

DNAを用いた牛の親子判定と個体識別

黒毛和種牛の親子判定には血液型が利用されていますが、1997年に社団法人畜産技術協会附属動物遺伝研究所(動物遺伝研)において、DNA情報を用いた親子判定および個体識別のシステムが確立されました。これは、個体の持つDNAの塩基配列の違い(多型)を利用するものです。当场においても、このシステムを親子判定や双子の個体識別などに活用しています。ここでは、DNAを利用した親子判定および個体識別の原理と実際の応用例について紹介します。

DNAと遺伝

DNA(デオキシリボ核酸)は、生物の全ての細胞中にある、遺伝情報を担う物質です。アデニン(A)、チミン、(T)グアニン(G)、シトシン(C)と呼ばれる4種類の塩基が結合して長い鎖を作っており、この塩基の並びが生物の設計図、つまり遺伝子です。

親から子へDNA、つまり遺伝情報が伝わるのが遺伝です。牛を含む高等生物は、必要な遺伝子のセットを2セット持っており、精子および卵子ができる際にはどちらか一方のセットが受け継がれます。そのため、受精卵は父母から1セットずつ遺伝子を受け継ぐこととなります(図1)。DNAを利用した親子判定では、子牛が両親から遺伝子を1セットずつ、間違い無く受け継いでいるかを確認します。

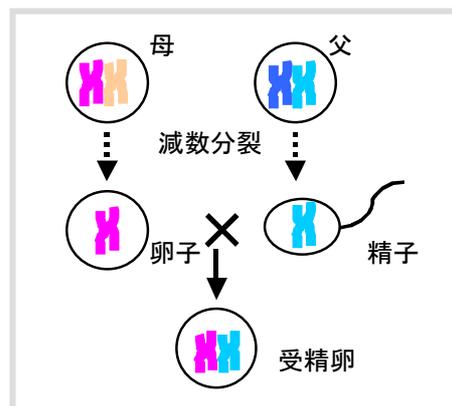


図1 親から子へのDNAの伝達

個体識別用DNAマーカー

DNAの配列の中には意味の無い部分が多くあります。その中には2から数個の塩基の単純な繰り返し配列(たとえばCACACA……)が無数に存在しており、これをマイクロサテライト(MS)DNAと呼びます。MS-DNAの繰り返し数は個体によって違いがあるため、個体を識別するための目印(DNAマーカー)として利用することが可能です。また、MS-DNA型の親から子への遺伝を確認することで、親子判定に利用できます。

動物遺伝研で確立された個体識別のシステムでは、23種類のMSマーカーが用いられており、理論上31兆頭の個体識別と3700万頭の父牛の識別が可能です。

判定の方法

DNAによる判定を行うには、DNAを抽出するための材料が必要です。材料は血液が一般的ですが、毛根などの組織や、種雄牛の精液も利用可能です。血液を採取する際の抗凝固剤はEDTAを用います。ヘパリンはDNAを増幅する反応を阻害するため、できるだけ使用しないようにします。

調製したDNAは、MS-DNAの部分PCRにより増幅し、その増幅産物をDNAシーケンサーで電気泳動後、MS-DNAの繰り返し数(MS-DNA型)を判定します。材料を受け取ってから結果の判定までには、2~3日程度を要します。

MS-DNA型を用いた親子判定の一例を図2に示しました。子牛1はマーカー A,C,D についてこの父母間では父から受け継ぐはずのない型を持っていますので、「父子間で矛盾あり」、同様に、子牛3はマーカー C,D,Eについて母から受け継ぐはずのないマーカーを持っていますので「母子間で矛盾あり」ですが、子牛2は父、母それぞれのもつ型を両者から間違いなく受け継いでいますので、「親子関係に矛盾は無い」と言え、子牛3が本当の子牛であると判定することができます。

実際には、このような手順を23種のマーカーについて行い、親子間での矛盾の有無を判定します。

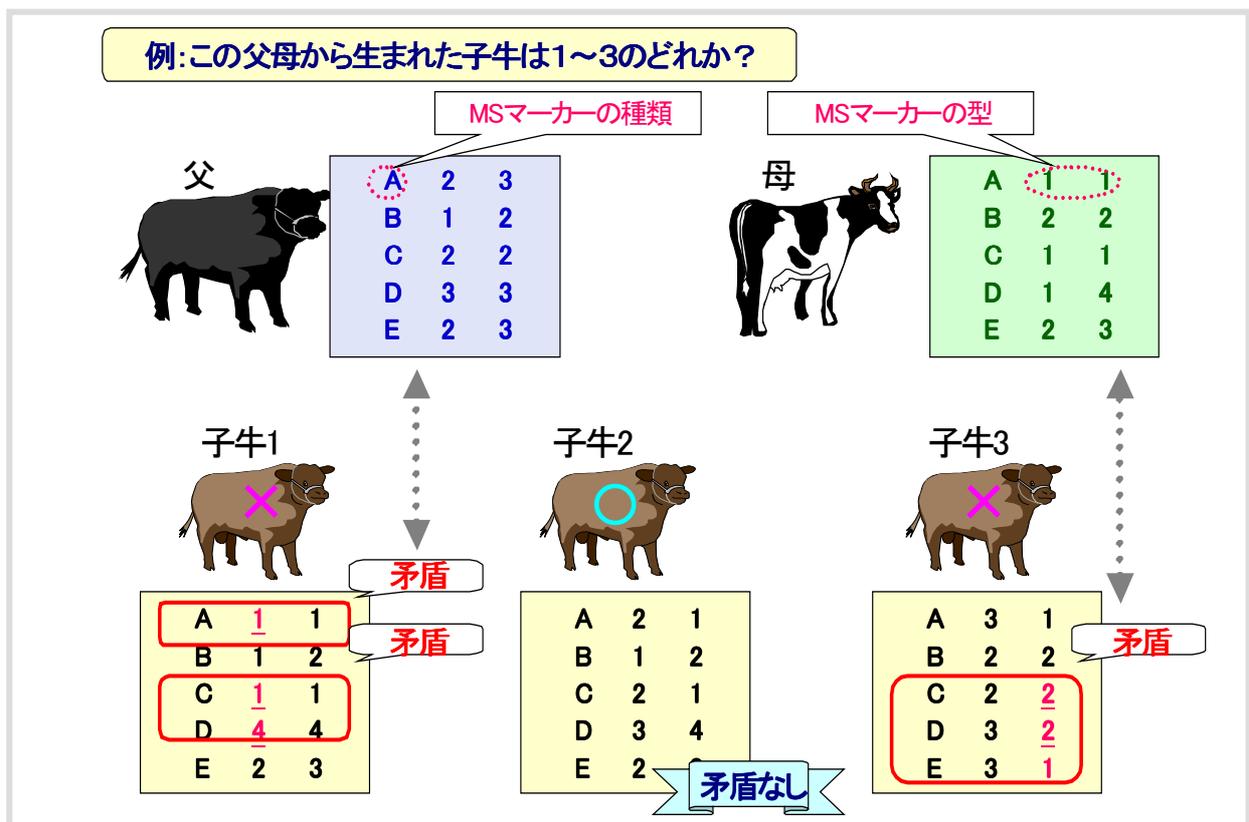


図2 MS-DNAを用いた親子判定の一例

実際の応用例

実際の例では、主に①交配種雄牛の特定と、②母子の親子判定が挙げられます。①については、分娩日が最終授精およびその1発情周期前の授精から推定した分娩予定日の中間にあたり、なおかつ交配種雄牛が異なり、その結果どちらの授精で受胎したのかが不明な場合、あるいは、同時期に複数の雌牛に人工授精を実施してもらったが、どの雌牛にどの種雄牛を交配したのかが不明な場合などが挙げられます。また、②については、生年月日が近い二組またはそれ以上の母子の組み合わせが、群飼しているうちにわからなくなってしまった場合がほとんどです。

母子の判定を行う場合には、子牛および母牛のDNA材料(血液)が必要です。複数組を判定する場合には、全ての母子について材料を採取します。また、判定の正確を期するため、母牛に交配した種雄牛の名称を明らかにしておく必要があります。

また、交配種雄牛の特定では、子牛の血液材料および交配した種雄牛またはその候補の情報が必要です。また、可能ならば母牛の血液も採取した方が、より正確に判定できます。特に、複数の種雄牛について判定を行う場合には母牛の血液はできるだけ採取すべきです。なお、よく利用される種雄牛については、あらかじめ凍結精液からDNAを調製してありますが、DNA材料が無いものもありますので、事前に確認が必要です。

いずれの場合も、どのような状況下で親子判定あるいは個体識別が必要になったのか、理由を明らかにしておくことが大切です。その上で必要十分な材料を確保し、状況を踏まえて判定を行うことが可能になります。

おわりに

MS-DNAマーカーを用いた親子判定と個体識別のシステムは、特殊な装置が必要ですが、短時間で正確な判定を行うことが可能であり、当场においても日常的に実施可能な技術です。診断目的や法的な根拠として利用することはできませんが、生産された子牛の親子関係に不安がある場合などのスクリーニングテストとして活用し、正確な血統情報の保持・提供のために役立つものと期待されます。