

## 口之島野生化牛における遺伝的多様性

モー ルウィン<sup>1</sup>・河邊弘太郎<sup>2</sup>・岡本 新<sup>1</sup>・下桐 猛<sup>1</sup>

### Genetic Variability of Kuchinoshima Feral Cattle

MOE LWIN<sup>1</sup>, KAWABE Kotaro<sup>2</sup>, OKAMOTO Shin<sup>1</sup> and SHIMOGIRI Takeshi<sup>1</sup>

1: 鹿児島大学農学部

2: 鹿児島大学自然科学教育研究支援センター

*1: Faculty of Agriculture, Kagoshima University*

*2: Natural Science Center for Research and Education, Kagoshima University*

#### 要旨

鹿児島県で維持されている日本在来牛である口之島野生化牛について、その採材の可能性を拓げるため、牛糞からの DNA 抽出を行い、種々の遺伝学的分析を試みた。その結果、牛糞から得られた DNA により、ミトコンドリア DNA および核 DNA の遺伝子を増幅および塩基配列を決定することが可能であり、採材が困難な野生状態の動物についての遺伝的分析の可能性が示唆された。

#### はじめに

口之島野生化牛は、鹿児島県のトカラ列島で生息する在来牛集団で、2005 年時点でその頭数が約 80 頭と報告されている (下桐ら 2006)。本集団は、現在までほとんど改良の手がかわらず、内地の和牛と隔離されたまま集団が維持されてきており、遺伝資源として極めて重要な存在と考えられる (NAMIKAWA 1972)。しかしながら、これまでに実施されてきた口之島野生化牛の研究は、主として鹿児島大学や名古屋大学において維持されている集団を用いたものがほとんどであり、その理由として、本集団が人の手による管理を受けておらず、島内で野生状態で群生しており、遺伝学的調査を行うための採血等のサンプリングが極めて困難な状態にあることがあげられる。そこで、本研究では動物そのものに触れることなくできる採材法として牛糞からの DNA 抽出を実施し、集団遺伝学的分析の可能について検討した。

#### 方法

30 頭分の口之島野生化牛が排泄した牛糞は、綿棒により採取し、WHITE and DENSMORE (1992) の Lysis buffer 中で保存した。糞からの DNA 抽出は、常法に従って Proteinase K 処理、フェノール抽出およびエタノール沈殿によって行った。抽出した DNA は、性決定遺伝子 SRY および  $\kappa$ -casein 遺伝子を PCR 増幅し、電気泳動により性判別を実施した。また、ミトコンドリア DNA の d-loop 領域を PCR 増幅後、ダイレクトシーケンシング法によって塩基配列を決定し、多重整列後ハプロタイプに分類した。

## 結果と考察

今回分析を実施した 30 頭分の牛糞サンプル DNA からは、23 頭 (76.7%) において SRY および  $\kappa$ -casein 遺伝子の増幅が確認され、性判別を行うことができた。また、ミトコンドリア DNA の d-loop 領域については、21 頭 (70.0%) で増幅が確認された。また、PCR 増幅が確認できなかったサンプルについては、DNA の濃度ならびに純度が増幅されたサンプルに比べて低かったことが原因と考えられ、採取法および抽出法についてもさらなる改善が必要であると思われた。

増幅されたミトコンドリア DNA d-loop 領域については、すべての個体で塩基配列を決定したが、単一のハプロタイプを示した。このハプロタイプは、これまでに報告されている口之島野生化牛の配列と一致しているとともに、本牛の導入時での母系における多様性の低さを示唆するものであった。

今回の結果から、牛糞から抽出した DNA は十分に集団遺伝学的分析に供することが可能であり、またコピー数の多いミトコンドリア DNA ばかりでなく、核 DNA の増幅も可能であったことから、マイクロサテライトや SNPs 解析なども可能であり、採材の困難な動物や希少な動物の分析の可能性を拓げるものといえる。

## 引用文献

- NAMIKAWA, T. 1972. Genetic Similarities among Seven Cattle Populations of Eastern Asia and Holstein Breed. SABRAO Newsletter, 4: 17-25.
- 下桐 猛・奥村史彦・龍野巳代・花田博之・伊村嘉美・河邊弘太郎・岡本 新・前田芳實 2006. AFLP を用いた口之島野生化牛の遺伝的変異性. 鹿児島大学農学部農場研究報告, 29 : 13-15.
- WHITE, P. S. and DENSMORE, L. D. 1992. Mitochondrial DNA Isolation. In: Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical Approach (Ed. HOELZEL, A. R.), 29-58, Oxford University Press, Oxford, UK.