

ウズラの肝臓エステラーゼ・アイソザイム (*Es-2*) と経済形質との関連

前田 芳実・橋 口 勉・武富萬治郎

(昭和 52 年 8 月 31 日 受理)

Some Association of Liver Esterase (*Es-2*) Phenotype with Economical Traits in the Japanese quail

Yoshizane MAEDA, Tsutomu HASHIGUCHI
and Manjiro TAKETOMI

(Laboratory of Animal Breeding)

結 言

Smithies²⁰⁾ が澱粉ゲル電気泳動法を開発して以来、これまでの方法では不十分であった各種の酵素蛋白質の分離が容易になり、種々の動物において蛋白質多型現象の研究が進められるようになった¹⁹⁾。

ウズラにおいても、これまでに、エステラーゼ¹⁶⁾、ホスファターゼ^{10,12)}、アミラーゼ²¹⁾、脱水素酵素¹⁷⁾、ヘモグロビン¹¹⁾ など合計 22 の多型座位の存在が明らかにされている。しかしながら、ウズラにおける蛋白質多型現象に関する研究のほとんどは、遺伝的支配様式の解明や種々の集団の遺伝子頻度の推定にとどまり、変異の維持機構の解明や蛋白質多型現象と経済形質との関連など、育種学的観点からの研究は少ない。

アイソザイムは遺伝子の第 1 次産物であり、しかも生体内で機能的蛋白質として存在し、代謝経路の中できわめて重要な役割を演じている。従って、これらの蛋白質に見られる遺伝変異は蛋白質構造の差異が反映したものであって、それらの構造上の差異はさらに機能上の差異をもたらしている可能性がある。このような観点から、著者らは先に、ウズラの酸性ホスファターゼ・アイソザイム型およびヘモグロビン型と種々の経済形質との関連について分析を行なった^{13,14)}。その結果、いずれの座位においても、表現型間で、受精率、孵化率、産卵能力および体重などの形質について能力のちがいを認め、これらの多型を支配する遺伝子が多面作用を有することを明らかにした。本研究では、ウズラの肝臓エステラーゼ・アイソザイムを支配する遺伝子について、多面作用の有無を明らかにする目的で、肝臓エステラーゼ・アイソザイムと種々の経済形質との関連について検討を行なった。

ウズラの肝臓エステラーゼ・アイソザイムの電気泳動像については、橋口ら⁴⁾ の報告があり、臓器特異性を示す肝臓特有の L 活性帯が存在することを明らかにしている。また、Hashiguchi ら⁵⁾ は L 活性帯に見られる 6 つの表現型 AA, BB, CC, AC, BC および AB を見出し、これらの変異は常染色体上に存在する 3 つの相互優性遺伝子 *Es-2^A*, *Es-2^B* および *Es-2^C* によって支配されていることを明らかにした。また、種々の集団における遺伝子頻度の推定から、*Es-2^A*, *Es-2^B* および *Es-2^C* の頻度はそれぞれ 0.09~0.21, 0.77~0.92 および 0.01~0.05 を示し、いずれの集団においても *Es-2^B* の頻度が最も高く、逆に *Es-2^C* は極端にその頻度が低いことが明らかにされている。これらの頻度のちがいが環境に対する適応性と何らかの関連性を有するのか、あるいは適応性とは無関係であるのかどうかを明らかにすることは、きわめて興味深いことである。

そこで、3 つの遺伝子のうち、最も頻度の高い *Es-2^B* と最も頻度の低い *Es-2^C* を用いてこれらの遺伝子の組合せである 3 つの表現型 BB, BC および CC について種々の経済形質や適応性との関連について分析を行なった。

材料および方法

材料には鹿児島大学農学部家畜育種学教室で飼養中のウズラを用いた。本研究ではウズラの肝臓エステラーゼ・アイソザイムにおける BC×BC の交配から分離する BB, BC および CC の 3 つの表現型について分析を行なう必要から、まず、BC 個体の増殖を試みた。すなわち、当研究室で維持されている閉鎖群集団に見出された 8 個体の BC 雄と 20 個体の BB 雌

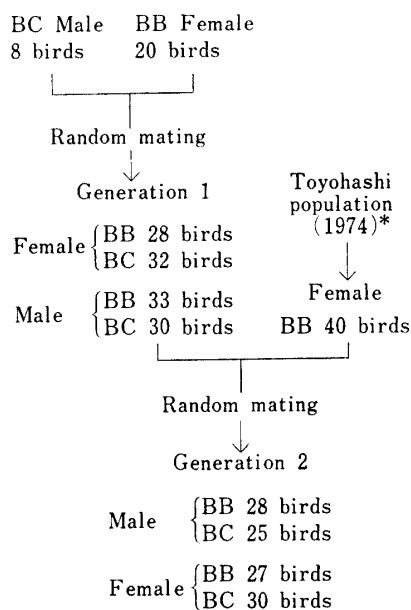


Fig. 1. Mating scheme to produce the population used in this experiment.

* The time at which they were introduced from a fancier in Toyohashi city to Kagoshima University.

を無作為に交配し、30個体のBC雄を得た。つぎに、これら30個体の雄と豊橋の養鶏業者から購入した40個体のBB雌を無作為に交配し、雄25個体および雌30個体のBCを得た。このようにして得た集団をもとにして、各表現型間の経済形質の比較を行なった (Fig. 1)。

調査した形質は次のとおりである。1) 体重 (4, 6, 8, 10週齢)、2) 卵重、3) 産卵数、4) 初産日齢、5) 入卵率：破卵および異常卵を除いた入卵数/総産卵数、6) 受精率：受精卵数/入卵数、7) 孵化率：孵化羽数/受精卵数、および孵化羽数/入卵数、8) 生存率、9) 適応度指数。

各表現型間の体重および産卵特質の比較には、前述のようにして得たBCの雄25体と雌30個体を無作為に交配して、1975年1月上旬から2月中旬までの3回の孵化によって分離して得られたBB、BCおよびCCの各表現型について検討を行なった。受精率および孵化率の比較には、分離したBB、BCおよびCC個体を用いて、4つの交配型、すなわちBB×BB、BB×CC、CC×BBおよびCC×CCを設定した。種卵は交配開始後3日目から採取し、それらを2週間おきに3回入卵して調査した。孵化しない卵について

は、19日目に破卵し、受精卵か無精卵かを肉眼で判定した。卵重は100日齢から得られた10個の卵について調査した。産卵数は初産から100日齢までと、初産から140日齢までの期間について調査した。肝臓エステラーゼ (Es-2) 型の判定は biopsy 法¹⁵⁾ によって得た肝臓の一部を用いて、薄層寒天ゲル電気泳動法で行なった。薄層寒天ゲル電気泳動法は前報^{13,14)} に順じた。

結 果

1. ウズラの肝臓エステラーゼ・アイソザイム (Es-2) の電気泳動像

ウズラの肝臓エステラーゼ・アイソザイムを示すと Fig. 2 のとおりである。移動性の最も早い域に、移動性の異なる3本の活性帯が存在し、これらの活性帯の組合せにより、AA, BB, CC, AB, AC および BC の6つの表現型が観察された。本研究では BB, BC および CC の3つの表現型について検討を行なった。

2. 肝臓エステラーゼ・アイソザイム BC×BC の交配型における分離比

各表現型の体重および産卵特質を比較するために BC×BC の交配を行なった。分離した3つの表現型 BB, BC および CC の8週齢時での分離比は Table 1 のとおりである。雌雄いずれにおいても、メンデルの法則に合致して、BB, BC および CC がほぼ 1:2:1 に分離した。

3. 体重

肝臓エステラーゼ (Es-2) 表現型の BC×BC の交配から得られたウズラについて、各表現型別の4週齢から10週齢までの体重の推移は Table 2 のとおりである。

雄においては、いずれの週齢においても、表現型間に差異は見られなかった。一方、雌では CC 個体が他の表現型よりも幾分体重が大きい傾向にあるが、その差は統計的に有意でない。

4. 産卵特質

肝臓エステラーゼ (Es-2) の BC×BC から分離して得られた3つの表現型について、初産日齢、卵重、産卵数および入卵率について分析を行なった結果は Table 3 のとおりである。

まず、初産日齢については、BB, BC および CC がそれぞれ 53.6 日、51.7 日および 50.4 日を示し、CC は他の表現型よりも有意 (5%水準) に早く初産を開始した。つぎに、産卵数について検討を行なう

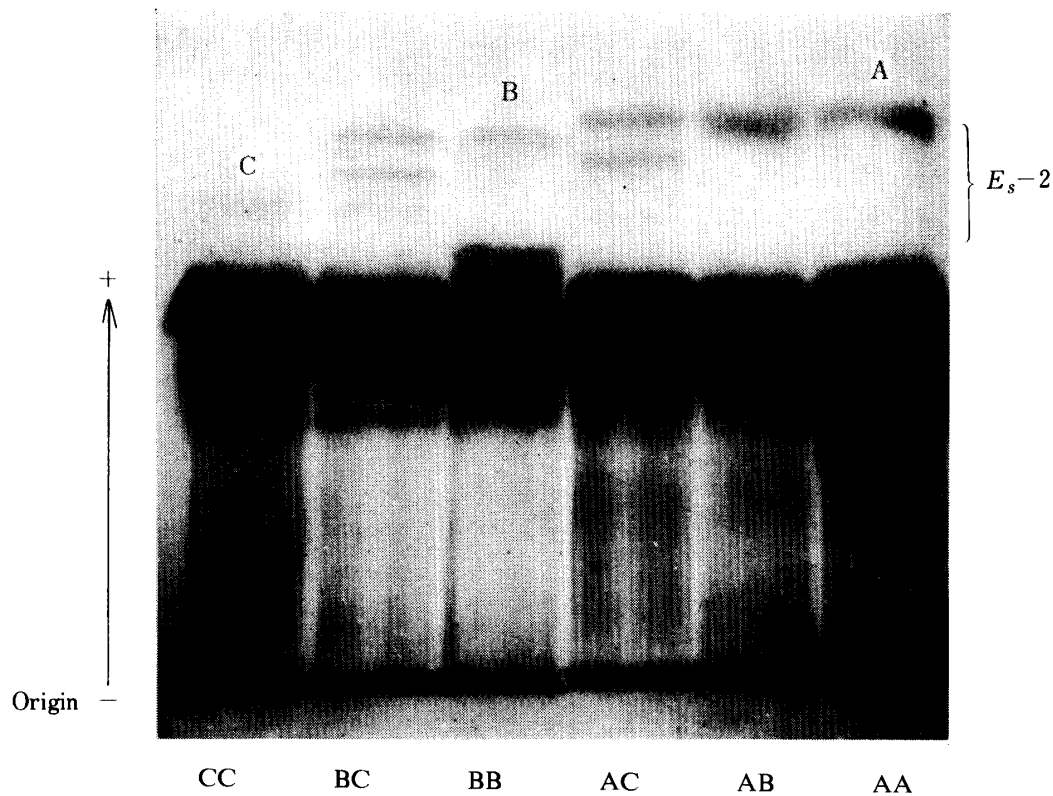

 Fig. 2 Six phenotypes of *Es-2* esterase in liver of the Japanese quail

Table 1. Number of occurrence of three liver esterase phenotypes in progeny from BC×BC mating

Sex	No. of birds		phenotype			χ^2	P
			BB	BC	CC		
Male	212	Obs.	53	102	57	0.453	0.75-0.90
		Exp.	53	106	53		
Female	188	Obs.	40	98	50	1.404	0.25-0.50
		Exp.	47	94	47		
Total	400	Obs.	93	200	107	0.980	0.50-0.75
		Exp.	100	200	100		

Obs.: Observed number.

Exp.: Expected number on the basis of Mendelian law.

Table 2. Body weights (g) of three liver esterase phenotypes at 4th, 6th, 8th and 10th weeks of age

Sex	Phenotype	No. of birds	Age in weeks			
			4	6	8	10
Male	BB	52	62.5±7.7	93.3±9.0	100.9±7.9	104.8±8.0
	BC	101	62.9±7.2	92.9±7.8	101.2±8.0	104.9±7.6
	CC	56	61.6±7.4	91.5±2.6	101.5±7.1	103.5±7.8
Female	BB	40	66.3±7.2	98.6±9.8	118.6±12.2	127.8±9.5
	BC	98	65.9±9.3	100.0±11.8	121.8±10.5	127.9±11.9
	CC	49	66.2±10.3	102.5±15.1	123.2±15.2	130.6±12.2

Table 3. Performance of egg production of each phenotype.

Phenotype	Age at first laying (day)	Egg production			Egg weight (g)	Percent of eggs-set
		to 100 days of age	to 140 days of age	Hen-day egg production		
BB	53.6±6.2 ^a (39)	42.6±7.8 (39)	77.6±12.9 (37)	89.2% (37)	10.3±0.7 (39)	96.3%
BC	51.7±5.7 ^{ab} (96)	45.6±13.3 (93)	81.5±9.2 (87)	91.6% (87)	10.4±0.7 (93)	95.7%
CC	50.4±4.4 ^b (47)	45.4±11.7 (46)	81.6±5.6 (44)	90.6% (44)	10.5±0.8 (46)	97.1%

a, b: Values with the same superscript are not statistically significant (5 % level)

(): No. of birds.

Hen-day egg production: From age at first laying to 140 days of age.

Table 4. Fertility and hatchability of the respective mating types

Mating Male × Female	Phenotypes of embryo	No. of eggs-set	Fertility %	Hatchability %	
				No. of hatches to no. of fertilized eggs	No. of hatches to no. of eggs-set
BB × BB	BB	367	91.3 ^a (335/367)*	77.0 ^{ab} (258/335)	70.3 ^{ab} (258/367)
BB × CC	BC	351	86.3 ^b (303/351)*	73.9 ^b (224/303)	63.8 ^a (224/351)
CC × BB	BC	324	88.6 ^{ab} (287/324)*	77.0 ^{ab} (221/287)	68.2 ^{ab} (221/324)
CC × CC	CC	335	90.7 ^{ab} (304/335)*	81.6 ^a (248/304)	74.0 ^b (248/335)

* : No. of fertilized eggs/no. of eggs-set.

a, b: Values with the same superscript are statistically significant (5 % level).

と、100日齢および140日齢までの産卵数のいずれにおいてもBBがBCおよびCCよりも少ない傾向がみられるが、これらの差は統計的に有意でない。また、卵重および入卵率についても表現型間差はみとめられなかった。

5. 受精率および孵化率

各交配型における受精率および孵化率を比較するため、4つの交配型すなわち、BB×BB、BB×CC、CC×BBおよびCC×CCについて分析を行った。その結果はTable 4のとおりである。

まず、受精率については、BB×BBおよびCC×CCの交配型はいずれも約91%を示したが、BB×CCおよびCC×BBは86~88%の成績を示し、前の2つの交配型よりも低かった。ことにBB×CCの交配型の受精率はBB×BBの交配型よりも有意に低かった。また、孵化率においてもBB×CCの交配型は他の交配型よりも有意に低かった。

6. 適応性

前述の4つの交配型すなわち、BB×BB、BB×

Table 5. Viability of each phenotype at 8 weeks of age

Phenotype	No. of hatches	No. of survivals	Viability %
BB	258	194	75.2
BC	445	339	76.2
CC	248	184	74.2

CC、CC×BBおよびCC×CCから得られた3つの表現型BB、BCおよびCCについて、それぞれの8週齢までの生存率を示すと、Table 5のとおりである。生存率は74.2%から76.2%を示し、表現型間で大きな差異は見られなかった。

つぎに、BB、BCおよびCCのそれぞれについて適応度指数を求めるとTable 6のとおりである。すなわち、BB、BCおよびCCの適応度指数はそれぞれ45.4%、44.0%および48.3%を示し、CCは他の表現型に比較して若干高く評価された。

Table 6 Fitness index of each phenotype

Phenotype	Egg production* ¹ f_1	Percent of eggs-set f_2	Hatchability* ² f_3	Viability f_4	Fitness index* ³
BB	89.2%	96.3%	70.3%	75.2%	45.4%
BC	91.6%	95.7%	65.9%	76.2%	44.0%
CC	90.6%	97.1%	74.0%	74.2%	48.3%

*¹: Egg production from age at first laying to 140 days of age.*²: Hatchability to no. of eggs-set.*³: Fitness index = $f_1 \times f_2 \times f_3 \times f_4$.

考 察

家畜・家禽における蛋白質多型現象と経済形質との関連を分析する試みは、乳牛のトランスフェリン型と泌乳量や受胎率との関連^{1,2)}、豚のトランスフェリン型と受胎率との関連³⁾、緬羊のヘモグロビン型と環境に対する適応性⁴⁾や受胎率との関連⁵⁾などが分析された。また、家禽類においては家鶏のヘモグロビン型と産卵能力やマレック病抵抗性⁶⁾、家鶏のアルカリ性ホスファターゼ型とマレック病抵抗性との関連¹⁸⁾、卵白蛋白質型と孵化率との関連⁹⁾などが明らかにされている。また、著者ら^{13,14)}はウズラの酸性ホスファターゼ・アイソザイム型およびヘモグロビン型と種々の経済形質との関連について分析を行なった結果、各表現型間で受精率、孵化率、産卵能力および体重などの形質にちがいが見られ、蛋白質多型現象を支配する遺伝子の多面作用の存在を明らかにした。

本研究においては、ウズラの肝臓エステラーゼ・アイソザイム (*Es-2*) の各表現型と種々の経済形質との関連について分析を行なった。その結果、初産日齢、受精率および孵化率において、表現型間あるいは交配型間の差異が認められ、体重、産卵数、入卵率および生存率においては表現型間差は認められなかった。

初産日齢では CC が他の表現型よりも約3日早い傾向が見られるが、これら初産日齢の差異は CC 個体の体重が他の表現型のそれよりも重く、性成熟に早く達することによるものと思われる。また、100日齢および140日齢までの産卵数においても表現型間差が見られ、BB 個体は他の2つの表現型よりも幾分低い傾向を示しているが、これは、肝臓エステラーゼ型の直接的効果というよりも、むしろ、初産日齢の遅れによるものと思われる。CC の適応度指数は BB および BC よりも若干大きく評価されたが、これは孵化率のちがいが影響しているものといえよう。

アイソザイムにおける大きな問題のひとつは、集団

遺伝学的立場から、それらの多型が集団内でいかなる機構で維持されているかということである。蛋白質多型現象と経済形質なかでも環境に対する適応性との関連を明らかにすることは蛋白質多型現象の維持機構の解明にも重要な手掛りを与えるものと思われる。

前述したように、*Es-2* の遺伝子頻度が低いことの原因としては、大きく2つの理由が考えられる。1つは、CC 型個体の適応性が他の表現型よりも低いことによる場合。もう1つは、Random drift のみにより頻度が減少する場合である。

肝臓 *Es-2* エステラーゼ・アイソザイムの BB, BC および CC の3つの表現型について種々の適応度形質の比較を行なった結果、CC が他の表現型に比較して著しく適応度形質が劣るという傾向は見られず、互に、ほぼ等しい成績を示した。このように、肝臓 *Es-2* エステラーゼ・アイソザイムでは適応度指数に表現型間差が見られなかったことから、これらの表現型は互に淘汰に対して Neutral であることが示唆される。

要 約

ウズラの肝臓エステラーゼ・アイソザイム (*Es-2*) の BB, BC および CC の3つの表現型について、種々の経済形質の比較を行なった。その結果は要約は次のとおりである。

1. BC×BC における8週齢での子の表現型分離は期待値どおり、BB, BC および CC が、ほぼ1:2:1に分離した。

2. 体重については表現型間には統計的に有意な差は見られなかった。

3. 産卵特質については、初産日齢に表現型間差が見られ、BB が BC および CC よりも遅い傾向が見られた。

4. 受精率においては、BB×BB および CC×CC は高い値を示したが(91.3~90.7)、異なるホモ型同志の交配である BB×CC および CC×BB では低か

った (86.3~88.6%)。受精卵数に対する孵化率では CC×CC から得られた胚が最も高い成績を示した。

5. 生存率および適応度指数については、3つの表現型の間に顕著な差異は認められなかった。

文 献

- 1) Ashton, G. C.: β -globulin polymorphism and economic factors in dairy cattle. *J. Agric. Sci.*, **54**, 321-328 (1960)
- 2) Ashton, G. C.: β -globulin type and fertility in artificially bred dairy cattle. *J. Reprod. Fertil.*, **2**, 117-129 (1961)
- 3) Gilmour, D. G. and Morton, J. R.: Association of genetic polymorphisms with embryonic mortality in the chicken. *Theoretical and Applied Genetics*, **41**, 57-66 (1971)
- 4) 橋口 勉・岡本 悟・武富萬治郎: ウズラのエステラーゼ活性に関する電気泳動的研究. 鹿大農学術報告, **No. 17**, 93-106 (1966)
- 5) Hashiguchi, T., Yoshimitsu, Y., Maeda, Y., and Taketomi, M.: Genetic variation of liver esterase isozyme in Japanese quail. (印刷中)
- 6) Huisman, T. H. J., Van Vliet, G. and Sebens, T.: Sheep hemoglobins. [I] Some genetic and physiological aspects of two different adult haemoglobins in sheep. *Nature*, **182**, 171-172 (1958)
- 7) Juma, K. H., Gharib, F. H. and J. Eliya: A note on the association of haemoglobin types with ewe and fertility and lamb mortality in indian sheep. *Anim. Prod.*, **31**, 371-373 (1971)
- 8) Kristjansson, F. K.: Transferrin types and reproduction performance in the pig. *J. Reprod. Fertil.*, **8**, 311-317 (1964)
- 9) Lowe, R. H. and K. W. Washburn: A pleiotropic effect of a mutant haemoglobin type in chickens. *Br. Poult. Sci.*, **12**, 235-244 (1971)
- 10) Maeda, Y., Hashiguchi, T. and Taketomi, M.: Genetical studies on serum alkaline phosphatase isozyme in Japanese quail. *Japan J. Genetics*, **47**, 165-170 (1972)
- 11) Maeda, Y., Hashiguchi, T. and Taketomi, M.: Genetic variation of haemoglobin in Japanese quail. *Japan J. Genetics*, **50**, 265-268 (1975)
- 12) Maeda, Y., Hashiguchi, T. and Taketomi, M.: Genetic variation of acid phosphatase isozyme in the Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Japan J. Genetics*, **51**, 71-78 (1976)
- 13) 前田芳実・橋口 勉・武富萬治郎: ウズラの酸性ホスファターゼ型と経済形質との関連. 日畜会報, **48**, 617-622 (1977)
- 14) 前田芳実・橋口 勉・武富萬治郎: ウズラのヘモグロビン型と経済形質との関連. 日畜会報, **48**, 623-628 (1977)
- 15) Maeda, Y., Shiihara, K., Hashiguchi, T. and Taketomi, M.: Liver biopsy in the Japanese quail and the chicken. *The Memo. Fac. Agric. Kagoshima Univ. Vol. IX*, **18**, 41-46 (1973)
- 16) Manwell, C. and Baker, C. M. A.: Hybrid proteins, heterosis and the origin of species — I. unusual variation of polychaete Hyalinoecia "nothing dehydrogenase" and of Quail coturnix erythrocyte enzymes. *Comp. Biochem. Physiol.*, **28**, 1007-1028 (1969)
- 17) Ohno, S., Stenius, C., Christian, L. C. and Harris, C.: Synchrouous activation of both parental alleles at the 6-PGD locus of Japanese quail embryos. *Biochemical Genetics*, **2**, 197-204 (1968)
- 18) Okada, I., Yamada, Y., Akiyama, M., Nishimura, I. and Kano, N.: Changes in polymorphic gene frequencies in strains of chickens selected for resistance to Marek's disease. *Br. Poult. Sci.*, **18**, 237-246 (1977)
- 19) Shaw, C. R.: Electrophoretic variation in enzymes. *Science*, **149**, 936-943 (1965)
- 20) Smithies, O.: Zone electrophoresis in starch gels; Group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.*, **61**, 629 (1955)
- 21) 渡辺誠喜・吉田治弘・河原孝忠: ウズラの血清アミラーゼ・アイソザイムの変異. 家禽会誌, **12**, 67-70 (1975)

Summary

In this study, experiments were conducted to find associations of liver esterase phenotype with some economical traits (body weight, egg production traits, fertility, hatchability and fitness) in Japanese quail. Results were summarized as follows.

1. In the progeny group segregated from BC \times BC matings, the observed number of BB, BC and CC phenotypes at 8 weeks of age were in good agreement with the expected number.

2. Body weights of the three phenotypes AA, AB and BB segregated from BC \times BC mating were measured at 4th, 6th, 8th and 10th week of age. The results showed that there were no difference among phenotypes.

3. Concerning the egg production traits, there were differences among phenotypes in age at first laying, CC type being significantly earlier than BC and BB types.

4. Fertilities of the four mating types, BB \times BB, BB \times CC, CC \times BB and CC \times CC were 91.3%, 86.3%, 88.6% and 90.7%, respectively. BB \times BB and CC \times CC mating types were of significantly higher fertilities than BB \times CC and CC \times BB mating types.

5. Concerning BB, BC and CC phenotypes, the viabilities till the age of 8 weeks and the fitness index were ascertained to be 75.2%, 76.2% and 74.2% in case of viability, and 45.4%, 44.0% and 48.3% in that of fitness index, respectively.