

阿波とん豚の発育能力に関する研究（第2報）

武田真城・福岡まどか・新居雅宏

要 約

阿波とん豚に残存し、なおかつ生産性に負の影響を及ぼす日本猪由来の染色体領域を探索した。1日平均増体重（ADG）を発育能力の指標として用い、阿波とん豚の作成に用いた日本猪2個体、デュロック種18個体および調査豚861個体を対象に第4、第7および第8染色体の計11座位のマイクロサテライトDNAマーカーについて解析した。その結果、計7座位のマイクロサテライトDNAマーカーでは日本猪と豚をマーカーレベルで完全に判別可能であり、第7染色体では解析した調査豚の37.1%の個体に、第8染色体のSW905付近では65.2%の個体に日本猪由来の遺伝子が残存していた。また、SW905付近に残存している日本猪由来の遺伝子は阿波とん豚の発育に負の影響を及ぼすことが示唆されたため、SW905を指標として種豚から日本猪由来の遺伝子を除くことで阿波とん豚の発育能力の改良が期待できる。

目 的

阿波とん豚は、第6染色体上腕部および第15染色体中央部について、日本猪由来の染色体を連続的な戻し交配により導入した系統である。これらの領域には日本猪と大ヨークシャー種との兄妹交配家系におけるQTL解析により染色体上での位置が明らかとなった日本猪の肉質関連遺伝子が存在している¹⁾²⁾。阿波とん豚は日本猪の肉質を継承しており、消費者から美味しいと評価されている。一方、一般的な品種よりも繁殖性および発育性などの生産性が低いことから、生産コストの上昇を招き、飼養頭数の増加が図られていない。

阿波とん豚は豚への交配を4回以上繰り返し、理論上、日本猪由来の遺伝子は6%程度であり、日本猪由来の遺伝子が及ぼす負の影響は無視できるレベルと推察していた。一方、上述のF₂兄妹交配家系における産肉性に関するQTL解析では、日本猪由来の遺伝子が発育性に負の効果を示すQTLが複数の領域で検出されている³⁾。このうち、特に効果の大きかった第1および第4染色体はマイクロサテライトDNAマーカーを利用したマーカーアシ

スト選抜（MAS）によって既に系統内から除かれている。しかし、同様に発育性への影響が示唆されたものの比較的効果が小さいと計算された第7および第8染色体については種豚の個体数を確保する観点から積極的な排除を行ってこなかった。また、既に日本猪由来の遺伝子が除かれた染色体も2個体目の日本猪と交配を行ったことで遺伝子が再度導入されている可能性がある。

よって、本研究ではこれまでに選抜が行われてこなかった第7および第8染色体を対象に阿波とん豚における日本猪由来の遺伝子の残存について調査した。また、第4染色体についても日本猪の遺伝子の再導入について調査し、残存遺伝子の発育性への影響を解析した。

材料および方法

2020年4月から2022年8月までに生産された阿波とん豚系統の去勢雄421個体および雌440個体を調査豚として3週齢時の体重および150日齢時の体重を測定し、1日平均増体重（g/日）を算出して発育能力の指標とした。

DNA 解析に用いたプライマーおよび各プライマーで解析した調査豚の個体数を表 1 に示す。第 4, 第 7 および第 8 染色体をそれぞれ 4 座位, 5 座位, 2 座位のマイクロサテライト DNA マーカーを用いて解析した。阿波とん豚の作成に用いた日本猪 2 個体, デュロック種 18 個体および調査豚 861 個体からフェノール・クロロホルム法⁴⁾により DNA を抽出した。PCR 反応液の組成は DNA (3 μ L, 10-20 ng/ μ L), AmpliTaq Gold (0.075 μ L) (Applied Biosystems), GeneAmp 10 \times PCR Buffer II (1.5 μ L), 8 mM dNTPs (1.5 μ L), 25 mM MgCl₂ (0.9 μ L), プライマーセット (各 1.06 μ L), 蒸留水 (5.03 μ L) とした。PCR は 3 種のプライマーセットを用いたマルチプレックス PCR を基本とし, 3 種のプライマーセットが組めない場合は等量の蒸留水を加えた。PCR の温度条件は, 94 $^{\circ}$ C で 15 分間加熱後, 94 $^{\circ}$ C で 30 秒の熱変性, 57 $^{\circ}$ C で 1 分 30 秒のアニーリング, 72 $^{\circ}$ C で 1 分の伸長反応を 33 サイクル繰り返し, 最後に 60 $^{\circ}$ C の伸長反応を 10 分間行った。PCR 産物は Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems) によりキャピラリー電気泳動を行い, Genemapper[®] Software 5 (Applied Biosystems) でサイジングを行った。

遺伝子型は, 日本猪と同型のアリルをホモで持つ個体を猪/猪, 日本猪では検出されなかったアリルをホモで持つ個体を豚/豚, それぞれのアリルをヘテロで持つ個体を豚/猪とし, 統計ソフト R⁵⁾を用いて各遺伝子型の ADG を t 検定または Tukey-Kramer 法により比較した。

結果および考察

日本猪と豚をマーカーレベルで完全に判別できたマイクロサテライト DNA マーカーは第 4, 第 7 および第 8 染色体でそれぞれ 4 座位, 1 座位, 2 座位であった。複数の遺伝子型が検出されたマイクロ

サテライト DNA マーカーにおける各遺伝子型の ADG を図 1 に示す。

第 4 染色体の SW871, SW839 および SW1089 では調査豚の多く (SW871:98.0%, SW839:98.6%, SW1089:100%) が豚/豚に分類され, 日本猪由来の遺伝子はほぼ残存していなかった。一方で, SW2435 では比較的多くの個体が豚/猪 (26.5%) に分類され, 部分的には日本猪由来の遺伝子が残存していた。しかし, いずれのマイクロサテライト DNA マーカーでも遺伝子型間で ADG に有意差は認められなかった。既報³⁾では発育性に影響する QTL の存在が第 4 染色体の 70 cM 付近に示唆されている。SW2435 は 102.8 cM に位置している一方で, 70 cM に最も近い SW1089 では豚/豚のみが検出されていることから, 第 4 染色体では SW2435 と SW1089 の間で組換えが生じ, SW2435 付近には部分的に日本猪由来の遺伝子が残存しているものの, SW1089 付近では発育性に影響する日本猪由来の遺伝子は除かれていると考えられる。

第 7 染色体の SW1681 では猪/猪に分類された個体は 2.3% と少なかったものの, 豚/猪に分類された個体が 34.8% と多く, 第 4 染色体よりも日本猪由来の遺伝子が多く残存していた。ADG は去勢雄 (豚/豚: 561 g, 豚/猪: 565 g, 猪/猪: 509 g) および雌 (豚/豚: 519 g, 豚/猪: 526 g, 猪/猪: 495 g) のいずれでも遺伝子型間で有意差は認められなかったが, いずれの性別でも猪/猪の個体は低い ADG を示した。しかし, 猪/猪は個体数が少ないため, ADG の低さが日本猪由来の遺伝子によるものなのかサンプルの偏りによるものなのか判別できず, 今後も解析個体数を増やす必要がある。SW1681 の解析結果によると第 7 染色体にはいまだに日本猪由来の遺伝子が多く残存している可能性が高い。また, マーカーレベルでの判別ができなかったため結果に含めなかったが, SW1856 の解析結果によ

ると、去勢雄では日本猪と同じアリルをヘテロで持つ個体は持たない個体よりも ADG が有意に低く ($p < 0.01$)、雌では日本猪と同じアリルをホモで持つ個体は持たない個体よりも ADG が有意に低い ($p < 0.05$)。そのため、SW1856 と連鎖不平衡にある遺伝子が発育性に影響を及ぼしている可能性は高い。今後は SW1856 に染色体上の位置が近く、日本猪と豚をマーカーレベルで完全に判別できる DNA マーカーを探索し、再度解析を行う必要がある。

第 8 染色体の SW905 では解析したマイクロサテライト DNA マーカーの中で最も多くの個体 (65.2%) が日本猪由来の遺伝子を持つ遺伝子型に分類された。また、去勢雄 (豚/豚 : 569 g, 豚/猪 : 558 g, 猪/猪 : 549 g) では遺伝子型間で有意差は認められなかったものの、雌では豚/豚 (536 g) が豚/猪 (509 g) よりも有意に高い ADG を示した ($p < 0.05$)。一方で、SW933 では全個体が豚/豚に分類された。2 座位のマイクロサテライト DNA マーカーによる遺伝子型の判別結果の違いは、阿波とん豚を作成する交配の初期段階で組換えが生じ、部分的に日本猪の遺伝子が導入されたことを意味している。また、SW905 では雌だけではあるが豚/豚の ADG が豚/猪よりも有意に高く、既報³⁾においても第 8 染色体の 20 cM 付近で発育性に影響する QTL が検出されている。よって、組換えにより部分的に導入された日本猪由来の遺伝子領域に発育性に関連する QTL が含まれており、阿波とん豚の発育性に負の影響を与えている可能性が高い。

本研究において第 4, 第 7 および第 8 染色体をマイクロサテライト DNA マーカーにより解析した結果、第 4 染色体には日本猪由来の遺伝子がほぼ残存していない一方で、第 7 および第 8 染色体にはいまだに多くの個体に日本猪由来の遺伝子が残存していることが明らかになった。また、第 8 染色

体では組換えにより部分的に残存した日本猪由来の遺伝子が阿波とん豚の発育性に負の影響を及ぼしている可能性が高いことも明らかになった。今後は、SW905 による解析結果をもとに日本猪由来の遺伝子を持つ個体を種豚から除いていくことによって阿波とん豚の発育性の改良が期待できる。

文献

- 1) Nii, M., Hayashi, T., Mikawa, S., Tani, F., Niki, A., Mori, N. and Awata, T. J. Anim. Sci. 83:308-315. 2005
- 2) Nii, M., Hayashi, T., Tani, F., Niki, A., Mori, N., Awata, T. and Mikawa, S. Animal Genetics. 37:342-347. 2006
- 3) 新居雅宏・谷史雄・森直樹. 徳島畜研報 2, 38-48. 2002
- 4) Asahida, T., Kobayashi, T., Saitoh, K. and Nakayama, I. Fish Sci. 62(5):727-730. 1996
- 5) R Core Team. <https://www.R-project.org/>. 2022

表 1 プライマーおよび解析個体数

染色体	プライマー	配列	組換え価 (cM)	解析個体数
4	SW871	5'-ATCCCTGTTTCCTCCACGTC-3'	47.8	去勢雄: 235
		5'-AATTAAGCCATTCACTGGGG-3'		雌: 258
4	SW839	5'-GGAAACCAGGATAACAGGAGG-3'	62.3	去勢雄: 234
		5'-TAACCCACTGTACCACCAAGG-3'		雌: 254
4	SW1089	5'-TTTTCCCTTCACTCACCC-3'	69.6	去勢雄: 177
		5'-GATCAAAGTCCTTACTCCGG-3'		雌: 202
4	SW2435	5'-CAAAGCAGATGCACAGTTTAGG-3'	102.8	去勢雄: 195
		5'-CAGAGGGTTGTTGGTGGG-3'		雌: 193
7	SW1856	5'-TCATTCCAACACACAGAGTCC-3'	61.5	-
		5'-TTGTATGGTATCCTGTGATGCC-3'		-
7	SW1681	5'-TTGATTTGCAATGTGGTGC-3'	73.4	去勢雄: 410
		5'-GATCATGATGGAACATAGTATGC-3'		雌: 426
7	SW175	5'-TCACACCTGTATAAGAGATGCA-3'	81.5	-
		5'-TGTTGGGCAAAATCTGAATT-3'		-
7	SW1418	5'-CCCCTCTCTATGGGGTGTG-3'	82.8	-
		5'-TTCCTGAGGACAGCCAG-3'		-
7	SW2040	5'-TTGACATTGTGCTCTGTTAACCC-3'	90.0	-
		5'-GAAGGAAGGAAGAAAAGAGGG-3'		-
8	SW905	5'-ATCCCAACCTCTTTTCAAAGG-3'	20.0	去勢雄: 418
		5'-TCCAGTGGCAGAACACATG-3'		雌: 435
8	SW933	5'-ACATATACTCCGACAGCCCC-3'	46.3	去勢雄: 353
		5'-AAGAGCTTGGTGAATTGAGAGC-3'		雌: 379

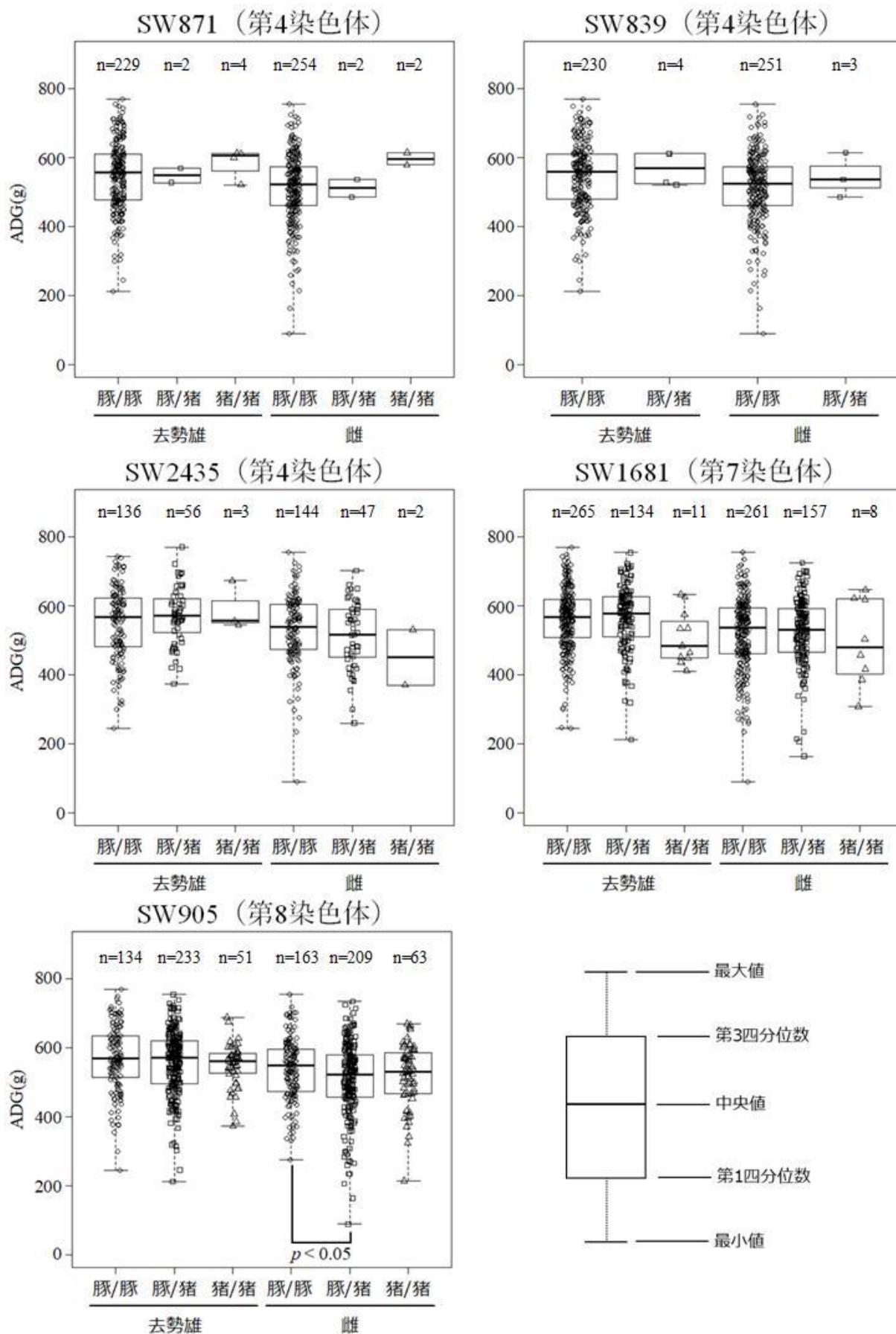


図1 複数の遺伝子型が検出されたDNAマーカーにおける各遺伝子型のADG

*プロットは各個体のADGを表す