

## シンポジウム報告

## 第1回「家畜育種・遺伝セミナー」

田村 千秋

北海道立中央農業試験場

## はじめに

第1回家畜育種・遺伝セミナー「北海道における家畜DNA育種技術の展開」が、十勝管内新得町のトムラ登山学校レイク・インを会場に開催された。主催は、北海道立新得畜産試験場、北海道農業研究推進会議畜産・草地部会および農業低温科学研究会畜産部会である。セミナーは、3人の講演者からの基調講演、7人の発表者からの研究紹介、さらに参加者を交えての総合討論によって構成された。参加者は、道内の畜産関係の試験研究機関、大学、関係団体を中心に、本州の研究機関・団体からの参加者を含めて、60名を超える人数となった。このため、主催者が用意した会場は狭いくらいとなる盛会であった。

## 基調講演

伊藤（北農試畜産部）の座長のもとに、最初は杉本喜憲（動物遺伝研）が「和牛肉質のQTL解析」との題名で講演を行った。内容は、急速に進められてきたDNA連鎖解析の原理と概念、ウシゲノム連鎖地図などの解説、家畜改良事業団や道県が共同で行っているDNA育種事業を含め実際のマーカーアシスト選抜の現状を示したものであった。連鎖解析については、演者らがベルギーの研究者と共同開発した解析プログラム「エッセイ」を用い、黒毛和種の日増体重やBMSなどの形質のDNA型判定に応用した解析結果を報告した。黒毛和種では優れた遺伝的能力を持つ特定の種雄牛へ人気が集まるため近交度が上昇し劣性遺伝病が発生する可能性がある。この不良因子のキャリアの有無をDNAから判定する手法の開発を、特定の疾病についてゲノムの3個所に絞り近位置のDNAマーカーのスクリーニングなどによって進めていることを報告した。さらに、DNAマーカーについて、基礎牛群の型判定とその結果に基づく計画交配を行い、作成した受精卵のDNAマーカーの型判定後移植する。検定用子牛や直接検定後の後代検定用候補牛の選抜にもDNA型判定を行い、これらの試験を重ねてDNAマーカーの評価を行うなど、マーカーアシスト選抜の実用化に向けたプロセスを示した。

次いで安江博（農水省畜試）が「ブタマーカー地図作成と関連遺伝子のマッピング」と題して、我が国に



写真1 基調講演に聞き入るセミナー参加者

におけるブタゲノム解析の進捗状況と、97年2月に開催されたヨーロッパブタゲノム会議での情報などから諸外国でのブタゲノム解析の進捗状況を報告した。そのうちタイプ1型マーカーについて、肝臓で発現している遺伝子のcDNAライブラリーの作成、1,000個以上のクローンについての塩基配列の決定、遺伝子の検索と染色体上の位置の決定等の取り組みを紹介した。また、脂質代謝と関連した15個の遺伝子のクローニングも進めているという。タイプ2型マーカーについても、ヨーロッパのPiGMaPプロジェクトと共同でマーカーの検索を進めており、73のマーカーを単離して21個のマーカーは解析が終了している。蛍光in situハイブリダイゼーションを用いた遺伝子およびマーカー配列の位置解析については、27個の遺伝子および12個の連鎖マーカーについて位置を特定した。資源家系の構築については、94年から全国の関係機関が共同で始め、250マーカーを用いているが、畜試の試験的な解析で、推骨数、乳頭数（右側）を支配する領域が第1、第6染色体上にあることが判明してきているという。

最後に、富樫研治（北農試畜産部）は、「QTL検出とDNAマーカー育種」との題名で講演を行った。マーカー対立遺伝子が2の場合のQTLの推定遺伝子型を示すとともにドーナーデザインに基づくQTL検出の統計的方法の概要を示した。QTLの片側にのみマーカーがあるシングルマーカーと両側にあるフランキンクマーカーによるQTLの優れた遺伝子Qを選ぶ確率を比較してみると、フランキンクマーカーの方が2重交叉なしの場合100%の確率でQを選ぶことができること、交叉がある場合も一定の確率でQを選べる



写真2 講師を交じえての総合討論

ことから、シングルマーカー選抜法より優れていることを報告した。次いで、マーカーによる選抜モデルとして、乳牛におけるDNAマーカー育種の例を示した。QTLとマーカー遺伝子がヘテロであるグランドサイアーを交配して生産した娘牛について泌乳開始後、マーカーとQTLの解析を行う。ここで得た情報はグランドオフスプリングの選抜に生かされ、従来の乳量、乳質などの育種価等の情報に加え、新たにDNAマーカーの情報を加えることができるため、より選抜の正確度を高めることが可能となる。また、QTLをはさむマーカー間距離、置換効果、マーカー対立遺伝子数に対して、種雄牛の家系サイズが39頭の場合、対立遺伝子を多くもっていればいるほど、QTLの検出精度が高まることを示した。

## 研究紹介

田村（道立中央農試）座長のもとで、道内の大学、研究機関における研究紹介として、7人から発表が行われた。まず、佐々木整輝（北大・農）が、反復配列を用いた家畜の染色体の同定について発表した。ブタの反復配列pM/F-1258をもとに作成したプローブを用いてFISH法を行い第13～18番染色体のセントロメアにのみシグナルを観察した。さらに、PRINS法を用いた反復配列領域のシグナル検出について、実験で対象とした雄特異的反復配列DNAはコピー数が多いため安定した検出が可能であることを示唆した。

内藤学（滝川畜試）は、豚の増体・強健性に関するDNA選抜技術について発表した。農水省畜試が中心となり8道県の畜試で共同してとりくんでいるプロジェクト研究のうち、主に滝川畜試での調査内容を紹介した。雌系は梅山豚とし、雄系はランドレースおよび大ヨークシャーとしてF1およびF2世代を生産し、各県共通の枝肉形質、筋肉・脂肪の特性などの他、主に増体重と肢蹄の強健性を測定し、DNAマーカーの位置を明らかにする計画である。調査形質のうち、ロース芯面積や背脂肪厚はF2世代で変異も大きいことから連鎖解析も可能と推測されるとのことであり、成果が期待される。一方肢蹄の強健性等では測定方法

の確立等の問題もあり解析についてはもう少し時間がかかるとのことである。

陰山聡一（新得畜試）は、PCR法による牛胚の性別判別について報告した。増幅されるDNAバンドの数が雄で2本、雌で1本となる1組のプライマーを設計した。このプライマーは1組で、雌雄判別とサンプリングチェックに用いることができ、特許認可を受けている。また、道家畜改良事業団と共同で、農家の庭先まで出かけ、採卵、性別判別、移植を一貫して行う野外性別判別試験についても紹介した。現在府県の試験機関と共同で、サンプル採取の際にダメージを受けた胚の凍結保存法を確立し判別胚（凍結）の受胎率向上に取り組んでおり、この結果も注目される。

渡辺智正（北大・獣）は、マウスおよびウシの細菌感染抵抗性遺伝子(Nramp)について発表した。マウスの抵抗性系統と感受性系統を用いた感染実験の結果抵抗性マウスは感受性よりNO産生量が著しく多く、その差はiNOSの発現量と一致していた。NrampのmRNAは、抵抗性、感受性に関係なく恒常的に発現し、Nrampコンジュニックマウスを作成しても同様であったことから、NO産生量は単一の遺伝子によること、感受性マウスのNrampは機能欠損タンパクと考えられることを報告した。さらに、ウシを対象にマウスの抵抗性、感受性を決定する第4膜貫通部位に相同する塩基配列を数品種について調べ、マウスやヒトなどと比較検討している。

川本哲（新得畜試）は、同場で行ってきた小型ピロプラズマ病研究について報告した。放牧前の舎飼時期にタイレリア感染血液を接種し感染耐過後放牧する方法については、ストレスによる再発症やワクチン接種牛がキャリアとなるため牧野汚染などの問題点がある。このため同場では小沼らのグループとともに、不活化ワクチンの開発を試みている。牛に感染防御能を誘導するピロプラズマ由来の抗原決定基を探索し、遺伝子組み換え技術などを用いてワクチン候補物質を生産、このワクチンについて一定の効果を確認したが、実用化にはなお検討が必要であると報告した。同場の過去15年間の診療データや原虫寄生率などから、本病の抵抗性には差異があり、今後は遺伝的抵抗性についても重視するという。

最後に藤川朗（新得畜試）が、小型ピロプラズマ病抵抗性遺伝子マッピングのためのファミリー造成について発表した。同場の調査から、小型ピロプラズマ病に対しては黒毛和種の抵抗性が高く、ヘレフォードの抵抗性が低いことが判明している。そこで同病の抵抗性遺伝子のマッピングのため両品種によるリファレンスファミリーの造成に着手した。現在、黒毛和種とヘレフォードのF1、F2、バッククロスによる交雑子牛の生産、さらには抗病性検定のための予備試験、F1雄牛と両親のマイクロサテライト遺伝子型判定などを計

画し、それぞれ造成あるいは調査を進めている。F1雄牛と両親の遺伝子型判定については、約130個のマーカーでF1の遺伝子型がヘテロで親世代からの対立遺伝子を判定することができ、さらにF1雌牛15頭について両親とともにマイクロサテライトの遺伝子型を判定中という。牛におけるリファレンスファミリーの造成例は数少なく、成果が目される。

### 総合討論

基調講演と研究紹介を終えた後は、峰沢満（農水省畜試）座長のもとで総合討論が進められた。まず従来から取り組まれている統計的育種法とDNAマーカーを利用した育種法との関係やDNAマーカー育種法の問題点などが論点となった。富樫は、乳牛の改良経過を見るとアニマルモデルに基づく育種により乳量で年当たり120Kg程の改良成果が図られており、DNA育種でこれを上回る成果を達成することは難しいと思われるが、ポリジーンを想定した育種法をDNA育種でどのように補強するかという視点が必要であることを指摘した。安江はDNAマーカー育種がアニマルモデルで育種可能な形質以外にも例えば遺伝病を起こす不良因子の除去など応用範囲は広いことを述べた。杉本は、マーカーの信頼性などの課題はあるが、特に年数

のかかる牛の検定の効率化にDNAマーカーの利用は重要であり、受精卵の段階からどれだけDNAが調べられるかポイントになると指摘した。次に、育種技術を応用している民間企業や団体の参加者から、今後のDNAマーカーの利用について発言があった。三宅（シムコ）は、現段階では一般企業として直ちにDNAマーカーを利用するのは難しいが、今後の課題としては、大腸菌やマイコなど疾病対策や種豚場でのヘルニア防止や乳頭数の改良に応用してみたいと述べた。また、清水（家畜改良事業団）は、DNAマーカーを可能な部分から応用したいとし、当面は親子判定、将来はムレ肉防止など生産面でも開発された技術を利用したいと述べた。

### おわりに

本文中においては敬称を省略させていただいた。先端の研究内容を含むセミナーであったが参加者が多く、ゲノム研究や新しい技術を活用して一層の家畜育種を進めようとする関係者の熱意が感じられて幸いであった。次回のセミナーでは、各機関での研究が着実に進展し、具体的な成果の報告とそれを基にした論議が活発に展開されることを期待したい。