

第81回麻布獣医学会 一般演題8

日本ネコ及びイヌにおけるマイクロサテライト DNA 多型を利用した個体識別の精度

八束 翔¹, 榎本 敬司², 杉山 和寿^{1,3}, 村上 賢¹¹麻布大学・分子生物学研究室, ²榎本犬猫病院, ³杉山獣医科

近年, ヒトを始めとする様々な動物種において, マイクロサテライト DNA 多型 (STR ; short tandem repeat) を利用した個体識別や親子鑑定などの DNA 鑑定法が確立されてきている。本研究では, ネコにおいてこれまでに知られている, 常染色体上に局在する互いに連鎖していない STR のうち9座位を選出し, 国内で最も多い猫種である日本ネコ 100 頭以上を対象に, この個体識別の有用性を探った。また, イヌにおいては雑種を含む 26 品種 171 頭を対象に既存の 8 座位を選出し, 個体識別の可能性について調べた。

DNA サンプルは血液及び結膜から抽出した。各座位の増幅には, 蛍光プライマーを使ったマルチプレックス PCR (日本ネコ, イヌ共に3つのパネルを設定) を用い, 続いて ABIPRISM3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) と GeneMapper v3.5 (Applied Biosystems) によってアレルの検出を行った。

その結果, 日本ネコでは各座位において 6 ~ 30 種類 (平均 16.1 種類) のアレルが検出され, ヘテロ接合度 (He ; heterozygosity) は 9 座位中 7 座位で 0.86 以上 (最低 0.67 以上, 平均 0.85) で, M. Raymond らが 28 猫種において報告したものと同様に, それぞれ高い値を示した。また, 多型情報含有値 (PIC ; polymorphic information contents) は 7 座位で 0.85 以上

(最低 0.62, 平均 0.83), 総合排除率 (CPE ; combined power of exclusion) は 0.9989 であり, 偶然遺伝子型が一致する確率 (Pm ; probability of match) は, 全ての座位を合わせると 10^{-12} 以下となった。これらの値は, 本研究で用いた STR により, 日本ネコを高精度で個体識別できることを示している。

一方, イヌでは各座位において 9 ~ 41 種類 (平均 18.4 種類) のアレルが検出され, He は最低 0.79 以上 (平均 0.88), PIC は 6 座位で 0.8 以上 (最低 0.71, 平均 0.85), CPE は 0.999993 で, Pm 値は全ての座位を合わせると 10^{-11} 以下となり, 日本ネコと同様に非常に高精度で個体識別できることが分かった。

以上のことから, 本研究で用いた 9 種類のネコ用 STR マーカー及び 8 種類のイヌ用 STR マーカーは, それぞれ日本ネコとイヌにおける個体識別や親子鑑定に有用であると考えられた。

さらに我々は, これらの STR マーカーを用いて微量組織 DNA サンプル (例えば一本の体毛等) からの個体識別の可能性を検討している。サンプルによっては, アリルドロップアウト現象 (本来ヘテロである個体のアレルの片方が欠落する) や, 異常アレルの出現 (本来のものとは異なったアレルピークパターンを示す) が認められており, 現在改良検討中である。