

# 家畜ゲノム研究～安心かつ美味しい畜産物や医療への期待

農業生物資源研究所 ゲノム研究グループ  
家畜ゲノム研究チーム 栗田 崇

## 1. はじめに

現在、多くの生物種でゲノム解析の試みが行われている。ヒトゲノム配列の概要は2001年初頭に公表され、その成果はオーダーメイド医療等のいわゆる「ゲノム創薬」等、医学研究を中心とした多くの分野への応用が期待されている。また、マウス、ラットにおいても、実験動物あるいは疾患モデル動物として蓄積されてきた膨大な知見を活用することで、ヒトゲノム解析と同様の分野への応用が想定されている。これに対して家畜のゲノム研究は、農業上の有用生物という位置づけから、生産性に関わる形質（経済的効果をもたらすことから「経済形質」とよばれる）を支配しているゲノム上の遺伝領域、あるいは遺伝子を特定し、その情報を家畜育種に利用することを目的として開始された。経済形質の多くは複数の遺伝子が関わっており、また、それらの発現様式は環境の影響も大きく作用するため、原因遺伝子が一つの場合が多い遺伝病等に比べてより複雑であり、量的形質と呼ばれる。また、それに関与する遺伝子座を量的形質遺伝子座（QTL）という。ウシやブタをはじめとする家畜のゲノム解析では、このQTL解析とその結果をもとにした原因遺伝子の特定が中心となっており、ゲノム解析の基盤構築もその目的のために行われてきた。これはわが国に限らず、家畜ゲノム解析を行っている欧米諸国をはじめとするすべての国に共通している。そして、この重要性は今後も変わることはない。

このため、家畜ゲノム研究では、①連鎖解析に必要な遺伝マーカー配列の開発と連鎖地図の作製、②実験家系の構築と経済形質のデータ収集、およびマーカーと形質との連鎖解析 ③ヒトゲノム情報を活用した比較遺伝子地図の作製 ④家畜ゲノム情報を有機的に活用するためのデータベースの構築等、多面的な解析が続けられている。

わが国においてはこれまでに、ウシ、ブタ、ニワトリについて実験家系の造成やフィールドデータの収集と、それを用いた生産形質、肉質、抗病性に関するQTL解析を行い、多くの形質について責任遺伝子の存在する染色体領域が同定されてきた。現在、農業生物資源研究所（以下、生物研）では、農林水産先端技術研究所（STAFF研究所）と共同して、ブタについて特に体長に影響を及ぼす椎骨数と、肉質に影響する背脂肪厚について、さらに原因遺伝子を特定するため詳細な解析を行っている。ウシでは畜産技術協会の動物遺伝研究所を中心として脂肪交雑、増体能力について同様の努力が続けられている。その一方で、特にブタに関しては、体細胞クローン技術と遺伝子組換えを活用した有用物質の生産や疾患モデル動物の作出、医療分野への新規利用等が期待されており、これらについてもゲノム解析の果たす役割は大きいと考える。

本講演においては、まず、私たち生物研／STAFF研で行っているブタゲノム解析を中心にして家畜ゲノム研究の現状を紹介し、次にわが国におけるゲノム解析の家畜研究への応用のあり方について本題に沿った形で議論したい。

## 2. 遺伝マーカーの開発と連鎖地図の作製

QTL解析においては、多数の遺伝マーカーとその連鎖地図が必要である。これらのマーカーはゲノム上すなわち全染色体上にできるだけ均等に配置されていることが望ましい。ブタにおいては、現在までに国内外全体で2,000以上のマイクロサテライトマーカー<sup>\*1</sup>が開発されており、それらのほとんどは公開されているので広く利用できる。私たちは、これまでにマイクロサテライトマーカーを中心とする約800の多型マーカーを独自に開発してきた。そして、QTL解析を行うため、旧畜産試験場で造成された実験家系（中国品種（メイシャン豚）とミニブタとの交雑種）を用いて、海外で開発されたマーカーと合わせ全染色体に320マーカーを配置した連鎖地図を作製した<sup>1)</sup>。連鎖地図については、欧米のコンソーシアムで作製された地図は矛盾が多く、米国農務省（USDA）が単独で約1,000のマーカーをのせた連鎖地図が事実上の標準となっている。なおわが国の連鎖地図はUSDAのものと大きな矛盾はない。

連鎖地図を利用して大まかなQTL解析を行った後、得られたQTL領域をさらに限局するためには、領域を限定したDNAマーカーの開発が必要になる。染色体の位置を特定したDNAマーカー開発の手法としては、①セルソーターを用いた染色体濃縮ライブラリーを用いた方法、②染色体標本から特定の位置をかき取ってライブラリー化するmicro dissection法のほか、③ヒトブタ比較染色体地図(comparative chromosome map; 後述)の情報から、該当領域に存在が予想されるブタ遺伝子に対応するヒト遺伝子の配列情報を用いて、DNAマーカーを開発することもできる。私たちは、①②の手法も取り入れながら<sup>2)</sup>、③の方法を中心に染色体特定領域に集中したDNAマーカーを開発した。すなわち、ブタ全ゲノムをカバーするBACライブラリー<sup>2)</sup>を作製し<sup>3)</sup>、これからヒトゲノム情報を利用して特定遺伝子を含むBACクローンを単離した。次にこのBACクローンから直接マイクロサテライトマーカーを単離することでDNAマーカーの開発を行った<sup>4)</sup>。これらのDNAマーカーは遺伝子近傍に位置していることから、ブタにおける遺伝子の順序をより詳細に知ることができる。

## 3. 実験家系の構築およびそれを用いたマーカーと形質との連鎖解析

私たちはこれまでに前項で述べた実験家系のほか、11の道県と連携して、主に東洋系（中国豚、日本イノシシ、実験用ミニブタ）と西洋系実用品種（ランドレース、大ヨークシャー、デュロック、バークシャー）といった遺伝的に離れている品種間での交雑によりF<sub>2</sub>までの実験家系を造成し、ゲノム上に配置したマイクロサテライトマーカーと、成長、と体形質、繁殖性等の経済形質との連鎖解析を行ってきた<sup>5)</sup>。その結果、赤

---

\*1 ゲノム上で2-4塩基程度の単位が多数繰り返した部分をマイクロサテライトと呼び、この繰り返し回数が個体間で異なる程度が高い（多型性が高い）ことを利用したDNAマーカー。

\*2 大腸菌人工染色体（bacterial artificial chromosome; BAC）をベクターとしたゲノムライブラリー。通常のプラスミドとほぼ同様に扱うことができ、長大(100～200kb程度)な配列を挿入できるため、遺伝子構造の解明や塩基配列の解読に役立つ。

肉割合やロース断面積等のと体形質，体重や一日増体量等の成長関連形質，肉の理化学的性状，乳頭数等について多くの QTL を検出することができた。特に胴体の長さに関連する椎骨数については複数の家系の同一染色体領域で有意性が高く，効果も大きい QTL が認められた。しかし，世代間の長さ，豚舎の飼養規模等の事情により，解析に用いた各家系の大きさは F 2 世代で約 150 ～ 300 頭程度と，欧米の実験家系（200 ～ 1,000 頭以上）と比べて小規模であることから，解析結果の信頼性に問題が残った。そこで，より精密な QTL 解析を行うために，複数県で担当する 500 頭規模の実験家系の構築と肉質に関与する QTL 解析を行い，これをもとに DNA 育種の実証を行うプロジェクトを現在進行させている。さらに，これまでに造成された 150 ～ 300 頭規模の実験家系を統合した QTL 解析にも着手している。一方，実用品種内選抜に直接活用できる DNA マーカーを開発するためには，新たに実用品種内での有用形質の連鎖解析を行う必要がある，そのための試験も進行中である。

単一遺伝子の関与する形質では，いくつかの原因遺伝子が明らかになっている。ウシではベルジアンブルーという品種によく見られる，ダブルマスリング（筋肉倍加）形質が，第 2 染色体のセントロメア近傍にある，ミオスタチン遺伝子の欠損であることが 1997 年に明らかにされた<sup>9)</sup>。わが国では黒毛和種における遺伝病の解析が進められ，いくつかの遺伝病については診断技術が確立している<sup>7)</sup>。ブタでは，むれ肉（肉汁が滲みだしたパサパサの肉，肉色は白っぽくなり，商品価値は低い）の要因となるリアノジンレセプター遺伝子の変異が明らかにされており<sup>8)</sup>，現在は，その遺伝子の遺伝型を判定することにより，むれ肉を誘因するブタを判定している。また，ブタ肉の酸性化を起こす（肉質が低下）RN 遺伝子が，adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) のサブユニットである PRKAG3 遺伝子の変異が原因であることが明らかになった<sup>9)</sup>。わが国では STAFF 研が単一遺伝子研究の実用化技術として，ブタ・ストレス症候群（PSS）の簡易遺伝子診断法を開発した<sup>10)</sup>。さらに，ブタの毛色関連遺伝子の多型を利用して，黒豚肉を他品種と識別する DNA 診断技術を開発し，これについては現在検査機関において実用化されている<sup>11)</sup>（図 1）。

なお，近年，筋肉量と脂肪付着に関与する第 2 染色体上の QTL について，遺伝子発現のインプリンティング現象（この場合，父親由来の遺伝子のみ発現する）をもとに，この候補遺伝子が IGF2（インシュリン様成長因子-2）遺伝子座にマップされたことが発表された<sup>12),13)</sup>。さらに本年 1 月の国際植物動物ゲノム会議では，多型解析での絞り込みや発現解析等により，IGF2 がこの QTL の本体であることを示す発表があり，まもなく論文が公表されるものと思われる。同グループは最近，乳牛においても乳成分に関与する QTL の有力候補を発表している<sup>14)</sup>。

#### 4. 詳細なヒト・ブタ比較染色体地図の開発

ブタの染色体は性染色体を含めて 19 対であり，ヒトの染色体(23 対)とそのまま対応するわけではない。しかしながら，ヒトの遺伝子の並びと全く無関係なわけではなく，ある程度の領域がまとまって対応しており(シンテニー: synteny)，この対応関係を明確にすることでブタにおける遺伝子の配置が明らかとなる。対応関係を地図として表現し

# 毛色関連遺伝子のDNA多型を用いた豚の品種鑑別

Discrimination of pig breeds by DNA polymorphism of coat color-related genes

食味がよいことで有名な黒豚(パークシャー種)肉を、毛色に関連する遺伝子のDNA配列の豚品種間の多型(塩基配列の違い)を利用することで、他の品種由来の豚肉との鑑別を行う技法を開発しました。ハム等の加工肉においてもDNAは破壊されておらず、様々な品種由来の豚肉を識別することが可能です。

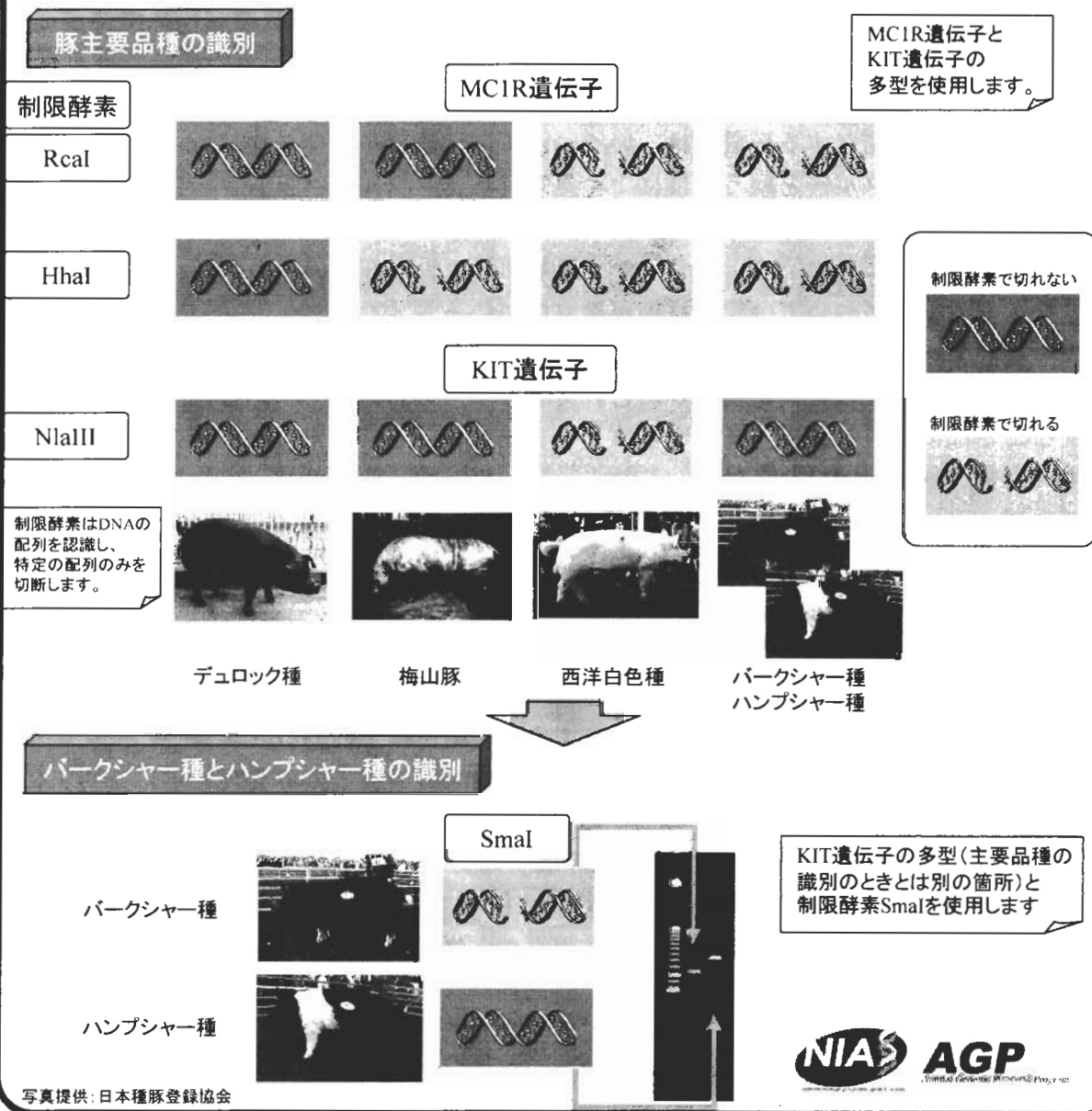


図1. DNA配列多型による豚の品種識別法

たものを比較染色体地図(comparative chromosome map)と呼ぶ(図2)。前項で、いくつかの

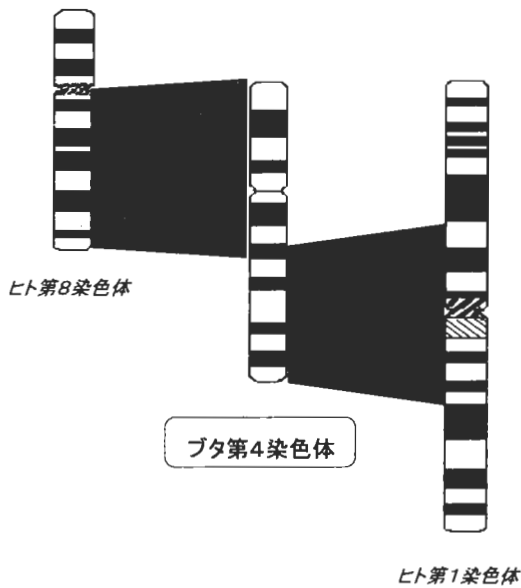


図2. ブタ第4染色体とヒト第1, 第8染色体との比較染色体地図

形質に関与している遺伝子が特定されてきていることを述べたが、これらの成果の多くは、ヒト・マウスのゲノム研究の成果を利用して、解析を進めた結果明らかになったものである。責任遺伝子を明らかにするには、特にヒトの染色体領域と対応した家畜のゲノム(染色体)領域を精査すること、つまり比較遺伝子地図情報を活用することが不可欠である。ヒトとの対応が明らかになり、一方で、家畜において形質に関与している遺伝領域が特定されれば、それに対応するヒトの領域中に存在する遺伝子の中から候補遺伝子を選択し、目的形質との関係をさらに詳細に解析することができる。比較地図の作製には、radiation hybrid panel (放射線雑種細胞パネル, 以下 RH パネル) を用いる方法が有効

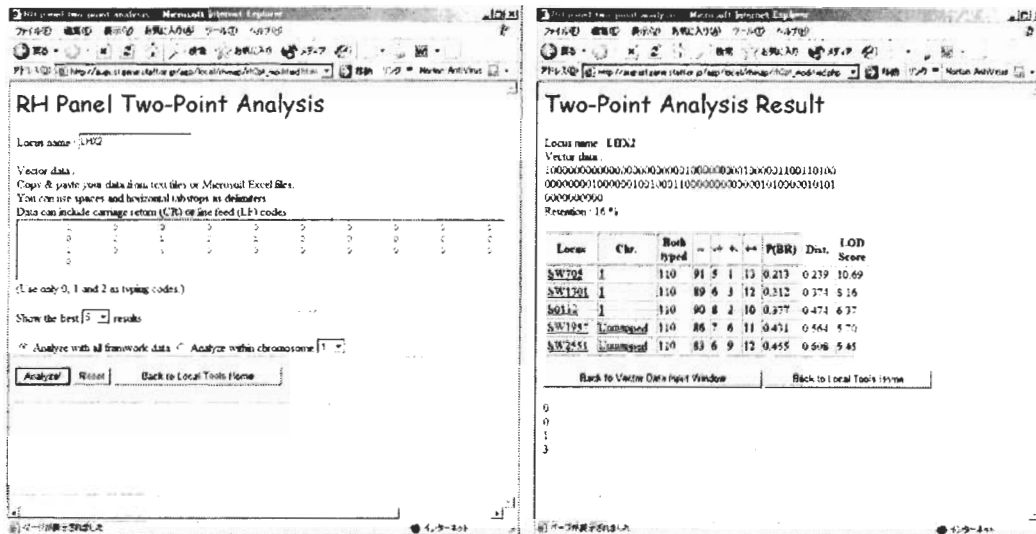


図3. タイピングデータより RH マッピングを行うシステム

である。RH パネルは多型を示す DNA マーカーだけでなく、多型のない塩基配列も染色体上に位置付けることができる利点がある。海外の RH パネルはフランスの INRA と米国ミネソタ大学が共同で作製した IMpRH (7,000rad & 12,000rad) のほか英国 Roslin 研究所のパネル (3000rad, 市販で利用可) があるが、IMpRH (7,000rad) が広く使われている<sup>15)</sup>。現在ウェブ上で公開されている IMpRH マップは約 750 マーカーであり、そ

のほとんどはマイクロサテライトマーカーである<sup>\*3</sup>。同グループは昨年夏に行われた国際動物遺伝学会での情報では多くの EST を加えた 4,500 マーカーのマップを発表しているが、ウェブ上には公開していない。私たちも STAFF 研究所と共同で 5,000 rad と 8,000 rad の放射線を照射したブタ細胞由来の 113 株よりなる RH パネルを構築し、これを用いた全ゲノム物理地図 (RH マップ; SSRH) を作製している<sup>16)</sup>。これまでに 200 の EST を含む 900 以上のマーカーをマップしており、さらに進行中である。RH におけるマッピングの便を図るために、Web を用いた自動解析システムを開発しており、一般への公開を予定している(図 3)。なお、私たちは SSRH と IMpRH とは互いに補完し合うもの、と位置づけて地図作製を開始したが、最近の傾向として、発現遺伝子に関する地図情報は自由公開はされないようである。家畜のゲノム研究は、「基盤整備については、各国が蓄積した情報をそれぞれ公開することで相互に利用するが、遺伝子単離の部分は競争である」という考え方で進められてきたが、発現遺伝子地図は基盤ではなく競争に必要な遺伝子単離のツールと見なされているのかもしれない。

## 5. 家畜遺伝子構造を解明するためのヒトゲノムドラフトシーケンスの利用

私たちは 3. の項で述べた家系解析から明らかになった、いくつかのブタの生産性に関する QTL の原因遺伝子の探索を進めている。遺伝性疾患の原因遺伝子の場合とは異なり、多くの経済形質の遺伝的違いはゲノム塩基配列のわずかな違いによるものと考えられるが、まずゲノム上の遺伝子の配置と構造(エキソン-イントロン構造)を正確に知る必要がある。QTL 候補領域内の全塩基配列を決定することが構造を知るもっとも確実な方法であるが、私たちの研究環境下での現実的なアプローチとして、まずヒトゲノムドラフトシーケンスを最大限に利用する事を考えている。すなわち、候補領域についてラフなショットガンシーケンスを行い、これをヒトドラフトシーケンスに貼り付けることで、エキソン-イントロン構造を把握することが可能となり、遺伝子をコードしている領域内の多型を検出することが容易になる。

## 6. 家畜塩基配列の網羅的解析と新しい多型マーカーの開発

遺伝子の構造、機能を正確に知るためには、遺伝子の発現を調節している部分も含めてゲノム構造全体を知る必要がある。家畜の生産性、抗病性に対して重要性の高い抗原受容体(抗体, T 細胞受容体)やサイトカイン, あるいはそのレセプター類は、ヒト, マウス等での研究が進んでいるが、家畜においてはこれらとは様相の異なる部分が多い<sup>17)</sup>。またこれらの遺伝子群の多くは遺伝子サイズが巨大であったり、数百 kb 以上の領域にわたってクラスターを形成していたりするため、個別の遺伝子解析では対応できない対象である。これらのことから私たちは免疫系の分子に焦点を当てたゲノム塩基配列決定を行っている。また、各種臓器由来の cDNA ライブラリーを用いた塩基配列解読 (Expressed Sequence Tag; EST) も行っている。これらの塩基配列情報を基に、ヒト, マウスゲノム等で近年着目されている 1 塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphism; SNP) の収

\*3 <http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/RH/IMpRH.htm>

集も行っている。

## 7. 家畜ゲノムデータベースの構築

私たちは、上で述べたようなマーカーの開発とそれを用いた高密度連鎖地図の作製、また RH 地図の構築、ゲノム塩基配列の解明、EST、SNP 情報の蓄積を受けて、組織内部での情報の共有、また外部への研究成果の公表を行うために、データベースシステムを構築している。現在のところ、一部データ(マイクロサテライトマーカー及び連鎖地図データ)のみを公開しているが<sup>\*4</sup>、RH 地図、EST 情報、SNP 情報についても、これらを総合的に利用できるブタゲノム総合データシステムとして共同研究者に対しても情報提供を行う予定である。

## 8. わが国における家畜ゲノム研究成果の応用

以上のようにして得られた家畜ゲノム研究の成果をどのように生かすか、図4に流れを示した。畜産分野における最終出口は、繰り返し述べているように、マーカーを用いた形質導入(Marker Assisted Introgression; MAI)、マーカーを用いた選抜(Marker Assisted Selection; MAS)による効率的な家畜育種システムの構築である。しかしながら、これは家畜ゲノム研究を行っているすべての国々に共通する一般論である。それでは具体的にわが国において重点を置くべき対象は何か？それは消費者が近年特に求めるもの、すなわち「安心かつ美味しい」畜産物の提供であり、それを実現するための育種への応用であろう。

わが国における畜産は土地面積の制約もあり、経営規模の拡大に伴い、特に鶏や豚において多頭化・集約化を余儀なくされている。このような飼養環境下では、家畜の生理機能や免疫機能にマイナスの影響を与える要因が増大し、慢性疾病や日和見感染、生産病などが引き起こりやすい。また、それらを防止するために用いられる抗生物質、ワクチン等は、量を誤ると食の安全性を脅かす結果につながる。さらに日本における BSE (ウシ海綿状脳症) の出現とその社会に与えた影響は、畜産物の安全性確保がいかに重要であるかを我々にあらためて認識させた。消費者がこれからの畜産物に求めることは、品質に優れていることに加え、同時にそれらが「安全」であり、それゆえ「安心」して口にできるかどうかという点であろう。病原体や飼育環境の変化に対して強健な家畜を育種することで、抗生物質やワクチンなどに頼りすぎない畜産が可能になる。また、免疫機能を高める有用遺伝子の構造や機能を解析することで、ワクチン効果を高める有用生理活性物質の開発をめざす。このことにより、消費者に対してより安全で安心な畜産物を供給できるとともに、新しい畜産物の創出と活性化にもつながると期待される。

また、「安心」につながるもう一つのキーワードは「信頼」である。近年のニセ黒豚肉や一連の産地の不正表示等の問題は畜産物を含む食品に対する消費者の信頼を大きく低下させた。信頼を取り戻すためにはまず畜産物のトレーサビリティを確立する必要

---

\*4 家畜ゲノム解析研究プログラムホームページ, <http://ws4.nias - k.affrc.go.jp/>

があり、牛肉においては BSE 対策により前倒しされた個体識別事業と連動させた DNA

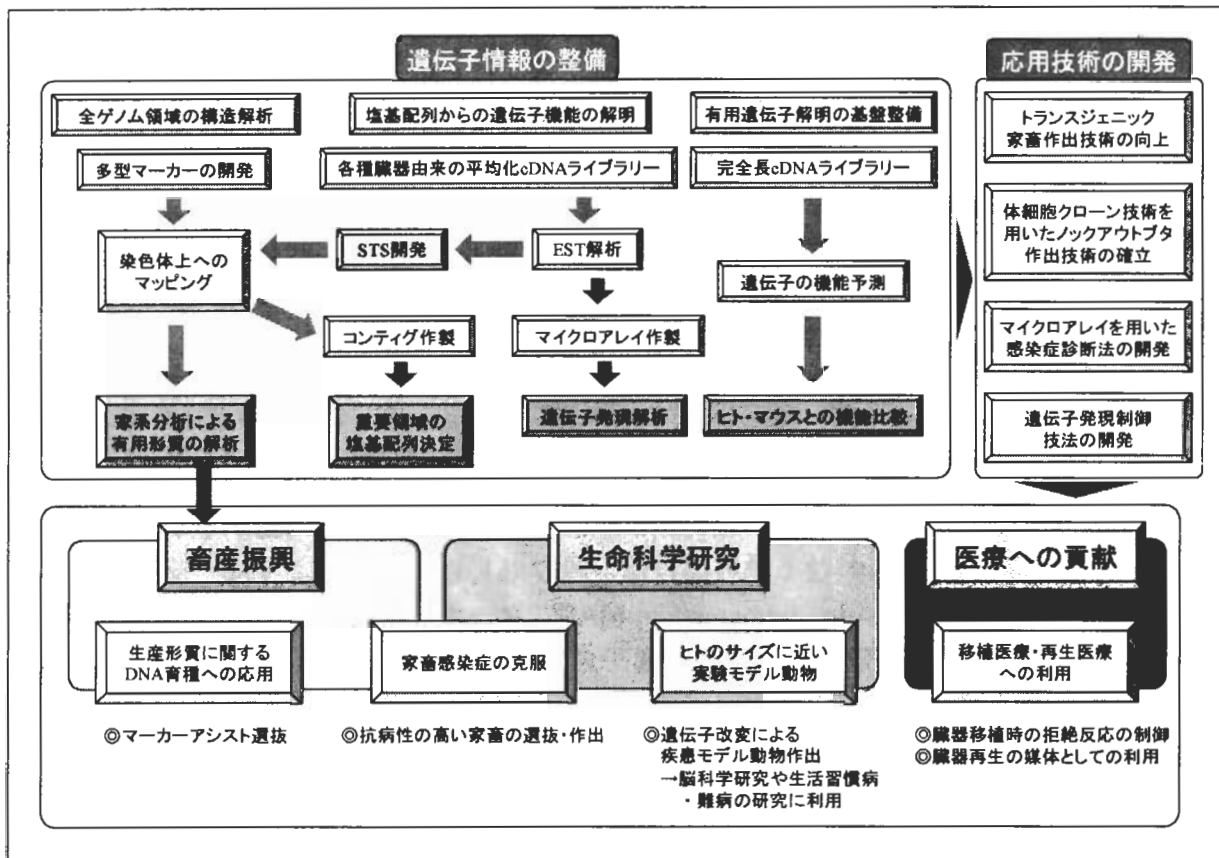


図4. 家畜ゲノム研究の成果をどう生かすか？

マーカーの活用が効果的であり、これについては当シンポジウムですでに紹介されているので<sup>18)</sup>ここでは詳しくは述べない。ウシでは、個体識別に加えて品種の識別を可能にするための取り組みが農水省のプロジェクトで予定されている。また、同プロジェクトではブタにおいてもこれまでに確立した黒豚の判別だけでなく、主要品種を識別するための技術開発も行う予定である。

一方、わが国の特徴であるテーブルミート主体の食肉消費形態から、いわゆる「美味しさ」に対するニーズは非常に強い。ただし、「美味しさ」で表現される食味について、消費者の畜産物に求める品質はきわめて多様である。黒豚、トウキョウ X といった特色ある豚肉が歓迎され、牛肉でも各種の銘柄牛が存在する。牛肉は脂肪交雑志向と赤肉志向の二つの流れが存在し、また地鶏とブロイラーのように柔らかさに対する好みも多様である。このような消費者の多様な嗜好に柔軟に対応することが、拡大する輸入畜産物と共存するわが国畜産業の方向となる。生産者は消費者の動向を読み、ニーズに即した畜産物を効率的に提供する、オーダーメイド畜産が必要となる。従来型の育種では時間がかかりすぎ実現困難なシステムを、美味しさを決定する遺伝子群（具体的には脂肪形質、肉の柔らかさ、多汁性等）の解明とその利用技術を開発することによって実現することが今後重点化すべき目標である。

家畜のゲノム研究成果を活用した畜産以外の出口として有力なものは医療への期待である。特にブタにおいては、臓器サイズがヒトと近く、疾患モデルとして、また臓器移



植のモデル動物，あるいは臓器再生の媒体としての利用が考えられ，ゲノム解析を通じてその生理機能の解明が必須である。また，家畜の繁殖能力に関与する遺伝領域の解析結果をもとに，ヒトの不妊研究へ貢献することも考えられる。一方で，遺伝子組換え技術を応用した生物製剤生産および工業原料生産を可能にする家畜（動物工場）の作製が期待される。

## 9. おわりに

家畜における全ゲノム配列解読については，ヒト全ゲノム配列解読の人的，物理的資源を活用すべく，NIHが他の動物種の解読プロジェクトを募集しており，欧米でウシ，ブタともにその準備を進めている。ニワトリとミツバチはそれらよりも優先順位が高く，解読がすでに開始されている。配列解読はコンソーシアム形式で進めるのではなくヒトゲノム解読拠点によるセンター方式であり，各国は解読の準備作業，すなわちBACのfingerprintingや末端配列解読等，全ゲノムの整列地図作製を担当している。例えばブタでは米国イリノイ大学，USDA，フランスINRA等で解析が進行中である。ただし，ウシ，ブタとも解読のための資金の確保に大変苦労している状況と聞く。それはともかく，これらの作業は実用面での出口・意義を特に説明することなく推進できる点で我々とは研究環境が違う。ブタのドラフトシーケンスは重要なツールであり，それが公共財として公開されれば，多くの研究者にとって喜ばしいことであるが，イネのような完全公開の保証はない。ドラフトシーケンス情報のみでは，例えばQTLを単離できるものでもなく，この点，ゲノム上の特定の領域にターゲットを絞っているグループにとっては特に戦略を見直す必要はないと考える。

それよりも重要なことは，大規模な形質データを利用できるシステムの確立である。経済形質に関与している遺伝領域，あるいは遺伝子の特定に向けて，ここ数年の研究は大きな展開を見せている。諸外国において，この展開を支えているものは，大学，国立研究機関，企業（農業団体）の一体化した連携によるところが大きい。目的とする形質の責任遺伝子を決定するためには，候補遺伝子の多型と形質との関連解析を行う必要がある。そのためには，形質データを持つコマーシャル家畜個体のDNAサンプルを多数収集する必要がある。わが国においても今後，大学，都道府県研究機関や家畜改良センター，民間企業等の協力が欠かせない。こうした研究の成果は，直接産業へと結びついていくことから，特許取得の動きも活発化している。従って，上に述べた各研究機関の緊密な連携と，ヒトゲノム研究成果のいっそうの活用による研究の効率化を図ることが今後さらに重要となる。

## 文 献

1. Mikawa S. et al. *Animal Genetics*, 30: 407-417, 1999
2. Sarke, N. et al. *Mammalian Genome*, 12: 524-527, 2001
3. Suzuki, K. et al. *Animal Genetics*, 31:8-12, 2000

4. Fujishima-Kanaya, N. et al. *Animal Genetics*, in press.
5. Wada Y. et al. *Animal Genetics*, 31: 376-384, 2000
6. Gorbe, L. et al. *Nature Genetics*, 17: 71-74, 1997
7. Takeda, H. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99:10549-10554, 2002
8. Otsu, K. et al. *Genomics*, 11:744-750, 1991
9. Milan, D. et al. *Science*, 288:1248-1251, 2000
10. Nakajima, E. et al. *J. Anim. Sci.*, 74:2904-2906, 1996
11. 奥村ら, 特許登録第3116049号, 1998 ; 特許出願2002-321773
12. Nezer, C. et al. *Nature Genetics*, 21:155-156, 1999
13. Jeon, J-T. et al. *Nature Genetics*, 21:157-158, 1999
14. Grisart, B. et al. *Genome Res.*, 12:222-231, 2002
15. Yerle, M. et al. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 82:182-188, 1998
16. Hamasima, N. et al. *Animal Genetics*, in press.
17. Davis, W.C. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 63:7-13, 1998
18. 藤川 朗, 第 32 回近畿アグリハイテク・シンポジウム講演要旨集 45-50, 2002