

島袋 宏俊・美川智¹⁾・奥村直彦²⁾・○當眞嗣平
(沖縄畜研・¹⁾生物研・²⁾STAFF研)

【目的】

演者らは、アグーブランド豚推進協議会（以下、協議会）で登録認定されたアグー集団のmtDNA d-loop領域の母系解析を行い、2つの東洋系タイプと3つの西洋系タイプのハプロタイプに分類した。しかし、協議会により登録された雌豚全体についてははまだ解析がなされていない。

そこで、協議会が登録認定したアグー種雌豚239頭について、mtDNA d-loopの242bp領域において母系解析を行ったので報告する。

【材料および方法】

1. 材料豚

協議会によって登録され、認定されているアグー種雌豚286頭を用いた。

2. DNAの抽出

DNAの抽出には-20℃で凍結保存されている耳介組織を用いた。採材した耳の組織は、プロテイナーゼ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。

3. mtDNA d-loop領域のPCR

mtDNA d-loop領域のPCRには全ゲノムDNA50ngを用いた。プライマーには、mitM1 (Forward primer 5'-GGAGACTAACTCCGCCATCA-3', Reverse primer 5'-GCACCTGTTRGATTRTCG-3') 10.0pmolを使用した。PCRは、サーマルサイクラー (GeneAmp™ PCR System9700:Applied Biosystems社製)を用い、反応条件は94℃30秒, 68℃1分を10サイクル, 94℃30秒, 60℃20秒, 72℃1分を40サイクルとした。

4. 塩基配列の決定

塩基配列はこのPCR増幅産物とBigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems社製)を用い、ジデオキシ法により決定した。シーケンシング用のプライマーには、mitM1f (5'-GGAGACTAACTCCGCCATCA-3') 1.6pmolを使用した。塩基配列の決定にはシーケンサー (3130xlGenetic Analyzer:Applied Biosystems社製)を用いた。

5. 調査項目

得られたd-loopの242bp領域の塩基配列について、演者らの報告によるハプロタイプと照合し、東洋系タイプと西洋系タイプの頭数を調べた。

【結果および考察】

1. ハプロタイプ別頭数

アグー種雌豚239頭のハプロタイプとその頭数を表1に示した。タイプ別頭数については東洋系タイプ2が140頭と最も多く、次いで東洋系タイプ1の51頭であった。東洋系タイプの頭数は191頭で、供試豚全体に占める比率は79.9%であった。

2011年2月28日現在、協議会によって登録認定されている種豚は570頭である。そのうち雌の登録頭数は286頭であったが、DNA品質の劣化により塩基配列の決定されないものが47頭認められた。その結果、母系解析によりハプロタイプ別頭数が判明したのは239頭で、種雌豚全体の83.6%を占める。

協議会によって登録されている種豚570頭中の雄、雌の東洋系タイプ、西洋系タイプおよび不明に区分した比率を図1に示す。アグー種豚雄と東洋系タイプ雌はアグー集団全体の83.3%を占め、西洋系タイプ雌は8.4%であった。

表1 アグー種雌豚のmtDNA d-loop領域における塩基置換部位

ハプロタイプ	塩基置換部位(b)								頭数	
	109	124	131	137	146	154	158	182		242
東洋系	C A - A T T G C T								51	191
タイプ2	C A - A T T G C C								140	
西洋系	T T G C C C A T T								22	48
タイプ2	T T G C C C A C T								26	

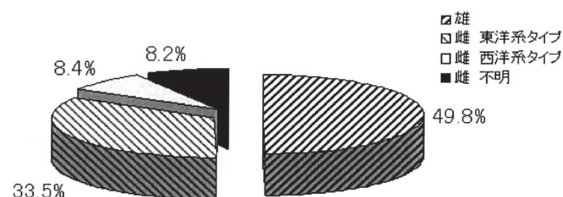


図1 アグー集団の雄および雌の各タイプの示す比率