

番号・課題名	5	DNA多型解析によるTOKYO-Xの個体識別 ～精肉から個体をつきとめます～
所属・氏名	三宅分場 井上和典	

〔目的〕

食肉の擬装表示問題により、わが国の食肉業界は消費者の信頼を失っています。この信頼を回復するために、トレーサビリティを実現しようとする動きが各方面で試みられています。牛では全個体に耳標を装着して、牛の個体をと場と農家の間で追跡することが可能になりましたが、精肉から牛の個体を特定・追跡することは難しく、これを証明することは今のところ不可能です。

一方、TOKYO-Xはブランド豚としてある一定の地位を獲得しています。現在は厳格な流通体制によってこれを維持していますが、今後、先の問題にも無関係でいられなくなってしまうかもしれません。このため、精肉として出荷された際にも、検査によってTOKYO-Xであることを確認できる手法を実現して、予防措置を講じておく必要があります。

現在、薩摩黒豚などで実現されている毛色遺伝子による判別手法には問題点が多く、TOKYO-Xには適応出来ないため、DNA多型解析によるTOKYO-Xの個体識別技術を実現しようとするものです。

〔方法〕

1 豚ゲノムDNAの既知のマイクロサテライトマーカーのうちから、以下の様な条件で12対のプライマーを選別した。

- 1) 増幅されるマイクロサテライトのサイズが80～260bp
- 2) それぞれ異なった染色体上のマイクロサテライトを増幅
- 3) PCRのアニーリング温度が同一
- 4) ヘテロ接合率が高い

2 豚ゲノムDNAを抽出し、非標識プライマーによるバンド確認を行った。

3 プライマーを蛍光修飾したものに變更し、DNAシーケンサーにてバンドを確認した。

〔結果〕

1 4本1セットとして、12本のマイクロサテライトマーカーを選択した。(図1)

2 当初デザインしたマーカーのうち、他のマーカーの標的バンドと抵触するゴーストバンドが見られるものや、標的バンドが得られないものについては、再設計を行った。アニーリング温度の検討を行って、泳動像を得た(図2)。

3 DNAシーケンサーによる泳動によって泳動像を得た(図3)。

〔考察〕

アガロースゲル電気泳動ではシャープなバンドに見えていたが、シーケンサーでは検出感度が高いためにゴーストバンドが多数検出されてしまった。この状況は平易な判別を妨げ判別効率を悪化させるので、より最適な条件を決定するため条件の見直しを行う必要がある。今回の手法を現在の種豚全てで行い、データの蓄積をするとともに流通されている精肉でも行い、個体識別の実証を行う必要があると思われる。

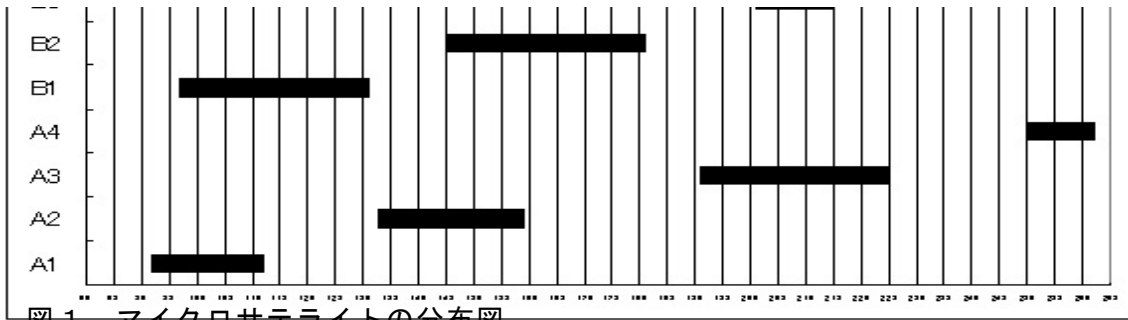


図1 マイクロサテライトの分布図

縦軸にマーカーの種類、横軸は遺伝子サイズ (bp)

横棒は増幅されたマイクロサテライトマーカーの分布を示す

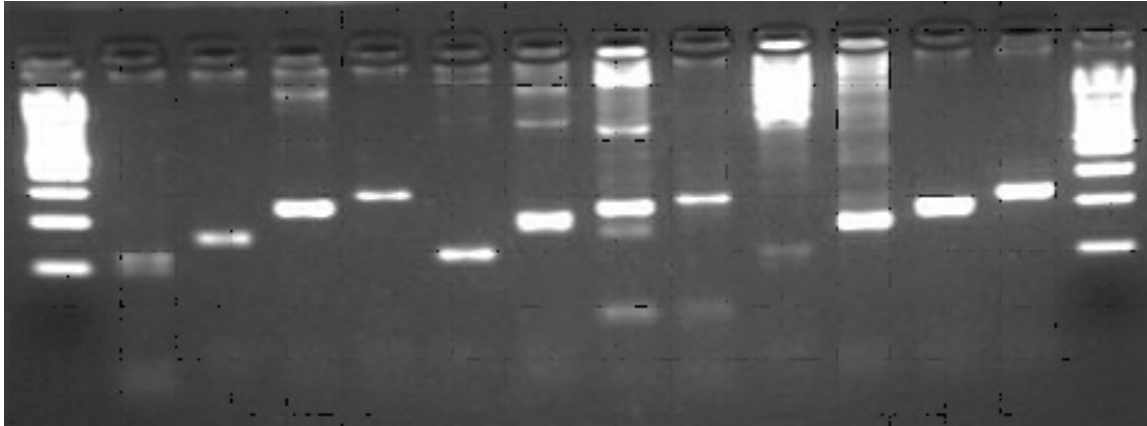


図2 3%アガロースゲル電気泳動像

左右は、100bpLadder 左からマイクロサテライトA1～C4

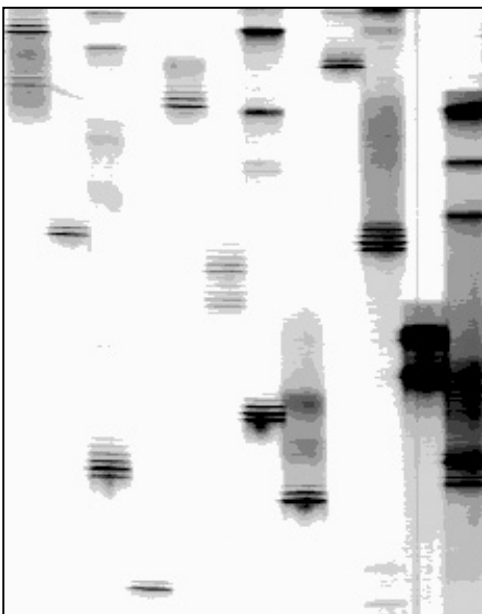


図3 DNAシーケンサー泳動像

左からマイクロサテライトA1～C4

図2とは天地が逆転している

図2のアガロースゲルでは検出できなかったバンドが多く検出されている。