

ラマ属家畜の血液タンパク質および酵素の多型

吉田 豊*・半澤 恵*・桑山岳人*・祐森誠司*・池田周平**・佐藤光夫*
門司恭典*・渡邊忠男*・近江弘明*・栗原良雄*・百目鬼郁男*・伊藤澄磨*
Luis K. MAEZONO***・Enrique Flores MARIAZZA***
Gustavo A. Gutierrez REYNOSO***・Jorge A. Gamarra BOJORQUES***
渡邊誠喜*

(平成 12 年 11 月 30 日受付/平成 13 年 4 月 19 日受理)

要約: ペルーおよび日本国内で採取したラマ 47 頭, アルパカ 27 頭および両者の交雑種 1 頭とそのアルパカへの戻し交雑種 1 頭の計 76 頭の血液を用いて, 19 座位の血液タンパク質・酵素型を電気泳動的に解析し, 以下に示す成績を得た。

1) 血漿タンパク質: Albumin, Haptoglobin, 血漿酵素: Alanine aminotransferase, Aspartate aminotransferase, γ -Glutamyltranspeptidase, 赤血球タンパク質: Haemoglobin, ならびに赤血球酵素: Acid phosphatase, Catarase, Glucose-6-phosphate dehydrogenase, Phosphoglucomutase, Phosphohexose isomerase の計 11 座位では多型は認められなかった。

2) 血漿タンパク質 4 座位: Post-albumin (Po), Gc-protein (Gc), Transferrin (Tf) および γ -globulin field protein (γ G), 血漿酵素 3 座位: Amylase (Amy), Creatine kinase (CK) および Leucine aminopeptidase (LAP), ならびに赤血球酵素 1 座位: EsteraseD (EsD) の計 8 座位に多型が認められた。これら 8 座位のうち Tf では 6 型, Po および Gc では 4 型, γ -G, Amy および EsD では 3 型, LAP および CK では 2 型が認められた。ラマおよびアルパカにおけるこれら 8 座位の総合的な父権否定率は, 0.931 および 0.867 であった。

3) ラマとアルパカとの間で血液タンパク質・酵素型を比較したところ, Gc, Amy および EsD において種間差が認められた。すなわち, Gc および Amy では両種で共通な易動度を示すバンド以外に各々種特有の易動度を示すバンドが存在し, また EsD では両種間でバンドの易動度が異なっていた。

4) ラマとアルパカの交雑種, ならびにアルパカへの戻し交雑種の血液タンパク質・酵素型はラマあるいはアルパカと共通であった。

5) CK および EsD を除く, 17 座位の遺伝子頻度に基づいて算出したラマとアルパカとの間の遺伝的距離は 0.035 であった。

以上の成績から, 血液タンパク質・酵素型の解析はラマおよびアルパカの集団の遺伝子構成を推定する上で有力な指標となることが明確となった。一方, ラマとアルパカが遺伝的に極めて近縁な関係にあることを裏付けるものと判断された。

キーワード: アルパカ, 血液蛋白質, 酵素, リヤマ, 電気泳動的多型

緒 言

南米を原産地とするラクダ科の動物は 4 種存在し, そのうちラマおよびアルパカは家畜として飼養されているが, その分類については諸説がある。CABRER and YEPES 1960¹⁾ は, 2 属 4 種, すなわち *Lama* 属の *Lama glama* (ラマ), *Lama pacos* (アルパカ) および *Lama guaricos* (グアナコ) の 3 種, ならびに *Vicugna* 属の *Vicugna vicugna* (ビクーナ) に分類しており, FRANKLIN 1982²⁾ はこの分類法を

支持している。一方, NOVOA and WHEELER³⁾ は, ビクーナも *Lama* 属とし, 1 属 4 種に分類している。さらに, ラマおよびアルパカはともにグアナコが家畜化されたとする説, アルパカはラマとビクーナの交雑によって作られた家畜であるとする説, ラマおよびアルパカには絶滅した野生原種が存在したとする説などもある⁴⁾。このように分類学上の諸説がとなえられるのは, これらの 4 種の動物が骨学的な差異が少ないこと, ならびに 4 種間ではすべての組合せで実験的な交雑が可能であり, 交雑種は何れも妊性を有

* 東京農業大学農学部畜産学科

** 東京農業大学短期大学部生物生産技術学科

*** ペルー国立ラ・モリナ農業大学

していることに起因する^{4,5)}。したがってこれら4種の動物は生物学的に極めて近縁であることが予測される。

一方、家畜の生産・管理、特に個体識別ならびに系統管理において、血液タンパク質および酵素の多型性の活用は、極めて有効な手段である。ラマおよびアルパカの血液タンパク質および酵素の多型性については、SUZUKI ら⁶⁾の1972年の報告が最初であり、その後、1988, 9年にPENEDOらにより一連の報告⁷⁻⁹⁾がなされ、おもにそれらの報告に基づく血液タンパク質・酵素多型が、アメリカ合衆国におけるアルパカの系統管理に活用されつつある¹⁰⁾。現在、血漿タンパク質9座位： α -1B-glycoprotein (A1B), Complement 3 (C3), Vitamin D binding protein (Gc), Post-albumin 1 (Pa1), Post-albumin 2 (Pa2), Protein inhibitor 1 (Pi1), Pre-albumin (Pra), Pre-transferrin (Prt) および Transferrin (Tf), ならびに赤血球酵素4座位：Catalase (Ca), Esterase D (EsD), Glucose phosphate isomerase (GPI) および Phosphogluconate dehydrogenase (PGD) において、それぞれ共優性対立遺伝子により支配される電気泳動的多型が報告されている¹⁰⁾。

これらに対し、我々は、平成10年度より3ヶ年間、東京農業大学農学部農学研究所プロジェクト研究助成を受け、ラマ属家畜の高標高地への適応の特性、ならびに日本国内での生産の可能性を探ることを目的に、総合的な調査・研究を実施し、すでにその成果の一部を「我が国における有用動物資源としてのラマ属家畜について」を報告した¹¹⁾。そこで本研究は、ペルーおよび日本で飼育されるラマおよびアルパカ、ならびに両種間の交雑種およびそのアルパカへの戻し交雑種について、血液タンパク質型および酵素型を電気泳動的に解析し、対立遺伝子の出現状況を明らかにし、これを用いたラマおよびアルパカの個体識別および親子鑑定への利用性を確認するとともに、両者の類縁関係について若干の考察を与えることを目的とした。

材料および方法

供試材料 ペルーあるいは日本にて飼養される、ラマ48頭、アルパカ27頭、および両者の交雑種1頭とそのアルパカへの戻し交雑種1頭の計76頭を供試した。その採取地別の内訳は以下の通りである。ペルー産：標高約4,000mのアンデス山脈の麓の高地でそれぞれ別集団として飼養されているラマ10頭およびアルパカ10頭、ならびにリマ近郊の標高約150mの低地に所在するペルー国立ラ・モリーナ農業大学で飼養されているラマ12頭およびアルパカ14頭を供試した。日本産：長崎バイオパーク（標高約100m）にて飼養されているラマ22頭、アルパカ3頭、ならびにこの集団内で生産された両者の自然交雑種（F₁）およびアルパカへの自然戻し交雑種（B₁）各1頭、さらに長崎バイオパークの集団から生産され現在、本学富士畜産農場（標高800m）に飼養されているラマ3頭を供試した。以上の個体より、ヘパリンを含む試験管に頸静脈血を採取し、常法により血漿および赤血球を分離採取した。

血液タンパク質型および酵素型の解析 血漿タンパク質

6座位：Albumin (Alb), Post-albumin (Po), Gc-protein (Gc), Transferrin (Tf), Haptoglobin (Hp) および γ -globulin zone protein (γ G), 血漿酵素6座位：Alanine aminotransferase (ALT), Amylase (Amy), Aspartate aminotransferase (AST), Creatine kinase (CK), Leucine aminopeptidase (LAP) および γ -Glutamyltranspeptidase (γ GTP), 赤血球タンパク質1座位：Haemoglobin (Hb), ならびに赤血球酵素6座位：Acid phosphatase (AcP), Catarase (Ca), EsteraseD (EsD), Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), Phosphoglucomutase (PGM) および Phosphohexose isomerase (PHI) の計19座位について、電気泳動的な多型性を解析した。これらのうち、Alb, Po, Gc, Tf, Hp, γ G, Amy および Hb はスラブディスク泳動装置にて LEAMMLI¹²⁾ の処方に準じて作成したネイティブ・ポリアクリルアミドゲル電気泳動法（トリス-グリシン緩衝液, pH 8.6）により分画した。Alb, Po, Tf, γ G はクーマシ・プリリアント・ブルーによるタンパク質染色法によって検出した。また、Gc は抗ヒト Gc タンパク質ウサギ抗体 (IgG) を一次抗体、西洋ワサビペルオキシダーゼ標識抗ウサギ IgG ヤギ抗体を二次抗体としたイムノプロットング法³⁾により、Hp は *o*-ジアニシジン染色法¹³⁾により、Amy は酵素染色法¹⁴⁾により、Hb はトリジン染色法¹⁵⁾によりそれぞれ検出した。ALT および AST は、CHEN らの方法¹⁶⁾に準じ、澱粉ゲル電気泳動法（クエン酸緩衝液, pH 7.5 および 8.6）により分画したのち、酵素染色法により検出した。CK, LAP および γ GTP は、アガロースゲル電気泳動法（バルビタールナトリウム緩衝液, pH 8.6）により分画し、それぞれ MORIN ら¹⁷⁾, LAW ら¹⁸⁾ および MIYAZAKI and OKUMURA の方法¹⁹⁾に準じてそれぞれ検出した。赤血球酵素：AcP, Ca, EsD, G6PD, PGM および PHI は、渡邊ら²⁰⁾の処方に準じて、澱粉ゲル電気泳動法（ホウ酸あるいはリン酸ナトリウム緩衝液, pH 7.2）により分画し、それぞれ、HOPKINSON ら²¹⁾, KELLY ら²²⁾, 渡邊ら²⁰⁾, FILDES and PARR²³⁾, SPENCER ら²⁴⁾ および DETTER ら²⁵⁾の方法によりそれぞれ検出した。なお、ペルー採取の試料は現地で解析した。

データの解析 各遺伝子座の電気泳動的解析の結果、易動度に変異が認められた場合は、易動度の速いバンド（群）よりアルファベット順に A, B, C, D, E, F とし、それぞれのバンド（群）が共優性対立遺伝子に支配されるものとして遺伝子頻度を算出した。ついで遺伝子頻度に基づき各遺伝子座ごとならびに全体の個体識別率、父権肯定率および父権否定率を常法にしたがい算出した。また、観察値および遺伝子頻度に基づくヘテロ接合体率を算出し比較すると共に、各遺伝子型の出現度数について観察値と遺伝子頻度から算出した理論値との間で、単純仮説に基づく χ^2 検定によりハーディー・ワインベルグの法則を検証した。この際、理論値が1以下の級を含む場合は SNEDECOR and COCHRAN の方法²⁶⁾により補正した。さらにこれら遺伝子座の変異に基づき、ラマとアルパカの種間の遺伝的距離を FELSENSTEIN により公開されているソフトウェア PHYLIP Ver. 3.57c を使用し、NEI の UPG 法²⁷⁾により試算した。

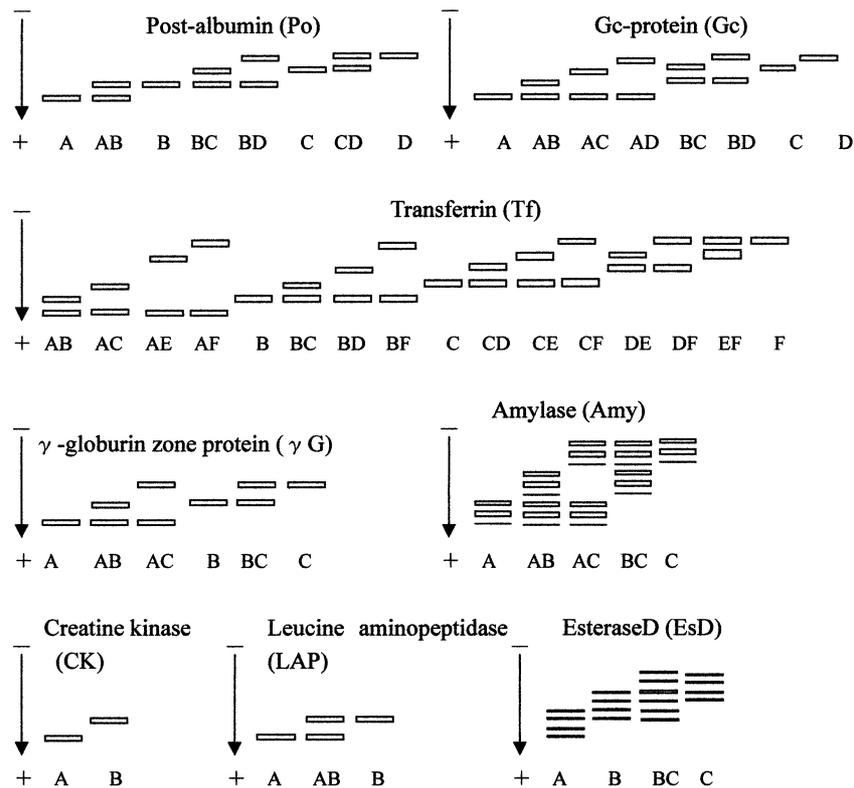


Fig. 1 Diagrams for electrophoretic patterns of blood protein and enzyme types in llamas and alpacas

結 果

ラマおよびアルパカの血液タンパク質型および酵素型
 血漿タンパク質 2 座位: *Alb* および *Hp*, 血漿酵素 3 座位: *ALT*, *AST* および γ *GTP*, 赤血球タンパク質 1 座位: *Hb*,
 ならびに赤血球酵素 5 座位: *AcP*, *Ca*, *G6PD*, *PGM* および *PHI* の計 11 座位では多型は認められなかった。これに対し、血漿タンパク質 4 座位: *Po*, *Gc*, *Tf* および γ *G*, 血漿酵素 3 座位: *Amy*, *CK* および *LAP*, ならびに赤血球酵素 1 座位: *EsD* の計 8 座位に多型が認められた。Fig. 1 に、これら 8 座位の電気泳動像に観察されたバンドパターン (表現型) の模式図を示した。また、これら 8 座位においてそれぞれの多型を共優性対立遺伝子によって支配されているものと仮定して、ラマおよびアルパカの対立遺伝子頻度を算出したところ、Table 1 に示す成績を得た。すなわち *Po*, *Gc*, *Tf*, γ *G*, *Amy*, *CK*, *LAP* および *EsD* の各遺伝子座における対立遺伝子数は 4, 4, 6, 3, 3, 2, 2 および 3 であった。これらのうち、ラマの *Po* 型および *CK* 型にはアルパカには認められない対立遺伝子が見出された。さらにラマの *EsD* 型の対立遺伝子 (*A* および *C*) は、アルパカのそれ (*B*) とは異なっていた。また、これら 8 座位の遺伝子頻度をペルー産と日本産の個体間で比較すると、*Po*, *Gc*, *Tf* および *EsD* の 4 座位において、ペルー産あるいは日本産にのみ存在する対立遺伝子が認められた。ついで各遺伝子座および総合的な個体識別率、父権肯定率および父権否定率を算出したところ、ラマおよびアルパカともに、いずれも

Tf 型のそれらをもっとも高値を示した (Table 1)。

これら 8 座位の多型のヘテロ接合体率ならびにハーディー・ワインベルグの法則に対する適合性を検証したところ、Table 2 に示す成績を得た。すなわちヘテロ接合体率の観察値は、ラマおよびアルパカの *Tf* 型、ならびにアルパカの *Amy* 型を除き、理論値より低値を示した。また、ラマおよびアルパカの *Tf* 型のヘテロ接合体率の実測値がもっとも高値を示した。ラマおよびアルパカにおけるヘテロ接合体率の実測値の平均値は、それぞれ 0.114 および 0.134 であった。ついで、遺伝子型の観察値と理論値との間の χ^2 検定の結果、ラマの *LAP* および *EsD* 型を除き、それらの観察値は理論値に適合した。

ラマとアルパカとの交雑個体および、これに対するアルパカの戻し交雑個体の血液タンパク質・酵素型 多型性の認められた 8 座位のうち *CK* を除く 7 座位の交雑種個体 (F_1) および戻し交雑種個体 (B_1) の表現型は、それぞれ *Po*: *B*, *Gc*: *A*, *Tf*: *B*, γ *G*: *A*, *Amy*: *AB*, *LAP*: *B*, *EsD*: *BC* および *Po*: *B*, *Gc*: *AB*, *Tf*: *AB*, γ *G*: *AC*, *Amy*: *A*, *LAP*: *B*, *EsD*: *BC* であった。交雑種の両親、ならびにこの交雑種への戻し交雑に用いたアルパカが特定できなかったため、この成績をラマおよびアルパカのすべての血液タンパク質・酵素型と交雑種および戻し交雑種のそれらとを比較すると、交雑種および戻し交雑種の表現型はラマあるいはアルパカと共通であり、各遺伝子座が共優性対立遺伝子により支配されると想定した場合に矛盾のない結果が得られた。また、*EsD* について、ラマでは *A* あるいは *C* 型であり、一

Table 1 Allelic frequency of blood protein and enzyme types in llamas and alpacas from Peru and Japan

Locus ¹⁾ Allele	Llamas				Alpacas										
	Peru Hi ²⁾		Peru Lo ³⁾		Total	Japan		Peru Lo		Peru Hi	Japan	Total	PPI	PPL	PPE
	n ⁷⁾	10	12	25	47	25	3	14	10	3	27				
Po	A	0.050	0.417	0.000	0.117			0.357	0.150	0.000	0.241				
	B	0.750	0.583	0.360	0.500			0.643	0.850	1.000	0.759				
	C	0.200	0.000	0.140	0.117			0.000	0.000	0.000	0.000				
	D	0.000	0.000	0.500	0.266			0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.507	0.547	0.149
Gc	A	0.900	0.917	0.360	0.617			0.679	0.450	0.333	0.556				
	B	0.100	0.042	0.100	0.085			0.000	0.000	0.333	0.037				
	C	0.000	0.000	0.520	0.277			0.000	0.000	0.333	0.037				
	D	0.000	0.042	0.020	0.021			0.321	0.550	0.000	0.370	0.370	0.712	0.623	0.273
Tf	A	0.050	0.000	0.140	0.085			0.071	0.050	0.333	0.093				
	B	0.000	0.167	0.000	0.043			0.464	0.400	0.000	0.389				
	C	0.300	0.541	0.540	0.490			0.214	0.350	0.167	0.259				
	D	0.200	0.125	0.120	0.138			0.107	0.150	0.000	0.110				
	E	0.150	0.000	0.140	0.106			0.036	0.000	0.000	0.019				
	F	0.300	0.167	0.060	0.138			0.107	0.050	0.500	0.130	0.130	0.896	0.753	0.528
γG	A	0.100	0.542	0.340	0.340			0.429	0.250	0.333	0.352				
	B	0.450	0.250	0.180	0.256			0.107	0.200	0.333	0.167				
	C	0.450	0.208	0.480	0.404			0.464	0.550	0.333	0.481	0.776	0.657	0.336	
Amy	A	0.750	0.750	1.000	0.883			0.571	0.250	0.333	0.426				
	B	0.050	0.000	0.000	0.011			0.036	0.000	0.167	0.037				
	C	0.200	0.250	0.000	0.106			0.393	0.750	0.500	0.537	0.672	0.600	0.232	
CK	A	[n=5] 0.250	[n=1] 1.000	[n=6] 0.400	[n=6] 0.400			[n=5] 1.000	[n=5] 0.000	[n=5] 0.000	[n=5] 1.000				
	B	0.750	0.000	0.600	0.600			0.000	0.614	0.572	0.182	0.000	0.000	0.000	
LAP	A	0.150	0.042	0.400	0.255			0.036	0.100	0.833	0.148				
	B	0.850	0.958	0.600	0.745			0.964	0.900	0.167	0.852	0.409	0.515	0.110	
EsD	A	—	0.000	[n=24] 0.792	[n=29] 0.655			[n=5] 0.000	—	[n=3] 0.000	[n=8] 0.000				
	B	—	0.000	0.000	0.000			1.000	—	1.000	1.000				
	C	—	1.000	0.208	0.345			0.000	0.598	0.567	0.175	0.000	0.000	0.000	
Total								0.999>	0.980	0.931		0.999>	0.949	0.867	

1) Po: Post-albumin, Gc: Gc-protein, Tf: Transferrin, γ G: γ-globulin field protein, Amy: Amylase, CK: Creatine kinase, LAP: Leucine aminopeptidase and EsD: EsteraseD. 2) Inhabit the height above sea level 4,000 meter of Peru. 3) Inhabit Peruvian low land. 4)PPI: Probabilities of individual identification. 5) PPL: Probability of paternity likelihood. 6) PPE: Probabilities of paternity exclusion. 7) Sample size for CK and EsD loci are shown in brackets.

Table 2 Heterozygosity and χ^2 -test between expected and observed numbers of blood protein and enzyme types in llamas and alpaca

1) 2) 3) 4)	A	AB	AC	AD	AE	AF	B	BC	BD	BE	BF	C	CD	CE	CF	D	DE	DF	E	EF	F	Tot	Hetero ⁵⁾	χ^2	P
Po L	2.1	6.6	0.2				13.0	5.5	9.0			0.9	3.5			6.3						47.0	0.528		
O	5	1	0				17	4	8			3	1			8						47	0.288	3.19	>0.5
A E	2.0	9.0					16.0															27.0	0.332		
O	3	7					17															27	0.259	0.98	>0.5
Gc L	21.0	4.5	9.4	1.3			0.4	2.6	0.1			6.8	0.5			0.0						47.0	0.392		
O	24	4	5	1			0	3	1			9	0			0						47	0.299	3.27	>0.5
A E	8.8	0.7	11.0				0.3	0.7				0.3				4.5						27.0	0.484		
O	9	1	1	10			0	1				0				5						27	0.481	0.18	>0.95
Tf L	0.5	0.0	4.1	1.0	1.1	0.7	0.3	2.2	0.5	0.7	12.0	6.1	4.7	5.6	0.9	1.4	2.1	0.7	1.3	1.3	1.3	47.0	0.669		
O	0	0	6	0	2	0	1	1	0	1	10	10	4	5	0	2	1	0	2	2	2	47	0.723	9.08	>0.7
A E	0.4	1.3	1.1	0.4	0.1	1.3	4.6	5.6	2.6	0.5	1.8	1.9	1.7	0.2	1.5	0.4	0.1	0.5	0.0	0.1	0.9	27.0	0.691		
O	0	3	1	0	0	1	5	5	1	0	2	0	5	1	2	0	0	0	0	0	1	27	0.778	12.59	>0.5
γ G L	6.5	7.2	12.0				3.6	9.6				8.3										47.0	0.608		
O	7	11	7				4	5				13										47	0.489	8.88	>0.1
A E	3.5	3.0	9.0				0.9	4.3				6.4										27.0	0.6		
O	5	4	5				1	3				9										27	0.444	4.18	>0.5
Amy L	37.0	0.8	7.5				0.0	0.2				1.2										47.0	0.18		
O	37	1	8				0	0				1										47	0.191	0.05	>0.95
A E	5.5	0.9	11.0				0.1	0.9				8.5										27.0	0.476		
O	5	1	12				0	1				8										27	0.518	0.14	>0.9
CK L	1.3	1.5					2.3															5.0	0.3		
O	2	0					3															5	0	2.2	>0.3
A E	5.0																					5.0	0		
O	5																					5	0		
LAP L	4.2	16.0					27.0															47.0	0.33		
O	8	8					31															47	0.17	7.48	>0.02
A E	2.2	3.6					21.0															27.0	0.134		
O	3	2					22															27	0.074	1.04	>0.5
EsD L	15.0		7.9									6.0										29.0	0.273		
O	19		0									10										29	0	11.54	>0.01
A E							8.0															8.0	0		
O							8															8	0		

1) Po: Post-albumin, Gc: Gc-protein, Tf: Transferrin, γ G: γ -globulin field protein, Amy: Amylase, CK: Creatine kinase, LAP: Leucine aminopeptidase and EsD: EsteraseD.

2) L: llamas and A: alpacas. 3) E: expected number and O: observed number. 4) genotypes of blood protein and enzyme markers. 5) ratios of heterozygosity.

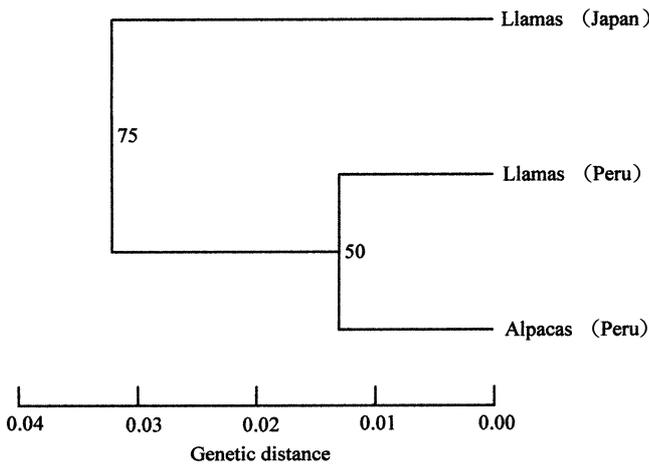


Fig. 2 Dendrogram showing genetic distance between llamas and alpacas by 17 loci (NeI, UPG method²⁷⁾)

方アルパカではすべて B 型であったのに対し、交雑種および戻し交雑種はいずれも BC 型であり、交雑種および戻し交雑種にはラマから C 型の対立遺伝子が、アルパカから B 型の対立遺伝子が遺伝したものと判断した。

ラマおよびアルパカの遺伝的距離 今回解析した 19 座位のうち CK および EsD を除く、全頭について調査した 17 座位の遺伝子頻度に基づいて算出したラマとアルパカとの間の遺伝的距離は 0.035 であった。また、ペルー産および日本産のラマ、22 頭および 25 頭、ならびにペルー産のアルパカ 24 頭の 3 個体群間で前述の遺伝子座を用いて遺伝的距離を算出し、Fig. 2 に示す樹形図を作成した。その結果、ペルー産のラマと日本産のラマとの間の遺伝的距離は 0.032 であり、ペルー産のラマとアルパカとの間の遺伝的距離、0.013 より高値を示した。

考 察

今回、変異が認められた 8 座位のうち、Po, Gc, Tf および EsD 遺伝子座の多型については、すでに PENEDO ら⁷⁻¹⁰⁾ により報告されている。これらのうち、Po は Gc と同じ遺伝子座であると報告されているが⁶⁾、本実験で見出された Gc の対立遺伝子 A, B, C および D は、検出方法、各型の易動度および出現頻度から、PENEDO and JUNEJA⁸⁾ が報告した Gc の B, E, K および N にそれぞれ相当するものと判断される。一方、Po 型の出現頻度は Gc 型のそれらと一致しないことから、我々が見出した Po 型は、PENEDO ら⁷⁾ の報告した Po 型とは別の遺伝子座の変異であり、PENEDO¹⁰⁾ が報告した Pre-albumin (Pra) との異同を確認する必要がある。また、本実験では Tf 型は 6 型に分類されたが、PENEDO ら⁷⁾、PENEDO¹⁰⁾ はラマおよびアルパカの Tf 型には 13 型が存在し、これらのうち 4 座位については等電点電気泳動法でのみ検出されるとしている。したがって、通常の PAGE を用いた本実験においてはこれらのうち幾つかの型が分離できなかったとも考えられる。しかし、Tf 型は本実験においてもっとも高い個体識別率、父権肯定率、父権否定率およびヘテロ接合体率を示し、個体識別に活用する

場合には極めて有効な遺伝子座であることが確認された。EsD については、PENEDO¹⁰⁾ と我々とは電気泳動法が異なるため、単純な比較は困難であるが、いずれも 3 つの型を見出しており、これらが相同である可能性が高い。これらに対し、 γ G, Amy, CK および LAP については、我々が、今回の実験においてはじめて個体変異を見出したものである。このうち γ G は個体識別率、父権肯定率、父権否定率およびヘテロ接合体率が高く、個体識別に有効な遺伝子座であると考えられる。今後、PENEDO¹⁰⁾ が報告した Pre-transferrin (Prt) との異同を確認する必要がある。これら 8 座位の多型により算出される総合的な個体識別率は、個体識別に充分活用しうる高値であると考えられるが、一方、父権肯定率および父権否定率は必ずしも充分な値とは云えず、親子鑑定に活用するためには、赤血球抗原型および DNA 多型をも視野に入れ、より多くの遺伝子座を用いる必要があるものと考えられる^{7,10)}。

また、ラマの LAP および EsD の遺伝子型について、観察値の理論値に対する適合度が低かった一因は、調査個体数が少ないことに起因すると考えられる。本実験において多型の認められなかった 11 座位のうち、Ca については、PENEDO ら⁷⁾ は多型が存在すると報告している。したがって、本実験において Ca の多型が観察されなかった原因は、個体数が少なかったこと、採取した地域が限定されたことなどによっても考えられる。

多型が認められた 8 座位の対立遺伝子頻度をラマとアルパカとの間で比較したところ、Po および CK ではラマのみに認められる型が観察され、また、EsD ではラマとアルパカの易動度が異なっていた。しかし、調査した 19 座位のうち 11 座位では多型が認められず、ラマとアルパカは同一の型を示した。また、ラマとアルパカとの交雑種ならびにアルパカへの戻し交雑種の血液タンパク質・酵素型はラマあるいはアルパカの両者あるいは一方と共通であった。これら 19 座位のうち、CK および EsD を除く 17 座位を用いて全個体を供試して試算したラマとアルパカとの間の遺伝的距離²⁷⁾ は 0.035 であった。一方、ラマの Po, Gc, Tf, Amy および EsD の 5 座位においてペルー産あるいは日本産にのみ存在する対立遺伝子が認められ、LAP の対立遺伝子頻度にも差異が認められた。さらにペルー産ラマと日本産ラマとの間の遺伝的距離 (0.032) は、ペルー産のラマとアルパカとの間のそれ (0.013) より高値を示した。これらに対し、家畜ウマでは、血液マーカーの変異に基づいて算出した品種間の遺伝的距離は 0.02~0.11 であり、さらにこれら家畜ウマの各品種とモウコノウマとの間の遺伝的距離は 0.246~0.367 であったと報告されている²⁸⁾。また Nei²⁹⁾ は、一般に品種の遺伝的距離は 0.02 以下であり、種間の遺伝的距離は 0.2~2 であると報告している。したがって、ラマとアルパカとは遺伝的に極めて近縁な関係にあることが再確認され^{4,5,7)}、ラマとアルパカは別種と云うより、むしろ亜種に近い関係にある可能性が示唆された。

また、本実験においてラマおよびアルパカの血液タンパク質および酵素に関する 19 座位の遺伝子型に基づいて算出した平均ヘテロ接合体率は、PENEDO ら⁷⁾ がアメリカ合

衆国に移入されたラマおよびアルパカの13座位の遺伝子型に基づいて算出したそれに比べて1/2以下であった。本調査では、試料を採取した集団がペルー産及び日本産ともに限られていることから、このような偏りが生じたとも考えられる。特に日本産のラマおよびアルパカは、調査個体のほとんどが長崎バイオパークで飼養されているものであり、当施設では、長年に亘り自家繁殖を実施しているため、施設への導入時の遺伝子頻度の偏りが、そのまま日本産のラマおよびアルパカの遺伝子頻度に反映されているものと判断される。一方、ペルーで採取・解析した個体において、高地産と低地産の集団間で遺伝子頻度に偏りが認められたことは、ペルーにおけるラマおよびアルパカの移動が必ずしも多くないことを示唆した。今後、ペルーにおける両家畜の個体管理、個体の移動の実状を把握する必要がある。

以上要するに、本実験により、血液タンパク質・酵素型の解析は集団の遺伝子構成を推定する上で有力な指標となること、ならびにラマとアルパカが遺伝的に極めて近縁な関係にあることが示唆された。本実験の成績は、今後さらに遺伝子座の数を増やし、またDNAレベルでの多型解析も併用することで、日本およびペルーにおけるラマ属家畜の個体および集団の管理に有効に活用しようものと思ふ。

引用文献

- CABRERA, A. and YEPES, J., 1960. Mamíferos Sud Americanos. (ed. Ediar, S.A.). pp. 72-85. Buenos Aires.
- FRANKLIN, W.L., 1982. Biology, ecology, and relationships to man of the South American camelids. In: Mammalian Biology in South America (ed. Mares, M.A. and Genoways, H.H.). pp. 457-489. Special Publication Series, 6, Pymatuning Laboratory of Ecology and University of Pittsburg, Linesville, Pennsylvania.
- NOVOA, C. and WHEELER, J., 1984. Llamas and alpacas. In: Evolution of Domesticated Animals (ed. Mason, I.L.). pp. 116-128. Longman, London.
- 山崎大輔, 1993. リヤマ, アルパカ-南米ラクダ類の歴史と現状. 畜産の研究, 47, 102-108.
- GRAY, A.P., 1972. Mamallian Hybrids. pp. 161-163. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, England.
- SUZUKI, Y., STORMONT, C. and CASTELLANOS, A., 1972. A multi-allele transferrin system in new world camels. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 3 (Suppl. 1), 48-49.
- PENEDO, M.C.T., FOWLER, M.E., BOWLING, A.T., ANDERSON, D.L. and GORDON, L., 1988. Genetic variation in the blood of llamas, Llama glama, and alpacas, Llama pacos. *Animal Genetics*, 19, 267-276.
- PENEDO, M.C.T. and JUNEJA, R.K., 1989. Polymorphic plasma postalbumin (Po) of llamas and alpacas identified as Gc protein. *Animal Genetics*, 20, 221-223.
- JUNEJA, R.K., PENEDO, M.C.T., LARSSON, H.E.B., GAHNE, B. and BOWLING, A.T., 1989. Two-dimensional electrophoresis of the plasma proteins of alpacas and llamas: genetic polymorphism of $\alpha 1B$ -glycoprotein and three other proteins. *Animal Genetics*, 20, 395-406.
- PENEDO, M.C.T., 1996. Bloodtyping and DNA fingerprinting applied to the establishment of pedigrees in alpacas. *Alpaca Registry Journal*, 1, <http://www.alpacaregistry.net/journal/win96j-9.html>.
- 祐森誠司・桑山岳人・池田周平・吉田 豊・佐藤光夫・半澤 恵・門司恭典・渡邊忠男・近江弘明・栗原良雄・百目鬼郁男・渡邊誠喜・MAEZONO, L.K.・MARIAZZA, E.F.・伊藤澄彦, 2000. 我が国における有用動物資源としてのラマ属家畜について. *東京農業大学農学集報*, 45, 179-187.
- LAEMMLI, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685. Plasma Protein
- MALIN, S.F., BAKER, R.P.Jr. and EDWARDS, J.R., 1972. Electrophoretic determination of haptoglobin as a hemoglobin complex. *Biochemical Medicine*, 6, 205-209.
- MAEDA, Y., WASHBURN, K.W. and MARKS, H.L., 1980. Protein polymorphism in quail populations selected for large body size. *Animal Blood Group and Biochemical Genetics*, 11, 251-260.
- BAUR, E.W., 1963. Thin-layer starch-gel electrophoresis and plastification method. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 61, 166-173.
- CHEN, S.H., GIBLETT, E.R., ANDERSON, J.E. and FOSSAM, B.L.G., 1972. Genetics of glutamic-pyruvic transaminase: its inheritance, common and rare variants, population distribution, and differences in catalytic activity. *Inn. Human Genetics*, 35, 401-409.
- MORIN, L.G., 1977. Evaluation of current methods for creatine kinase isoenzyme fractionation. *Clinical Chemistry*, 32, 205-210.
- LAW, G.R.J., 1967. Alkaline phosphatase and leucine aminopeptidase association in plasma of the chicken. *Science*, 156, 1106-1107.
- MIYAZAKI, S. and OKUMURA, M., 1972. Change of serum γ -glutamyltranspeptidase level and isoenzyme pattern in hepatobiliary pancreatic disease. *Clinica Chimica Acta*, 40, 193-197.
- 渡邊誠喜・芝田 猛・河原孝忠, 1977. ニホンウズラにおけるエステラーゼDアイソザイムの変異. *日本家禽学会誌*, 14, 66-67.
- HOPKINSON, D.A., SPENCER, N. and HARRIS, H., 1963. Red cell acid phosphatase: a new human polymorphism. *Nature*, 199, 969.
- KELLY, E.P., STORMONT, C. and SUZUKI, Y., 1971. Catalase polymorphism in the red cells of horses. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 2, 135-143.
- FILDES, R.A. and PARR, C.W., 1963. Human red cell phosphogluconate dehydrogenase. *Nature*, 200, 890-891.
- SPENCER, N., HOPKINSON, D.A. and HARRIS, H., 1964. Phosphoglucomutase polymorphism in man. *Nature*, 204, 742-745.
- DETTER, J.C., WAYS, E.R., GIBLETT, E.R., BANGHAN, M.A., HOPKINSON, D.A., POVEY, S. and HARRIS, H., 1968. Inherited variations in human phosphohexoseisomerase. *Annual of Human Genetics*, 31, 329-338.
- SNEDECOR, G.W. and COCHRAN, W.G., 1967. Statistical Methods, 6th eds. 畑村又好・奥野忠一・津村好郎共訳, スネデカ, コクラン統計的方法原書第6版, 岩波書店, 225.
- NEI, M., 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106, 283-292.
- BOWLING, A.T. and RYDER, O.A., 1987. Genetic studies of blood markers in Przewalski's horses. *Journal of Heredity*, 78, 75-80.
- NEI, M., 1976. Mathematical models of speciation and genetic distance. In: Population Genetics and Ecology (ed. KARKIN, S. and NEVO, E.). pp. 723-765. Academic Press, New York.

A Research on Polymorphisms of Blood proteins and Enzymes of Domestic Animals in Genus Lama

By

Yutaka YOSHIDA*, Kei HANZAWA*, Takehito KUWAYAMA*, Seizi SUKEMORI*,
Shuhei IKEDA**, Mitsuo SATO*, Yasunori MONJI*, Tadao WATANABE*,
Hiroaki OHMI*, Yoshio KURIHARA*, Ikuo DOMEKI*, Sumimaro ITO*,
Luis K. MAEZONO***, Enrique Flores MARIAZZA***,
Gustavo A. Gutierrez REYNOSO***, Jorge A. Gamarra BOJORQUES***
and Seiki WATANABE*

(Received November 30, 2000/Accepted, April 19, 2001)

Summary : Blood samples of llamas and alpacas were classified by using electrophoretic procedures in the polymorphism at 19 loci. Electrophoretic variation was found for 8 loci, namely plasma proteins : post albumin (Po), Gc protein (Gc) and transferrin (Tf) and γ -globulin zone protein (γ G), for plasma enzymes : amylase (Amy), creatine kinase (CK) and leucine aminopeptidase (LAP), and for red cell enzyme : esteraseD (EsD). Synthetic probabilities of paternity exclusion about the 8 loci for llamas and alpacas were 0.931 and 0.867, respectively. No variants were found for plasma proteins : albumin and haptoglobin, for plasma enzymes : alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and γ -glutamyltranspeptidase, for red cell haemoglobin, and for red cell enzymes : acid phosphatase, catarase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, phosphoglucomutase and phosphohexose isomerase. Nei's genetic distance between llamas and alpacas on the 17 loci (except CK and EsD) was 0.035. Preliminary estimate of the genetic distance measure may suggest that llamas and alpacas are more likely related as subspecies than as separate species.

Key Words : alpacas, blood protein, enzyme, llamas, electrophoretic polymorphisms

* Department of Zootechnical Science, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

** Department of Bioproduction Technology, Junior College of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

*** Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina, Peru