

SNP マーカーを用いたアグーの遺伝構造解析

當眞嗣平 島袋宏俊 親泊元治 我那覇紀子
光部柳子 野中克治 奥村直彦* 荒川愛作**

I 要 約

アグーの遺伝的背景を明らかにするため一塩基多型 (SNP) マーカーを用いて、遺伝構造解析を行ったところ以下のとおりであった。

1. 主成分分析の結果アグーは西洋種、東洋種またはその中間に位置することなく単独のクラスターを形成した。
2. Frappe による豚集団の遺伝構造解析の結果、祖先集団数(K)を K=3 以上とした場合、アグーが単独のクラスターを形成し、西洋種とも東洋種とも異なる独自の集団構成であることが示唆された。

II 緒 言

沖縄県ではアグーを活用したアグーブランド豚を作出して、おきなわブランドの確立に向けた取組みを推進している。アグーは、西洋品種と比べ小型で体上線は中央にくぼみ、体下線も中央に向け湾曲¹⁾するといった東洋種に類似する外貌的特徴を有している。アグーは約 600 年前に中国から渡来した豚が島豚として定着し、明治以降の近代にその島豚と西洋種との交雑により成立したといわれているが、その遺伝構成は明らかにされていない。高田ら²⁾や島袋ら³⁾はミトコンドリア DNA における d-loop 領域の解析を行うことで母系起源からアグーのルーツを検討しアグー集団の遺伝的背景には東洋豚の影響が強く残っていることを明らかにした。本研究では、全染色体上に高密度に配置している SNP マーカーを利用してアグーと他品種との遺伝構造の評価を行った。

III 材料および方法

1. 供試 DNA

供試豚は表 1 に示すとおり、アグー、東洋種 3 品種、ヨーロッパ系・アメリカ系西洋種 7 品種、ミニブタ系統 2 種およびアジア系イノシシ 2 亜種の計 396 頭であった。

DNA の抽出には -20℃ で冷凍保存されている耳介組織および肉片組織を用いた。採材した組織は、プロティナーゼ 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。

* (公社) 農林水産・食品産業技術振興協会 農林水産先端技術研究所

** (独) 農業生物資源研究所

表1 供試豚

クラス	頭数	品種	
アグー	49		
東洋種	31	梅山豚 金華豚	ポットベリー
ヨーロッパ系	153	バークシャー ランドレース 大ヨークシャー	中ヨークシャー
アメリカ系	108	デュロック ハンブシャー チェスターホワイト	
ミニブタ	37	クラウン ニブス	
イノシシ	18	琉球イノシシ 日本イノシシ	

2. SNP マーカーのジェノタイピング

Illumina 社の Porcine SNP60 Genotyping BeadChip を用いて SNP 型を決定した。62163 個の SNP マーカーから SNP およびアレル頻度が 0.1 以下の SNP を除外し、最終的に 37449 個の SNP を解析に用いた。

3. 統計解析

品種間の関係性の評価には、EigenStrat (Ver5.0) による主成分分析を行い、各個体について由来する祖先集団の推定には、Frappe (Ver1.1) を用いた。

IV 結果および考察

1. 各 SNP におけるマイナーアレル頻度 (MAF) の比較

表 1 に得られた各 SNP について MAF 頻度の分布を示す。ヨーロッパ系とアメリカ系の西洋種において、最も多型が確認された。いっぽうアグーや東洋種、イノシシにおいては多型の割合が低くなった。DNA マーカーを育種改良に応用する場合、多型割合が多いマーカーが重要となる。Porcine SNP60 Genotyping BeadChip は主に西洋種ゲノム情報を基に、西洋種の育種改良を目的に作成されたチップである。西洋種に多型が多く、アグーをはじめとする東洋種において多型が少ない結果は、市販のチップが西洋種に多型が多い SNP を抽出して作成されているためと考えられる。アグーの育種改良には、アグーで多型を示す SNP の開発が必要であると考えられる。

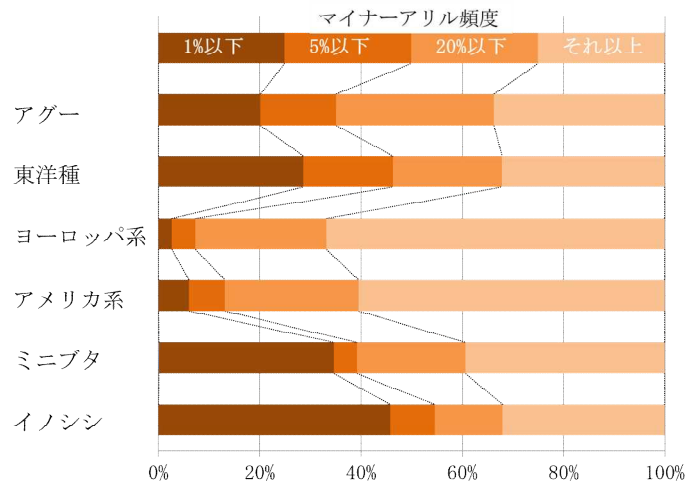


図1 マイナーアレル頻度 (MAF) の分布

2. 主成分分析

主成分分析は、集団間の違いを最大限にする手法であることから遺伝構造解析⁴⁾に利用されている。主成分1と主成分2では、アグー、西洋種および東洋種とする3つクラスターが構成された。西洋種の中に、ヨーロッパ系とアメリカ系のグループに分けられた。アグーは中国からの東洋種に西洋種が交雑されて成立したとされているが、今回の解析では西洋種、東洋種またはその中間に位置することなく単独のクラスターを形成した。

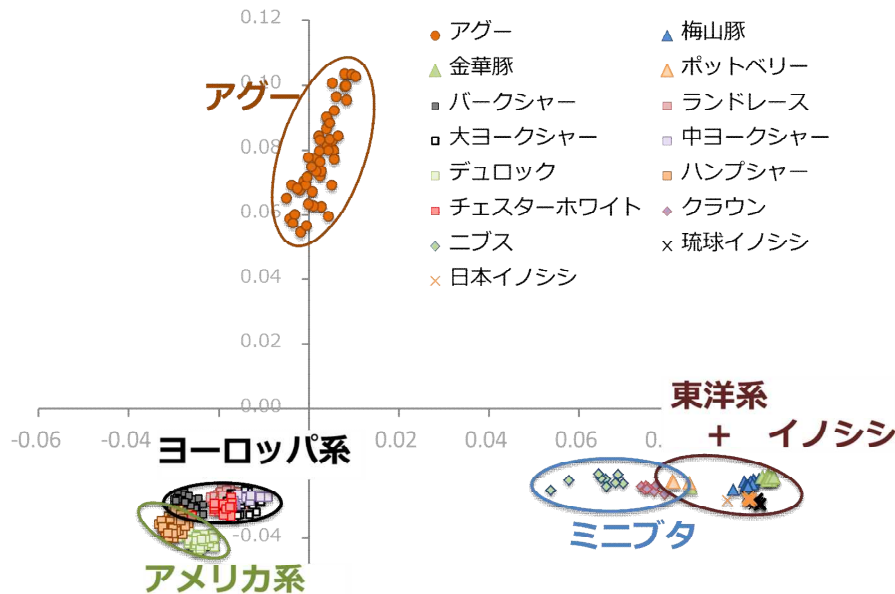


図2 第1主成分および第2主成分の散布図

3. 祖先集団数の推定

図3にFrappeによる豚集団の遺伝構造解析の結果を示す。Frappeは、仮定した祖先集団数Kに対して、個体の遺伝子型情報から最適な祖先集団を推定する方法である。Kを2~8まで変化させ解析を行ったが、ここでは特徴的な傾向が認められたK=2, 3, 8の結果を示す。K=2とした場合には、大きく東洋種と西洋種に分類され、アグーは西洋種に分類された。K=3とした場合、アグーが単独のクラスターを作り、西洋種から分離した。K=8の場合では、アグーと西洋種の主要品種は単独のクラスターに分類された。東洋種はKの値にかかわらず単一のクラスターとして分類され、SNPの情報量が西洋種には十分であるのに対して、東洋種では十分な情報量を持つSNPが少ないためと考えられた。

以上のことからアグーは主成分分析において独自の単独クラスターを形成した。さらに祖先集団の構成について、祖先集団数を3以上と仮定した時、アグーが東洋種および西洋種とも異なる単独の祖先集団から構成されると推定された。アグーは第二次世界大戦や、戦後アメリカ等からの西洋品種が大量に導入にされたことによる急速な雑種化のため、1981年には約30頭にまで激減したという強いボトルネックを経験している。アグーが祖先集団と想定される東洋種および西洋種と異なる独自クラスターを形成したことは、ボトルネックによる遺伝的浮動も原因であると考えられ、今後、F統計量などの推定値を用いてアグーと他品種との集団分化の程度等、詳しい検討が必要である。

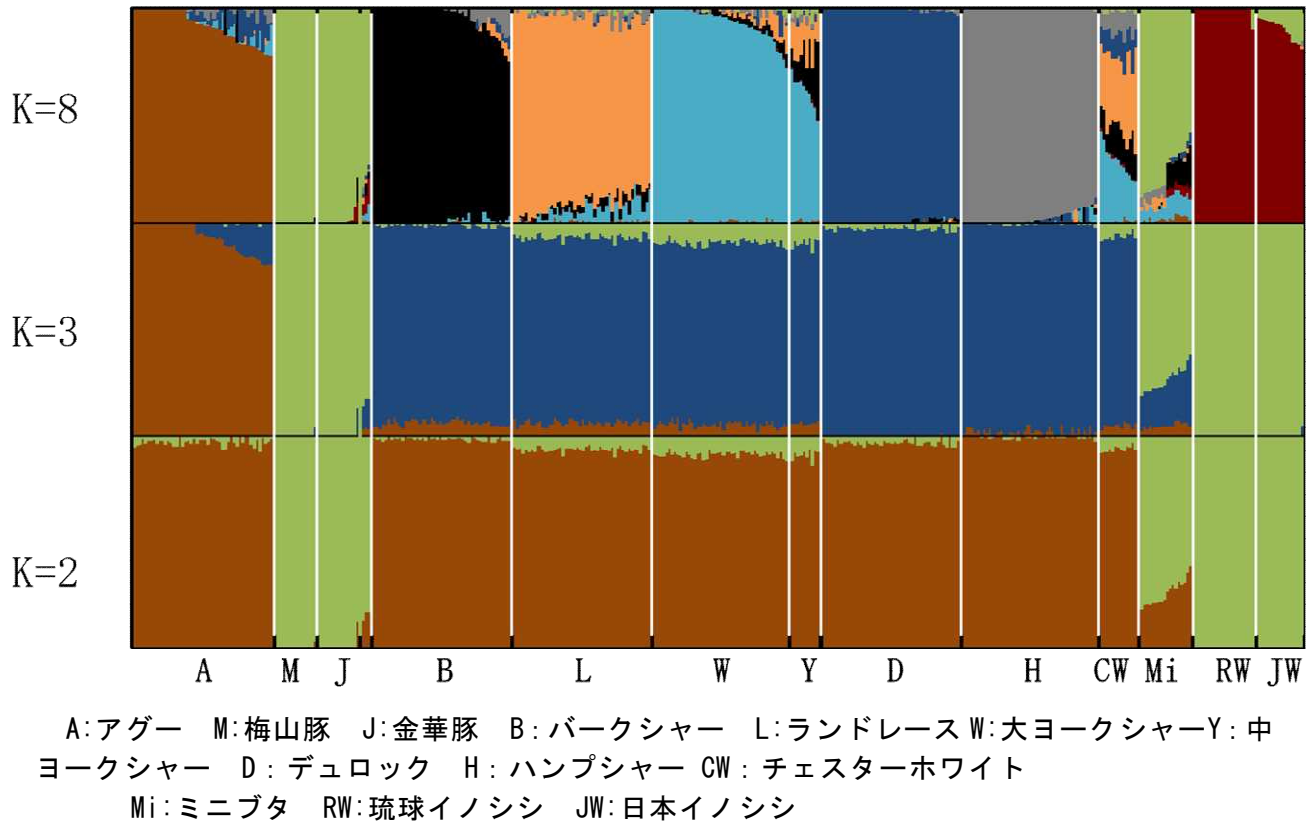


図3 Frappeによる遺伝構造解析

※各個体は垂直なヒストグラムで表され、各色が個体の祖先集団を示す。

VI 引用文献

- 1) 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 (2) フィールド調査における体型と特徴, 沖縄畜研研報, **44**, 39-42
- 2) 高田勝・岡孝夫・高橋遼平・野村こう・花田博文・天野卓・秋篠宮文仁 (2008) ミトコンドリア DNA 情報にもとづく沖縄, 奄美在来豚の系統遺伝学的研究, 日豚会誌, **45**(4), 187-192
- 3) 島袋宏俊・稲嶺修・仲村敏・宮城正男・佐藤正寛・石井和雄 (2009) 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, 沖縄畜研研報, **47**, 29-36
- 4) Matsumoto T, Okumura N, Uenishi H, Hayashi T, Hamasima N, Awata T (2012) Population structure of pigs determined by single nucleotide polymorphisms observed in assembled expressed sequence tags *Animal Science Journal* 83(1):14-22