾向が見られた(図 1)。

(2) 豚 *FSHR* 遺伝子中の多型（第 6 エクソンの A/G 型）は、トウキョウX種雌豚 323 頭を解析したところ、その遺伝子型頻度は、A/A=97 頭 (30.1%), A/G=166 頭 (51.6%), G/G=59 頭 (18.3%) だった(表 2)。2 ~ 8 産までの死産・黒子を含む総産子数の平均は、A/A 型が 9.62 頭、A/G 型は 9.39 頭、G/G 型は 9.1 頭であり、遺伝子型間に有意差が存在した($P = 0.039$: A/A 型の産子数は G/G 型と比較して高い)。多型タイプごとの初産日齢を比較したところ有意差は認められなかった。

(3) 各農家間の、2 ~ 8 産における平均産子数を比較したところ、いくつかの農家間に有意差が認められた($P = 0.0001$) (表 3)。

2. トウキョウXの判別技術の確立

トウキョウXの判別技術においては、青梅畜産センターで飼養している維持群の SNP 型を(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にて解析する。

そこで、トウキョウXでは対立遺伝子が固定し、他の3元交雑豚や黒豚等では多型の存在するSNPマーカーを開発し、PCR-RFLP法(制限酵素断片長多型を用いた分析)を利用した判別技術を作製する。

(1) トウキョウX維持群26頭について、遺伝子中のSNP(一塩基多型)を解析し、トウキョウXにおいては単型であり他品種では多型性の高いSNP座の情報を得た。さらに、トウキョウX全維持豚85頭と他品種豚(一般豚800頭と黒豚500頭)を検証したところ、104SNPsでトウキョウXが単型であることが判明した。これらの中から他品種では多型性の高い8個のSNPsが、判別マーカーとして利用可能と判明した。そこで、これらのSNPsを含む領域を増幅させるプライマーを作製し、判別技術に利用した。

(2) DNeasy Blood & Tissue Kitを利用して精肉からDNAを抽出した。その後、8個のSNPsを含んだ領域を増幅するPCRをそれぞれ行った。各増幅産物を確認後に制限酵素処理し、制限酵素処理溶液を用いたアガロースゲル電気泳動を行った。(図2)。そこでRFLPを検出し切断パターンを検証し、判別を行った(表4)。他品種(黒豚と一般豚)の排除確率(トウキョウXではないとする確率)は98%である。8個のSNPsのうち1つでもトウキョウXでは検出されないバンドが検出されると、トウキョウXではないと判断が可能である(図3)。

【成果の活用と留意点】

1. FSHR遺伝子型の違いと産子数の差には、関係があることが認められたが、各農家間の産子数の差が大きく、より大きな差が認められることから、各農家の衛生管理技術等の技術水準の平均化が生産性の向上に有効と考えられる。
2. トウキョウXの判別技術については、農林水産省の委託プロジェクト「食品・農産物の表示の信頼性確保と機能性解析のための基盤技術の開発」内にて、農林水産先端技術研究所により開発され、共同で特許出願済である。

現状の親子鑑定による判別と比べた場合、精肉からサンプルを採取し精肉単体で非トウキョウXそのものを直接的に判別可能であるため、偽物判別法として有効と考えられる。8カ所の結果が揃って、初めて高い確率(約98%)での非トウキョウX豚の判定が可能になるため、サンプリングから判定までに1週間以上の期間が必要と見込まれる。

【具体的データ】

表1 各農家におけるDNA解析頭数および解析結果

場所 遺伝子型	A	B	C	D	セ ン タ ー	E	F	G	H	合計
A/A	21	12	5	6	27	3	4	6	13	97
A/G	35	27	16	11	31	11	14	5	17	167
G/G	7	5	5	4	16	8	9	0	5	59
計	63	44	26	21	74	22	27	11	35	323

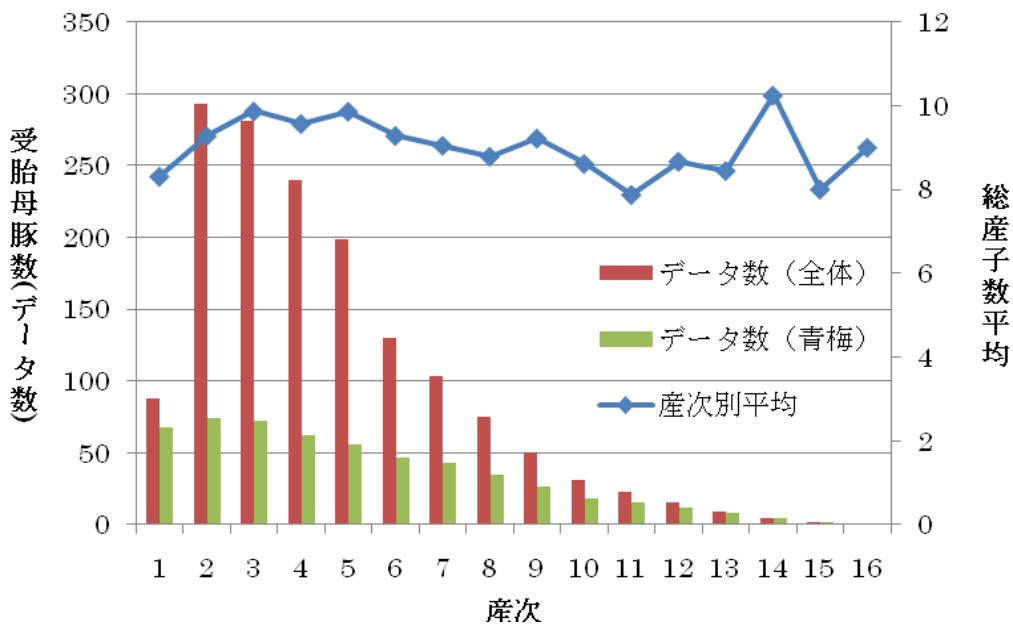


図1 産次ごとの延べ母豚数および総産子数平均

表2 多型ごとの平均産子数他(2～8産)

遺伝子型	頭 (n)	(%)	平均産子数*	平均初産日齢*
A/A	97	30.1	9.62±0.13 ^a	436.67±21.60
A/G	166	51.6	9.39±0.11 ^{a, b}	450.61±20.16
G/G	59	18.3	9.10±0.18 ^b	487.75±28.06

*平均値±標準誤差、異符号間に有意差あり ($P<0.05$)

表3 各農家別分娩成績 (2～8産)

場所	頭数 (n)	平均総 産子数*
A	63	10.20±0.19 ^a
B	44	10.16±0.20 ^a
C	25	10.10±0.25 ^a
D	21	9.72±0.23 ^{a, b}
青梅畜産センター	74	9.35±0.13 ^b
E	22	9.22±0.30 ^b
F	27	9.08±0.26 ^b
G	11	8.66±0.40 ^{b, c}
H	35	7.86±0.21 ^c

*平均値±標準誤差、異符号間に有意差あり ($P<0.05$)

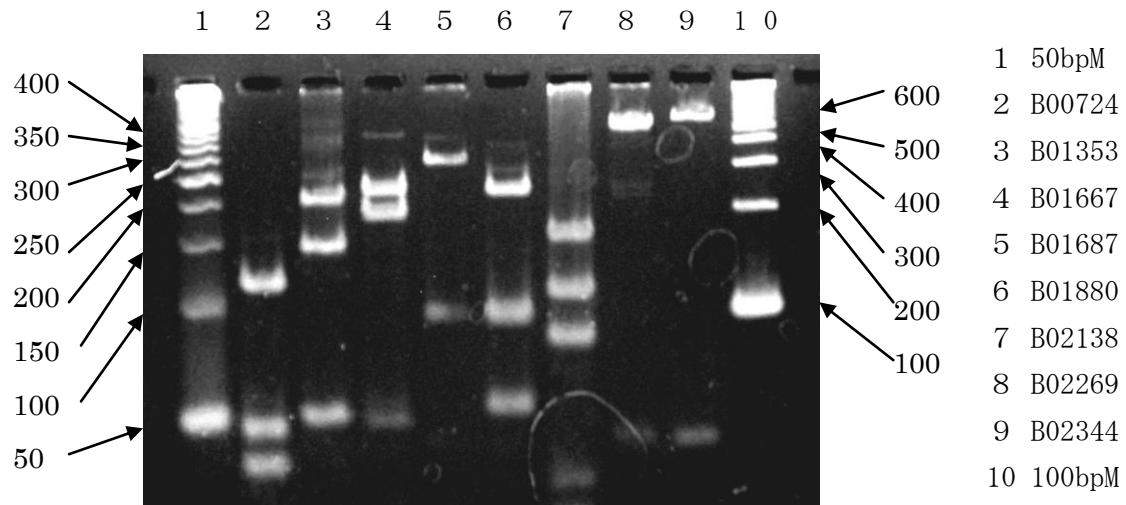


図2 トウキョウXのPCR-RFLPによる電気泳動像

表4 各DNAマーカーにおけるPCR-RFLPの断片長

マーカー名 (制限酵素名)	トウキョウXのRFLP	トウキョウXに検出されないRFLP
B00724 (Hsp9II)	52bp, 8bp	60bp
B01353 (BsmFI)	210bp, 154bp	364bp
B01667 (BsmFI)	231bp, 194bp	425bp
B01687 (Hsp92II)	310bp	247bp, 63bp
B01880 (BbvI)	229bp, 50bp	279bp
B02138 (Tsp509I)	156bp, 79bp	235bp
B02269 (BsrSI)	524bp	402bp, 122bp
B02344 (B1pI)	570bp	356bp, 214bp

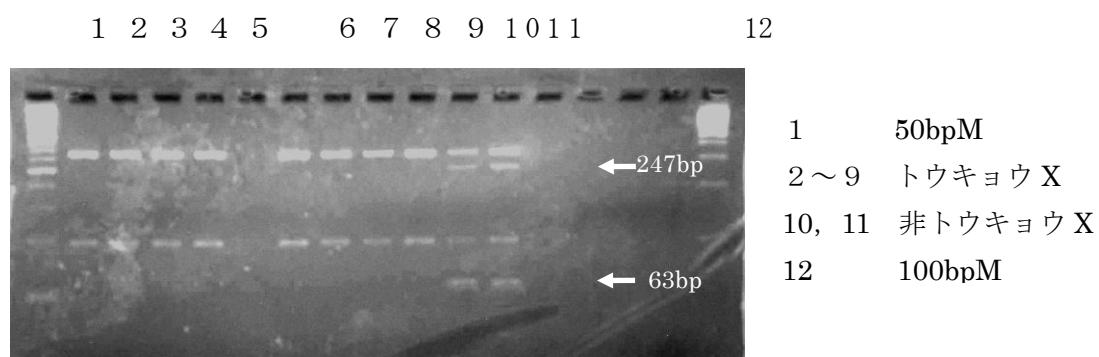


図3 トウキョウXと非トウキョウXの電気泳動像例 (B01687)

【発表資料】

- 「東京都銘柄豚トウキョウXの判別のためのDNAマーカー、およびその利用」
(特願2009-232712号)
- 平成21年度 成果情報