



あたらしい 農業技術

No.578

三元交雑豚の銘柄鑑別

平成 24 年度

要 旨

1 技術、情報の内容及び特徴

- (1) 大ヨークシャー種系統豚「フジヨーク」のミトコンドリア DNA(以下 mtDNA)の中に、「フジヨーク」に特徴的な DNA タイプがあり、他のブタとの識別に利用可能であることが明らかとなりました。
- (2) 「フジヨーク」の後継である「フジヨーク 2」の系統造成過程で、mtDNA を上記のタイプに斉一化しても、改良に悪い影響を及ぼさないことが確認されました。
- (3) 止め雄の DNA にも目印となる部位を持たせることで、三元交雑豚を銘柄レベルで識別することが可能となります。

2 技術、情報の適用効果

種豚の遺伝子解析や IC チップ入り耳標等のコストをかけることなく、銘柄豚の識別が可能になります。

3 適用範囲

「フジヨーク 2」を活用して銘柄化を図る養豚農家。
畜産指導者、種豚生産農場等の畜産技術者。

4 普及上の留意点

F1 種雌豚は「フジヨーク 2」を母とする WL 等に限る。
種雄豚の DNA 上の目印については更に検討が必要。

目 次

はじめに	1
1 ミトコンドリア DNA によるフジヨークの鑑別	1
(1) フジヨークに特徴的な DNA タイプの検出	1
(2) 食肉センター出荷豚での検証	3
(3) 斉一化する DNA タイプの決定	3
2 ミトコンドリア DNA の斉一化と育種への影響	3
(1) フジヨーク 2 の系統造成	3
(2) DNA タイプと各種検査成績	4
3 三元交雑豚における銘柄鑑別	5
(1) 試験的三元交雑豚の作成	5
(2) 市販豚肉との鑑別	5
おわりに	6
参考文献	6

はじめに

近年、農畜産物の偽装表示が社会的な問題となっており、食品表示に対する消費者の不信感が高まっています。このような背景から、様々な農畜産物において品種や産地を科学的に証明する手法の開発が急がれているところです。

現在、ブタでは毛色関連遺伝子を利用することにより各品種を判別することができ、いわゆる「黒豚」(パークシャー種)の鑑別技術として実用化されて、不正流通の抑止効果を発揮しています。

一方、静岡県では、当センターで造成した大ヨークシャー種系統豚「フジヨーク」とデュロック種系統豚「フジロック」を用いた「静岡型銘柄豚」の普及・拡大を推進しています。「静岡型銘柄豚」は「フジヨーク」「フジロック」の血縁が75%以上の交配であることが条件となり、「フジヨーク」を母系の雌、「フジロック」を止め雄にしたWLD三元交雑を推奨し、その大半を占めています。

そこで、この「静岡型銘柄豚」に付加価値として「本物を証明できる安心感」を持たせるべく、その鑑別方法を検討し、「フジヨーク」に特異的なDNAタイプに統一した「フジヨーク2」を完成させました。

今回は、この「フジヨーク2」から生産される三元交雑豚について、上記血縁条件を満たした銘柄豚肉であることの識別法を試験的に作出した三元交雑豚を用いて検討しました。

1 ミトコンドリア DNA によるフジヨークの鑑別

ミトコンドリアは細胞内にある小器官で、核の中のDNAとは別のDNA(ミトコンドリアDNA、以下mtDNA)を持っています。そしてこのミトコンドリアは「母系遺伝」といって、母親のものだけがそのまま子供に伝わる性質を持っています。

つまり、三元交雑豚WLDの母系の祖母になる「フジヨーク」のmtDNAは必ず肉豚に伝わるため、特徴的なmtDNAを見つければ、「フジヨーク」の子孫であることがわかります。

(1) フジヨークに特徴的なDNAタイプの検出

DNAの構成成分には塩基といわれる4つの物質(アデニン、グアニン、チミン、シトシン)があり、この配列の方法が遺伝情報になっています。ところが、この塩基の配列は一部変異することがあり、豚の中でも品種を区別する目印になったり、同じ品種の中でも系統の目印になったりします。

そこで、mtDNA上の「フジヨーク」の目印を見つける目的で、他県から導入した3系統の系統造成豚(岐阜県、徳島県、富山県)と「フジヨーク」からなる大ヨークシャー種29頭について遺伝子解析を行いました。その結果、DNAタイプ(ハプロタイプ)は、10種類に分けられ、「フジヨーク」の多くはタイプ5ないしタイプ8であることがわかりました(図1)。

DNAタイプは、PCRという方法で増幅したDNAに特定の酵素を反応させ、DNAが切断されるかを調べるもので(PCR-RFLP法)、電気泳動によるバンド(白い線)のパターン(本数や出る位置)により判定します。今回は、一つのタイプに対して2種類の酵素(タイプ5ではSph IとCla I、タイプ8ではHph IとBsmF I)を使用して判定しました(写真1)。

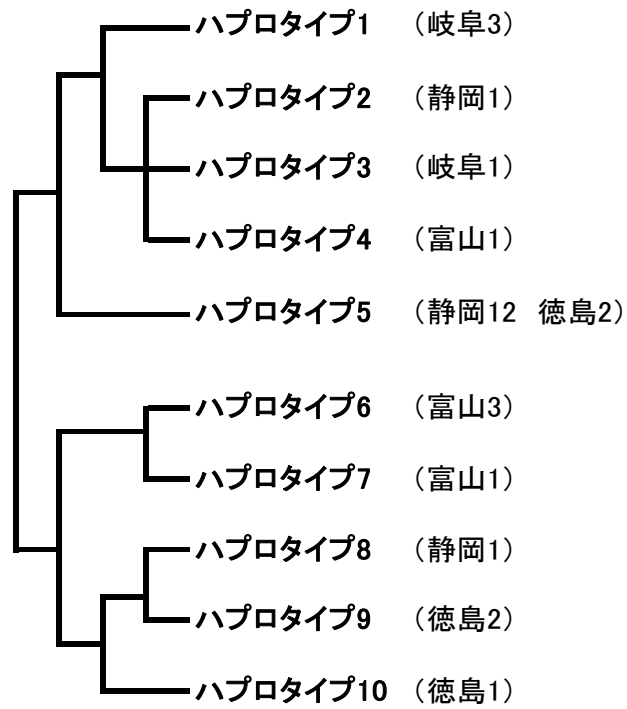


図1 mtDNA 非コード領域約 710bp の塩基配列に基づいた系統樹
 () 内はハプロタイプの確認されたブタの県名と頭数

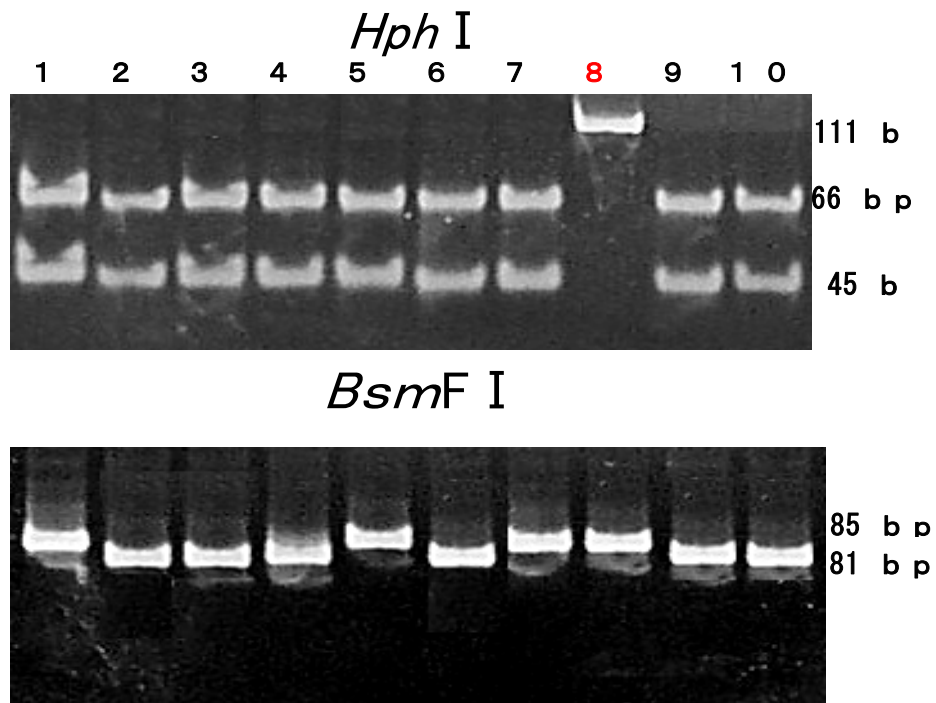


写真1 2種類の制限酵素によるDNAタイプ8の識別
 1~10の数字はDNAタイプ、アルファベットは酵素名を示す。

(2) 食肉センター出荷豚での検証

これらの DNA タイプが「フジヨーク」に特徴的で、他の豚肉との鑑別に使用できるかを調査するため、県内の 1 食肉センターに出荷された肉豚 198 頭の血液から DNA を抽出して、同じタイプのブタがどの程度流通しているかを調べました。

その結果、タイプ 5 の酵素のうち Sph I では 15 頭 (7.6%) で同じものが見られましたが、もう一つの酵素 Cla I では同じものは認められませんでした。また、タイプ 8 も 3 例 (1.5%) と比較的少数であることがわかりました (表 1)。

表 1 食肉センター出荷肉豚における DNA タイプ調査結果

制限酵素	識別タイプ	調査頭数	同タイプ数 (%)
Sph I	タイプ 5	198	15 (7.6%)
Cla I	タイプ 5	198	0 (0%)
Hph I + BsmF I	タイプ 8	198	3 (1.5%)

(3) 斉一化する DNA タイプの決定

DNA のタイプの情報は、ブタも含めた多くの生物について世界中の研究機関から登録されたデータベース (GenBank/DDBL/EMBL) があり、今回調査したブタの mtDNA についても多くの報告があります。今回、食肉センターへの出荷豚の調査では同じものが見られなかったタイプ 5 は、過去の報告によると西洋系のタイプであり、「フジヨーク」だけでなく他県の大ヨークシャー種系統豚にも認められていることから、更に調査範囲を広げた場合同じタイプのブタが見つかる可能性があります。一方、タイプ 8 はアジア系のタイプで、2 つの酵素を組み合わせることで検出の感度を高めることができました。さらに、このタイプはベトナムの家畜豚であるモンカイで 1 頭の報告があるのみで、家畜豚の集団の中では極めて特徴的なタイプであると考えられます。

そこで、系統造成の過程で斉一化していく DNA タイプをタイプ 8 に決定しました。

2 ミトコンドリア DNA の斉一化と育種への影響

(1) フジヨーク 2 の系統造成

富山県、徳島県、岐阜県から W 種系統豚の妊娠豚各 5 頭を導入し、帝王切開により SPF 化した群及び「フジヨーク」から雄 16 頭、雌 37 頭を選抜し、基礎豚としました。第一次選抜を生後 8 週齢で、第二次選抜を体重 90kg で行い、産肉形質の選抜は BLUP 法という遺伝的能力を推定する統計的手法により行い、肢蹄の選抜は、測定結果に基づき排除する独立淘汰選抜法により行いました。一日平均増体量 (以下 DG) は 1,000g/day と十分な値であったため改良目標を 0g とし、背脂肪厚 (以下 BF) の改良目標を 3.0cm から 2.5cm へ -0.5cm、ロース芯面積 (以下 EM) の改良目標を 29cm² から 35cm² へと +6cm² としました。

なお、mtDNA については、第一世代のブタではタイプ 8 を持つものは約 3 割でしたが、その後、世代が進むごとに増加させ、第 5 世代で全てのブタの mtDNA をタイプ 8 に斉一化しました。

(2) DNA タイプと各種検査成績

系統造成の過程で mtDNA を斉一化していく試みはこれまで行われておらず、mtDNA と産肉能力や肢蹄の強健性との関係は検証されていません。斉一化は育種と反対の効果を持つ可能性があるため、改良形質である一日平均増体重(DG)、背脂肪厚(BF)、ロース芯面積(EM)、及び肢蹄の強健性の指標となる前後管囲平均、前後つなぎスコア、前後蹄スコアと mtDNA の関係を調査する目的で、斉一区(DNA タイプ 8)と対照区 (その他の DNA タイプ) を比較しました。

表 2 産肉能力表現値の比較

	世代	性別	頭数	DG (g/day)	BF (cm)	EM (cm ²)
斉一区	1	♂	9	1085.0±90.5	2.69±0.45	29.4±3.4
		♀	32	963.2±89.9	2.70±0.43	29.8±3.1
	2	♂	13	1090.5±104.9	2.38±0.32	27.5±2.9
		♀	38	936.8±95.8	2.50±0.40	30.5±3.1
対照区	1	♂	23	1123.8±126.5	2.70±0.34	27.5±2.9
		♀	61	1011.1±134.2	2.83±0.45	28.8±3.5
	2	♂	18	1124.2±12.09	2.55±0.43	28.4±3.1
		♀	48	903.5±102.5	2.72±0.41	29.4±3.4
平均の差 (斉一区-対照区)				-26.8	-0.16	1.1
平均の差 (G2-G1)				-56.9	-1.8	0.6

異符号間に有意差有り (p<0.01)

表 3 肢蹄評価値の比較

	世代	性別	頭数	前肢管囲 (cm)	後肢管囲 (cm)	前つなぎスコア	後つなぎスコア	前蹄スコア	後蹄スコア
斉一区	1	♂	9	16.7±0.6	17.4±0.9	3.6±0.5	3.2±1.0	2.8±0.4	2.2±0.5
		♀	32	16.2±0.6	16.7±0.6	3.9±0.8	3.0±0.9	2.8±0.3	2.2±0.6
	2	♂	13	16.9±0.4	17.5±0.5	3.7±0.8	3.0±1.0	2.8±0.4	2.2±0.54
		♀	38	16.1±0.4	16.6±0.4	3.9±0.5	3.2±0.7	2.9±0.3	2.4±0.5
対照区	1	♂	23	16.9±0.7	17.6±0.8	3.6±0.9	3.2±1.0	2.7±0.5	2.0±0.5
		♀	61	15.8±0.5	16.6±0.6	4.0±0.7	3.1±0.8	2.6±0.5	1.9±0.5
	2	♂	18	16.6±0.6	17.3±0.6	3.7±0.6	3.1±0.8	2.9±0.2	2.3±0.5
		♀	48	15.8±0.5	16.4±0.8	3.7±0.6	3.2±0.6	2.9±0.4	2.4±0.5
平均の差 (斉一区-対照区)				0.23	0.63	0.81	-0.05	0.12	0.20
平均の差 (G2-G1)				-0.025	-0.115	-0.128	0.073	0.184	0.26

異符号間に有意差有り (大文字 P<0.01、小文字 P<0.05)

その結果、DG、BF、EM は実際に測定した値である表現値に差があったものもありましたが、いずれも斉一区の方がより改良目標に沿った値（背脂肪が薄く、ロース芯面積が大きい）でした(表2)。また、肢蹄の強健性の指標でも同様で(表3)、今回のDNAタイプの斉一化は育種へ悪い影響を及ぼさないことが明らかとなりました。

3 三元交雑豚における銘柄鑑別

現在、県下各地で銘柄化されている「静岡型銘柄豚」は、当センターで造成した「フジヨーク2」と「フジロック」の血縁が75%以上のブタと定義されています。このように、特定の種豚を使用するブランド豚肉を銘柄レベルで鑑別するために、試験的にマーカーを付与した三元交雑豚を作出し、市販豚肉との銘柄鑑別法の有用性について検討しました。

(1) 試験的三元交雑豚の作成

試験的三元交雑豚の母系は、これまで述べてきた「フジヨーク」に特徴的なタイプ8の mtDNA を目印として持った大ヨークシャー種雌豚にランドレースを交配させて作出したF1母豚(WL)とし、父系は、金華豚の持つ毛を黒くする遺伝子(MC1R 遺伝子)を受け継ぐように、デュロック種で3回の戻し交配後、家系内交配して作出した止め雄としました。この MC1R 遺伝子はどのブタでも持っていて、黒豚の鑑別にも使われているものですが、金華豚由来のものは大ヨークシャー種、ランドレース種、デュロック種の三大品種をはじめとする欧米のブタとタイプが異なり、識別のための目印となります。

(2) 市販豚肉との鑑別

比較のための市販豚肉は、県内2市4店舗のスーパーマーケットで入手した8種類61検体としました。内訳は県内銘柄豚3種類、県外銘柄豚3種類、非銘柄豚(表示は「国産」又は「県内産」)2種類で、「静岡型銘柄豚」は含まれていません(表4)。

検査は mtDNA のタイプ調査と同様に、PCR-RFLP 法という方法で実施しました。その結果、母系の目印である mtDNA は2種類の酵素のうち Hph I で全て他のタイプと判定され、父系の目印も試験三元交雑豚とは異なる結果になり、全ての市販豚肉と試験三元交雑豚は明確に識別ができました(表5)。

表4 市販豚肉の内訳

	銘柄	品種	検体数	備考
銘柄豚	A	LWD	13	県内G市
	B	LWD	8	県内H市
	C	LWD	4	県内H市
	D	不明	7	I県
	E	不明	5	J県
	F	B	2	K県
非銘柄豚	—	不明	15	無銘柄1
	—	不明	7	無銘柄2
計			61	

表 5 PCR-RFLP 法検査結果

	mtDNA		MC1R		
	+	-	+	±	-
試験交雑豚	0	20	0	20	0
A 銘柄	13	0	0	0	13
B 銘柄	8	0	0	0	8
C 銘柄	4	0	0	0	4
D 銘柄	7	0	0	0	7
E 銘柄	5	0	0	0	5
F 銘柄	2	0	0	0	2
無銘柄 1	15	0	0	0	15
無銘柄 2	7	0	0	0	7

＋、－は切断の有無、±はヘテロ型

おわりに

信頼できる食品表示は消費者が求めていることではありますが、表示は正しいのが当たり前であり、コストを価格に転嫁しづらいのが現状です。ブタの鑑別方法には、種豚の遺伝子解析に基づく親子鑑別によるものや、IC チップ入り耳標の装着などの方法が報告されていますが、今回お示した方法は、種豚の育種段階でブタに目印を持たせるもので、生産者のコスト増にはなりません。また、いわゆる「黒豚」(バークシャー種)の鑑別方法が実用化され、店頭から「黒豚」のラベルを貼った肉が減少したように、DNA 鑑別による方法は、一切れの肉になっても実施可能であり、偽装表示の抑止力になり得ると考えられます。

参考文献

- 1) 井手華子、堀内篤、知久幹夫、寺田圭、奥村直彦. 2004. ミトコンドリア DNA 非コード領域の多型による系統豚の母系解析とトレーサビリティへの応用. 静岡県中小家畜試験場報告第 15 号 7~12.
- 2) 寺田圭、大津雪子. 2007. 系統造成育種群におけるミトコンドリア DNA ハプロタイプと産肉能力の関係. 静岡県中小家畜試験場報告第 17 号 1~5.
- 3) 知久幹夫. 2011. トレーサビリティ可能な SPF 新系統豚「フジヨーク 2」. 養豚の友 2011 年 2 月号 36~39.
- 4) 奥村直彦・小林栄治・鈴木秀昭・両角岳哉・濱島紀之・三橋忠由. ブタ品種間に認められる MC1R 遺伝子および KIT 遺伝子の多型. 2000. 日本畜産学会報, 71 : J222-J234.
- 5) National Pork Producers Council: Genetic Evaluation · Terminal Line Program Result. 72. 95. 1995

用語解説

1) DNA (デオキシリボ核酸)

いわゆる遺伝子としてはたらく物質。その構成成分である塩基といわれる4つの物質(アデニン、グアニン、チミン、シトシン)の配列が遺伝情報になって伝達していきます。多くは細胞内の核の中に存在しますが、ミトコンドリア等の細胞内小器官にも存在します。

2) ミトコンドリア

ミトコンドリアは細胞内にあってエネルギーなどに関係する小器官で、核の中のDNAとは別のDNAを持っています。そして、このミトコンドリアは「母系遺伝」といって、母親のものだけがそのまま子供に伝わる性質を持っています。

畜産技術研究所中小家畜研究センター 養豚・養鶏科・科長・柴田昌利

発行年月：平成25年3月
編集発行：静岡県経済産業部振興局研究調整課

〒420-8601
静岡市葵区追手町9番6号
TEL 054-221-2676

この情報は下記のホームページからご覧になれます。
<http://www.pref.shizuoka.jp/sangyou/sa-130a/>