

# 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

## (4) アグー識別技術の開発

島袋宏俊 稲嶺修 仲村敏 宮城正男  
佐藤正寛\* 石井和雄\*

### I 要 約

琉球在来豚アグー（アグー）と他品種との識別（アグーの識別）の精度を向上させることを目的として、マイクロサテライトマーカー（MSマーカー）を用いて、沖縄県アグーブランド豚推進協議会（協議会）が登録認定したアグー171頭、また県内において飼養されている他品種35頭およびアグー交雑種60頭についてMSマーカーの遺伝的多型性を調査し、アグーの識別を行った結果、以下のとおりであった。

1. 現在、協議会がアグーの識別に利用している23個のMSマーカー（Aセット）を用いた結果、供試豚全体の対立遺伝子（アレル）数、ヘテロ接合度観察値（ $H_o$ ）および多型情報含有値（PIC）の平均値はそれぞれは5.5, 0.40, 0.45で、遺伝的類似度0.26でアグーが識別可能である。
2. 新たに選抜した14MSマーカー（Bセット）を用いた結果、供試豚全体のアレル数、 $H_o$ およびPICの平均値はそれぞれは7.8, 0.63, 0.63で、遺伝的類似度0.13でアグーが識別可能である。
3. アレルサイズが重ならないマーカー同士を混合（セット化）する場合としない場合との分析コストを比較すると、AセットおよびBセットはセット化した場合がセット化しない場合よりそれぞれ約50%および約40%低減できる。また、Aセット化とBセット化との分析コストを比較すると、Bセット化がAセット化に比べ約30%低減できる。

以上のことから、アグーを識別する際、BセットはAセットより高精度に識別可能である。また、Bセット化はAセット化より効率的な分析が可能で、コストを低減できる。

### II 緒 言

沖縄県ではアグーを活用したおきなわブランド豚を作出して、全国的に高い注目を集めている<sup>1)</sup>。

アグーの遺伝的特徴を把握するために、大城ら<sup>2)</sup>はMSマーカーを活用し、遺伝的多様性が低いことを明らかにした。また、筆者ら<sup>3)</sup>は同様のマーカーを用いて、アグーを7つのグループに分類した。

いっぽう、ミトコンドリアDNA (mtDNA)・displacement loop (d-loop) 領域による母系解析において、アグーは5つのハプロタイプに分類され、85.6%が東洋系に由来していることを明らかにした<sup>3)</sup>。

現在、協議会では、MSマーカーの遺伝的多型解析およびmtDNA・d-loop領域の母系解析によりアグーの識別を行っている。

しかしながら、アグーの識別に用いられているMSマーカーの中には、ヘテロ接合度の値が低いものが含まれており、識別精度はいまだ十分な検討がなされていない。

そこで、本研究では、アグーの識別精度を向上させることを目的とし、識別に有用なMSマーカーを新たに選抜し、その精度について検討したので報告する。

### III 材料および方法

#### 1. 供試豚

供試豚は協議会でアグーに登録認定された171頭、県内において飼養されている他品種35頭（ランドレース種9頭、大ヨークシャー種12頭、デュロック種8頭、バークシャー種6頭）および当所において生

\* (独) 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所

産されたアグー交雑種60頭, 合計266頭を用いた。アグー交雑種には, アグー雌にアグーとは異なるDNA多型性を持つ東洋系の雄を交配したブタ (F1) 3頭, F1雌にアグー雄を交配したブタ (BC1) 19頭, BC1雌にアグー雄を交配したブタ (BC2) 16頭, BC2雌にアグー雄を交配したブタ (BC3) 15頭, BC3雌にアグー雄を交配したブタ (BC4) 7頭を用いた。

## 2. DNAの抽出

DNAの抽出には耳の組織を用い, プロティナーゼK (10mg/ml:和光純薬工業株式会社製) を含む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. PCR増幅とMSマーカーDNA多型の検出

MSマーカーには表1および表2に示す96個を用いた。PCRの反応液は, AmpliTaq Gold & 10×PCR Gold Buffer with dNTP (Applied Biosystems社製: AB社製), ゲノムDNA16.0ng, フォワードおよびリバースプライマー各5.0pmolを使用した。PCRは, GeneAmp™ PCR System9700 (AB社製) を用い, 94°C9分の熱変成後, 94°C30秒, 55°C30秒, 72°C30秒を40サイクルとした。PCR産物は, 3130x1および3730x1DNAアナライザー (AB社製) を用いて泳動し, 分離・検出した。

表1 マイクロサテライトマーカー (その1)

locus	chromosome	forward primer (5'→3')	reverse primer (5'→3')
S0316	1	CATTGTTAATCCATTCCAAACC	GTTCCATCCATGTTGCTGC
SW1957	1	TGGGCTTTGATATCATCAGTG	AGCTTTCCACCAGTATTC
SW745	1	CTGAGTCTTCTGGAACTTTTC	ACAGGGCTGGTAGTGTCCC
SWR1061	1	ATCTGCCTTGCTCTGCATG	TGGCATTGCTGTGGCTATG
SW552	1	AAGAGCCAGATGGGGAGG	ACTGATAAGACATGCTGTGTGC
SWR1427	1	CATATGCCACAGGTGTGGTC	CTGTCCATCATGCAAACTCC
SWR1512	2	ACTCTCTGGCAGTATGGTATGC	CTGTGGCTGTGGGGTAGG
SW2192	2	TGGAATAAATCTCTGAGGAGGG	CTATATGCCATGGTTGCAGC
SW1650	2	CAATTTCTGCTGAACAGCATAG	GGGTATAAAATCTTGGGAAGG
SW1564	2	ATCAGAACATAGAACGTGTGTG	GTTATATACCTGTTGGGAGAGC
SW2429	3	TCTTTTAGGGTGGAGGATGG	CATGTCCCCTATGAACTCTGTG
SW1693	3	GCGTAGGTTTCCATTCTGTATAG	TCAATATTACCCATTACTTGC
SW2429	3	TCTTTTAGGGTGGAGGATGG	CATGTCCCCTATGAACTCTGTG
SW1443	3	CAAAAGTTGGCCATGAATTG	TTCTTCAGGAATCATTTACTTG
SW2532	3	TTCGACACACAGGTTTAGGG	GTGGAGGCTTCTGAAATGTACC
SW1066	3	CCAGGATGAACCACCTG	CTCTTGAGGCAACCTGCTG
SWR153	4	CCACGTTCTCCTTTTGAGG	ATGAGTTGTGGTGTAGGTCGC
SW839	4	GGAAACCAGGATAACAGGAGG	TAACCCACTGTACCACCAAGG
SW969	4	AGCCTGGAACATTTTGAGTG	TTTCAATTGGTTCCTGTGTCC
SW2435	4	CAAAGCAGATGCACAGTTTAGG	CAGAGGGTTGTTGGTGGG
SW2509	4	TGCTGAGATTGAGAAATCTCG	TGCTCGAGGTACAGCCCTAG
SW1909	5	ATCAGTTGCAATGAGGGGG	TTCACCATTTCTAAGGGTAGGG
SW2425	5	ATCTCCATAGGTCAGAGGCTC	ACTCTGTGAGACATTCTGTATTCC
SW1482	5	ATTGCAGACTACAGTTCTTGGC	ACTTACGGGCTGATGCTGTC
ACR	5	GAATGATAAGATTGGAGACGAGTTCCC	CAAAATAATTCCTTCTTCAACGTGTGTG
SW967	5	AGCAGACTGTTATCTGTTCAG	GGGGCAGCTGAAAAGTCC
SWR1526	5	CGGTGGCTACAGATAACAATAC	ATCCGATTCAACCCCTAGC
SW1328	6	TGATGCACAGTCCATCATCC	AGATGGAGTGAATGGCTTG
SW1067	6	TGCTGGCCAGTACTCTG	CCGGGGGATTAACAATAAAG
SW1353	6	TACTTGTACCCCTGCCC	AAGTACGCAGGTGAGTCTGAG
SW2052	6	ACTCACTGTTTCCGGAGGC	CCCCTGTGCATACATAGTTGC
SW1129	6	GATCATATGAGGAAAAGAATGTGT	CACAGGGGGAACACCTTAAT
SW1680	6	AGCCACCTAAATGTCCATCG	CATGTTGCTGCTAGTGGCAG
SW1059	6	TCTCATGGCCAATCTTTCAC	CCTCCAACCTTCAGTTCAGC
SW1437	7	TGCTGATTATACAACCCCGC	TGCCTACTTTATCCTCTGAGGC
SW1344	7	CCAGACTTGAGGAAGGTGG	ATCTTTTTTAGCTATTTTTAGCTTG
SW1667	7	TGCCGTAATCCCATGGAG	TGTGGGCAGTTTTGTGTGAC
SW2040	7	TTGACATTGTCTCTGTTAACC	GAAGGAAGGAAGAAAAGAAGG
SW1354	7	GAGCCAGATTAATGCAGTTGC	CCTAGTCCGAGCGGTAATC
SW1681	7	TTGATTGCAATGTGGTGC	GATCATGATGGAACATAGTATGC
SW1345	8	CCTGTGCCAGTTCCATC	CATTGACTCCAGGTAGAGTCCC
SW1312	8	TTGGTGACAAAGAGGCAATG	GAGACATGCAGTTTAGCTGCC
SW2611	8	CTTGTTCGCCAGTCTCTC	GTGTGTTCCAGATGAACCTGG
SWR1921	8	TGCTCGGGTTGTTAACCTC	CCTTCTATAGCCTTCCAATTATG
SW853	8	CTTCTCTGCTGGGTGTGG	GGGAAAATAGCCTCCACCTC
SW933	8	ACATATACTTCCGACAGCCCC	AAGAGCTTGGTGAATTGAGAGC

表2 マイクロサテライトマーカー（その2）

locus	chromosome	forward primer (5'→3')	reverse primer (5'→3')
SW1651	9	ATCCAGTTTGGGGTGTTC	TCTCTGGAACCTTCCCATG
SWR915	9	TTCATGTTTCCCTATTACAGCA	GCTATAGCTCCAATTTCGACCC
SWR250	9	CACTCAATGTCTCGAATCAAGC	CTGGGGCTGTGGTGTAGG
SW827	9	AGCTGATTCCTCCAGGC	TTATCTGAATTTGGTGTAGGC
SWR1848	9	AAGGGGAAAAATCCCTCAAAG	TTTCTATGAAAATTTTCCGTTG
SW1103	10	TCTCTGGATGTGAGATGCTAGG	TGCAAGGGTTTCAGGAACCTC
SW1894	10	CTCACTGCAAAAAACAGGTCTTG	CCTAGGTCTTAGGCTTCTAGGTTG
SW443	10	ACAAAGGCCAAGCCACATAC	TCACCAGGTTTCTGGGTTTC
SW1041	10	ATCAGAAAATGGTCAACAGTTCA	GGAGAATTCCTCAAAGTTAATAGG
SW2195	10	TCCTGAGAGGCTTAGGATGG	TCCCTTCTATGGGGTGTGTG
SWR2071	11	TGGGGATGAGGGAAACTTC	GAGGATAAGACCCCGCTACC
SW1415	11	AATGGCTAAGGAACCTCTGCC	CTAGTTATTGCCTGGTGGCC
SW1486	11	CCCCTGTTTCTTACACATTGC	ACTCAAAGCCACATTCCTG
SW2494	12	ATCAAAGACAGAAAAATCTACGG	TAGAGAAATGAAAATAAAACCCACC
SW1936	12	TGAAAATAGGATGAAGAAGGGG	TTATGTGAGCACATGTGACACC
SWR1021	12	CGCCACAAGTGAACCTC	CCGCGGGTCCAGCTATAG
SW1307	12	TCATCCTTCTTTTCTTTTCTT	TCTGGCTGGATGCAATC
SW957	12	AGGAAGTGAGCTCAGAAAGTGC	ATGGACAAGCTTGGTTTTCC
SW1350	12	AACATGCTTTGAGATTGTAACAC	TGGGTGGGCAGAGCTAG
SWR2114	13	CTCCAAGCTATTCTAATGGACTTG	AGCTCTGATTAGACCCCAAGC
SW1550	13	GCAGCATATTGTTTAGCCACC	TGCATCCAACACAGAAGCAC
SW769	13	GGTATGACCAAAAGTCTGGG	TCTGCTATGTGGGAAAGATGC
SW1030	13	AACTGGGGAAGTAGAAGAGCG	TCATCTCATGCTGTGTCTAAA
SWR1941	13	AGAAAGCAATTTGATTGACATAATC	ACAAGGACCTACTGTATAGCACAGG
SW2459	13	ATGGCCCTGCTCAGACAG	ATTTCCCTTCTTTCAGC
SW1109	14	TGCGGTTTCTCTTGATTTC	GGCAAACAAATTTGGTTTCTTAC
SW1027	14	AGCAACCTGAGCCACAGTG	GGAACTTCCACACGCCAC
SW1125	14	TAGATGTATATACTCCATGTGTG	ATGTTGAGCTCTTAATTTTATACA
SW1333	14	GGTTCGCAAAAGGATAACAGG	CACAGGAGGACTCCAATAATAGC
SW2439	14	GTTTCTTTGTTGCCAACTTGC	AGCACTAGAGCTCAGGAGATGG
SW1837	14	GTTTTGCATCAGTTTCTCTCCC	TCAGATGGCGTCAGCAATAG
SW1865	15	CCCCCTCTCTTACACAATCTAC	AAAAGTACCCTCCTGTGCTCC
SW1892	15	GATCAGAGAAAAGCCAAGGC	TTTACCCATTCCACCCATTCC
SW1263	15	AGATGAAACTGACATCTCTGCC	GATCAAGGAAATAACACTGCTGT
SW1119	15	CAACCTCAAAAATGGAGAAAGG	GTTCTTGGCGTGTGGC
SW2072	15	AACAAGCACGGAGTATGATGG	AAGATGAACCCCAAAGTCCC
SW1562	15	CTCTAAGGCCAGAGAGCAC	ATCAGCTTGTATCCATCAATGG
SW1983	15	GCAGGTTCGGCCTTAAAAG	CCACATAGCTCCCTGTACC
SW1035	16	TATGGGGGCCCTAAAAGAC	AACGGCCTTAACCTCCTCAG
SW813	16	AGTTGATTTAAAATGTTGTGCCA	AATATTTCAAAAAGGAATGCG
SW1897	16	GTGCCGTGGCAGGAACTC	ACTGCCATTTGTTTTCAAAGTG
SW2517	16	ATACTATGTGCTTGCCTGCG	AAGGAACCCATGAGAGTACTGG
SW2427	17	GCATGTTATTGAGTTGATGTAGG	TCCGAATTCAGAAAATTTGG
SW24	17	CTTTGGGTGGAGTGTGTGC	ATCCAAATGCTGCAAGCG
SW2427	17	GCATGTTATTGAGTTGATGTAGG	TCCGAATTCAGAAAATTTGG
SWR2417	17	GGCTCACTCGCAGTATATG	GGTGAAGCCAGCGGGTG
SWR1133	17	TGGGATTTGTTACCACTGAGC	TCCATGGGTGAAAAAAAAGATG
SW1891	17	CTAGGTCTTTTCAACGTAAGCC	CTGCAGAAAAGGAGAGATGG
SW1984	18	TTTTTAGTGTCCAAGGAGGTCC	GGAGCACTAATAGACCACCACC
SW1023	18	AACCTGCTGAGCCACAGTG	GCAAGTACCAATCTTTTTC

## 4. 調査項目

## 1) 各遺伝子座の対立遺伝子（アリル）サイズ

アリルの判定は、GeneScan 350 ROX Size Standard (AB社製)に基づいて、GeneMapperソフトウェア (AB社製)によって行った。DNAアナライザーによって検出された各マーカーのピークを1つのアリルとみなし、そのサイズを明らかにした。アリルごとのMSマーカーのバンドパターンをジェノタイピングし、アリルがある場合を1、ない場合を0で表記し、そのデータを系統解析に用いた。

## 2) ヘテロ接合度(Ho)

1遺伝子座あたりHoは次式<sup>4)</sup>を用い算出した。

$$n$$

$$Ho = 1 - \sum_{i=1} p_i^2 \quad (\text{ただし, } p_i \text{ は } i \text{ 番目の遺伝子型頻度, } n \text{ は遺伝子型数})$$

$$i=1$$

## 3) 多型情報含有値 (PIC)

1遺伝子座当たりのPICは次式<sup>4)</sup>を用い算出した。

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{j>i}^n 2(p_i p_j)^2 \quad (\text{ただし, } p_i \text{ は } i \text{ 番目の遺伝子型頻度, } n \text{ は遺伝子型数})$$

## 4) 系統解析

MSマーカーのアリルサイズデータセットに基づき系統解析を行った。系統解析は、解析ソフト Diversity Database (Bio-Rad Laboratories社製) を用いて、非加重結合法<sup>5)</sup> より作成した。遺伝的類似度の算出は集合間類似度としてよく知られている以下のJaccard係数<sup>6)</sup> を用いた。

$$\text{Jaccard (A, B)} = \frac{|A \cap B|}{|A \cup B|} \quad 0 \leq \text{Jaccard} \leq 1 \quad (\text{ただし, } |A| \text{ は集合Aのアリル数})$$

## IV 結果および考察

## 1. アグー識別のマーカー選抜

23MSマーカー (Aセット) は大城ら<sup>2)</sup> がアグーの遺伝的多様性を検討した際のMSマーカーである。AセットのMSマーカーごとのアリル数, Ho, PICおよびアリルサイズを表3に示した。アグーおよびアグー交雑種において, HoおよびPICの平均値はそれぞれ0.40以下の低い値を示し, 他品種においてもHoの平均値は0.45で低い値であった。MSマーカーごとには, HoおよびPICがともに0.5未満の低い値を示すマーカーは, アグーで12マーカー, 他品種で6マーカー, アグー交雑種で15マーカーであった。

表3 Aセットのアリル数, Ho, PICおよびアリルサイズ

No.	locus	アグー (n=171)			他品種 (n=35)			アグー交雑種 (n=60)			range of alleles size(bp) (min-max)
		No.of alleles	Ho	PIC	No.of alleles	Ho	PIC	No.of alleles	Ho	PIC	
1	SW1030	4	0.03	0.05	6	0.29	0.37	2	0.00	0.03	100-139
2	SWR769	5	0.07	0.07	4	0.29	0.41	4	0.17	0.15	101-103
3	SWR250	4	0.01	0.03	4	0.31	0.28	2	0.22	0.18	134-144
4	SW1307	6	0.39	0.34	6	0.43	0.60	4	0.22	0.19	146-184
5	SWR915	7	0.53	0.56	9	0.60	0.78	4	0.30	0.28	147-176
6	SWR1061	4	0.33	0.32	5	0.46	0.56	3	0.35	0.27	92-122
7	SW957	5	0.61	0.54	4	0.49	0.53	4	0.45	0.32	121-135
8	SW933	6	0.37	0.39	6	0.63	0.72	5	0.47	0.34	106-138
9	SW1041	8	0.22	0.25	4	0.37	0.62	5	0.35	0.36	125-225
10	SW839	7	0.49	0.40	3	0.20	0.25	4	0.48	0.38	158-190
11	SWR153	7	0.61	0.57	7	0.51	0.50	4	0.38	0.37	134-170
12	SW853	6	0.10	0.22	10	0.46	0.78	5	0.05	0.38	145-175
13	SW745	5	0.53	0.51	6	0.71	0.63	3	0.37	0.40	110-148
14	SWR1133	5	0.22	0.33	4	0.49	0.55	5	0.38	0.41	120-141
15	SW1067	7	0.58	0.61	5	0.74	0.72	4	0.43	0.42	222-250
16	SW827	8	0.58	0.57	6	0.63	0.66	4	0.48	0.40	168-192
17	SW1443	7	0.04	0.57	4	0.49	0.61	3	0.00	0.40	94-104
18	SW813	8	0.54	0.43	8	0.40	0.64	5	0.62	0.48	110-154
19	SW1353	6	0.23	0.23	6	0.63	0.57	4	0.58	0.50	141-172
20	SW1119	6	0.32	0.42	9	0.66	0.81	5	0.67	0.48	92-136
21	SW1125	7	0.56	0.64	10	0.54	0.81	5	0.52	0.45	110-146
22	SW969	6	0.61	0.57	5	0.17	0.41	5	0.78	0.66	84-96
23	SW552	11	0.47	0.67	7	0.17	0.44	9	0.58	0.80	88-128
平均値		6.3	0.37	0.40	6.0	0.46	0.58	4.3	0.38	0.38	-

注) Ho : ヘテロ接合観察値, PIC : 多型情報含有値.

Aセットのマーカーを用いると、今回の供試豚においてもアグーおよびアグー交雑種は他品種と比べ遺伝的多様性が低い結果になり、アグーは他品種に比べ遺伝的多様性が低いという大城ら<sup>2)</sup>の報告に一致した。Aセットはアグー集団の遺伝的多様性について検討するためのマーカーとして有効であるが、アグーと他品種とを識別するためのマーカーとしては検討されていないため、その識別精度について検討する必要がある。

そこで、本研究では、Aセットを含む表1および表2に示す96MSマーカーを新たに追加し、識別精度を向上させる目的で遺伝的多型性に富むマーカーを選抜するとともに、分析コストを低減することを目的として、Aセットより少ない15座位以内のマーカーを選抜した。新たに選抜されたマーカーをBセットとし、BセットとAセットとの遺伝的多型性の比較を行った。

Bセットは、表4に示すとおりアレル数、HoおよびPIC遺伝的多型性の高い値を示し、96MSマーカーから上位15以内のマーカーを選抜した結果、14マーカーであった。アグー、他品種およびアグー交雑種すべてにおいてアレル数、HoおよびPICの平均値は、BセットがAセットに比べ高い値であった。

表4 Bセットのアレル数、He, Ho, PICおよびアレルサイズ

No.	locus	アグー (n=171)			他品種 (n=35)			アグー交雑種 (n=60)			range of alleles size(bp) (min-max)
		No.of alleles	Ho	PIC	No.of alleles	Ho	PIC	No.of alleles	Ho	PIC	
1	SW1027	5	0.52	0.52	7	0.80	0.79	6	0.73	0.62	136-160
2	SWR2417	6	0.43	0.53	7	0.43	0.66	4	0.62	0.58	66-155
3	SW1983	8	0.50	0.53	9	0.71	0.81	8	0.63	0.52	164-192
4	SW443	6	0.63	0.55	9	0.57	0.81	4	0.70	0.56	105-147
5	SW1891	10	0.58	0.56	8	0.54	0.77	7	0.68	0.54	86-124
6	SW1936	11	0.43	0.57	11	0.54	0.70	5	0.62	0.53	184-226
7	SWR1526	6	0.48	0.59	4	0.40	0.58	6	0.52	0.54	124-144
8	SWR1512	14	0.81	0.59	12	0.86	0.81	7	0.93	0.57	160-248
9	SW1651	5	0.54	0.59	6	0.77	0.72	5	0.80	0.52	105-115
10	SW1354	10	0.34	0.61	9	0.80	0.82	7	0.27	0.52	99-158
11	SW1437	8	0.68	0.63	7	0.77	0.67	7	0.63	0.51	132-164
12	SWR1848	12	0.72	0.68	9	0.74	0.71	8	0.45	0.51	80-104
13	SW1350	12	0.80	0.69	9	0.97	0.78	9	0.85	0.66	98-138
14	SW1415	10	0.58	0.71	4	0.57	0.65	9	0.57	0.58	96-118
平均値		8.8	0.57	0.60	7.9	0.68	0.73	6.6	0.64	0.55	-

注) Ho : ヘテロ接合観察値, PIC : 多型情報含有値.

供試豚266頭全体のAセットおよびBセットのアレル数、HoおよびPICを表5に示した。Aセットのアレル数平均値は5.5で、HoおよびPICはそれぞれ0.40、0.45であった。Bセットのアレル数平均値は7.8で、HoおよびPICはそれぞれ0.63、0.63であった。供試豚全体のHoおよびPICはいずれもBセットがAセットより高い値で、遺伝的多型性に富むことが明らかになった。

表5 各セットごとのアレル数、ヘテロ接合度観察値および多型情報含有値 (n=266)

Name of set	No. of markers	No. of alleles	Ho	PIC
Aセット	23	5.5	0.40	0.45
Bセット	14	7.8	0.63	0.63

注) Ho : ヘテロ接合観察値, PIC : 多型情報含有値.

## 2. 系統解析によるアグーの識別

AセットおよびBセットの系統解析を行った結果、図1に示す系統樹が得られた。

本研究では、Jaccard係数の類似度を用いて個体間の遺伝的類似度を評価した。類似度が1である場合は各マーカーのアレルすべてが一致しており、その2個体は同一個体であるか、あるいはクローン個体

であると鑑定する。類似度が0である場合、各マーカーのアリル全てが異なり完全に違う個体であることが判別できる。したがって、類似度が0の数値に近づくほどアグーと他品種とを判別することが可能で、識別精度は高くなる。

Aセットはパークシャー種、ランドレース種、大ヨークシャー種およびデュロック種のような他品種とアグーとを遺伝的類似度0.26で識別できることが明らかになった。しかしながら、アグーとアグー交雑種を識別することはできなかった。

また、Bセットは他品種を遺伝的類似度0.13で識別可能で、遺伝的類似度0.46でアグーとアグー交雑種を識別できる。しかしながら、アグーの中にはアグー交雑種と識別不能のものがあった。

以上のことから、Bセットは、Aセットに比べてアグーと他品種を高精度に識別可能であることが明らかになった。しかしながら、アグーとアグー交雑種との分集団に多少の混乱があることが示唆され、今後のアグー識別の課題が残された。

なお、現在、協議会においては、認定された父母から産まれた産子のみを新規に登録する体制をとっているため、アグー交雑種との混乱は認められていない。

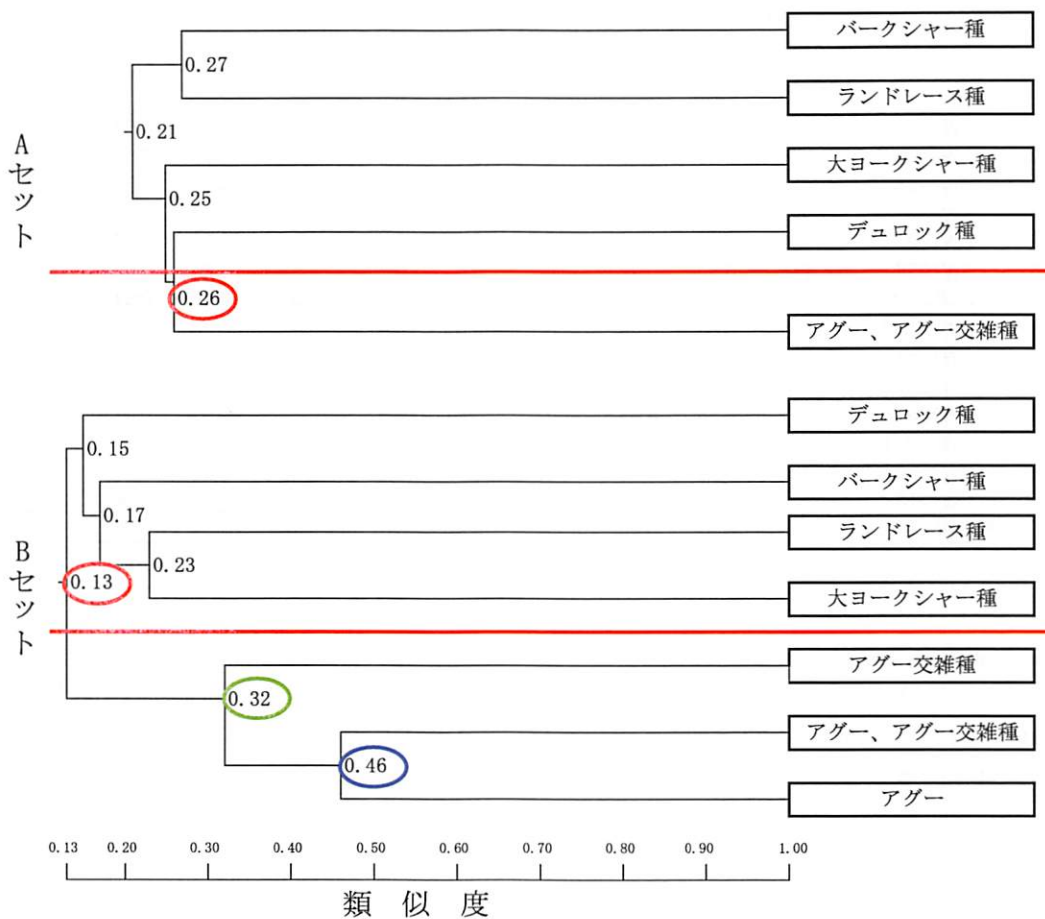


図1 各セットごとの系統樹

注1) 太線は他品種との識別境界線を示す。

2) 類似度が0の数値に近づくほど、アグーと他品種との識別精度は高くなる。

### 3. 分析の効率性とコスト

各個体ではホモあるいはヘテロのアリルが検出され、各マーカーにはアリルサイズの範囲がある。表4および表5には、DNA解析結果から得られた各マーカーのアリルサイズの範囲が示されている。アリルサイズが重ならないマーカー同士を混合(セット化)することによって、DNAアナライザーの1キャピラリー1回ランで複数のMSマーカーのアリルを検出することが可能である。マーカーをセット化することによって、複数のMSマーカーの遺伝情報が得られるため、効率的な分析が可能で、かつコスト低減が図

られる。

図2はアレルサイズ範囲の違うMSマーカー同士をセット化したものを示したものである。例えば、Bセット化No. 8においては、3個のMSマーカーが86～124、132～164および184～226のアレルサイズ範囲を示しており、アレルサイズの範囲が異なるため、その3マーカー同士を混合（セット化）できる。Aセットは12個、Bセットは8個にMSマーカーをセット化することが可能である。1セット化をマイクロプレート1wellで混合すると、Aセットは12well、Bセットは8wellになる。

PCR産物を得た後のマイクロプレート1wellあたり試薬代の分析コストを113円とすると、表6に示すとおり一頭あたりの分析コストは、Aセットの23マーカーではセット化しない場合は113円/well×23well＝2,599円になり、セット化する場合は1,356円になる。セット化しない場合をセット化した場合を比べるとセット化した場合約2倍のコストがかかる。Bセットの14マーカーについてもセット化しない場合はする場合比べ1.7倍のコストがかかる。このことから、アレルサイズが重ならないマーカー同士をセット化する場合としない場合との分析コストを比較すると、Aセットはセット化した場合が約50%、Bセット化は約40%低減できる。

また、Aセット化とBセット化の分析コストを比較すると、Bセット化が906円とAセット化の1356円に比べ分析コストを約30%低減できる。

(単位：bp)

Aセット化		No.	Bセット化	
	110～154	1	99～158	
	110～148	2	66～155	
	110～146	3	105～147	
	134～170	4	98～138	160～248
	125～225	5	105～115	164～192
94～104	120～141	6	80～104	124～144
106～138	145～175	7	96～118	136～160
92～122	141～172	8	86～124	132～164
88～128	134～144	9		184～226
84～96	100～139	10		
92～136	168～192	11		
101～103	121～135	12		

図2 マイクロサテライトマーカーのセット化

表6 一頭当たりの分析コストの試算

セット名	マーカー数	セット化有無	well数	コスト(円)
Aセット	23	無	23	2,599
		有	12	1,356
Bセット	14	無	14	1,582
		有	8	904

## 謝 辞

本研究を行うにあたり、DNA多型解析のご指導いただいた（独）農業生物資源研究所 美川智氏、ブタ耳片採取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) 日本政策金融公庫農林水産事業（2009）牛肉・豚肉のブランド化への取り組みとその評価，AFCフォーラム別冊，情報戦略レポート26，14-26
- 2) 大城まどか・稲嶺修・仲村敏・佐藤正寛・石井和雄・蝦名真澄（2006）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（1）23個のマイクロサテライトマーカーを用いたアグーのDNA多

---

型解析, 沖縄畜研セ研報, 44, 39-42

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・与古田稔 (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

4) Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals, *Genetics*, 89 (3), 583-590

5) Sokal, R. R, Sneath, P. H. A (1963) Principles of numerical taxonomy. W. H. Freeman, San Francisco

6) Sneath P. H. A, Sokal R. R (1994) 数理分類学, 153, 内田老鶴圃

---

研究補助: 又吉博樹, 小波津明彦, 赤嶺圭作