

エゾヤチネズミ個体群の変動に関する研究 (Ⅲ)

血清エステラーゼの電気泳動像について

桑 畑 勤⁽¹⁾・森 脇 和 郎⁽²⁾

Tsutomu KUWAHATA and Kazuo MORIWAKI: Studies on
Population Fluctuation of the Red-backed Vole,
Clethrionomys rufocanus bedfordiae (THOMAS) (Ⅲ)
Zymograms of serum esterases in the red-backed
vole separated by starch-gel electrophoresis

要 旨: エゾヤチネズミの漸進的大発生説を実証し, 発生予察をより有効にするために, 個体群の質的構成を遺伝子型で分析することが必要になり, 電気泳動法の導入が考えられた。

殿粉ゲル電気泳動法で分離検出されたエゾヤチネズミの血清エステラーゼは, 試料挿入穴から陽極側に20番までの活性帯を認めることができた。

この研究に使用されたエゾヤチネズミは, 生活条件のことなる9個体群, 148頭であり, 9個体群の活性帯パターンを比較すると, 20番までの活性帯は, 2つのグループに分けることができた。ひとつは, 個体や個体群によって, 大きく変動する11本の活性帯であり, もうひとつは, 個体による変動はかなりあるが, どの個体群にも共通している9本の活性帯である。個体群の活性帯パターンでは, ほとんどの個体群のパターンはちがっていたが, 2個体群のパターンだけは, まったくおなじものが認められた。

1. は じ め に

エゾヤチネズミの大発生を予察するための研究は, 最初のうちは外的要因が重視され, 食物条件や気象条件などがおもに取りあげられ, 大発生との関係が研究されたが, 明確な結論を導くことができなかった²⁴⁾。しかし, エゾヤチネズミ個体群の長期観察がはじまり, 個体数の変動を個体群の質的構成の変化と対応させてつかまえ, 大発生を直接に分析することができたことによって, 太田¹⁹⁾が提案した漸進的大発生説の考えが重視されるようになった²⁾⁴⁾⁵⁾²⁴⁾。

太田が提案した漸進的大発生説とは, エゾヤチネズミ個体群の内部に変動の原動力を見い出し, それに対する外的諸要因の影響を調べることによって, 個体数の変動を予測しようとするものであるが, この説を実証し実際に役だてるには, なお, おおくの研究を積みかさねなければならない。

漸進的大発生説をよりどころにした, これまでの研究は, 齢構成の問題を追究するなかで, とくに春仔と秋仔の成長と繁殖の仕方の問題を重視した。それは, エゾヤチネズミ個体群の変動機構が, これらの問題に大きく依存しているためであった²⁾⁷⁾²⁴⁾。

春仔と秋仔の成長と繁殖の仕方は, これまでの野外調査の結果から, 生活条件のちがいで, いろいろ変化することがわかっているが, それが, どんな外的要因によるものなのかを明らかにするためには,

1973年8月6日受理

(1) 北海道支場 (2) 国立遺伝学研究所細胞遺伝部第2研究室長

たんに野外調査の累積をいくらしても解決できる問題ではないが、温度、湿度、光、食物などの外的諸条件を、人工的に調節した飼育実験で要因分析を行なうことによって、はじめて、この問題を解明することができるものと考えられる⁶⁾⁸⁾。

しかし、現在、この飼育実験を行なううえでの最大の障害は、エゾヤチネズミの個体変異があまりにも大きく、そのために要因分析が不明確になることである（未発表）。この飼育実験を有効に行なうためには、実験誤差のなかに含まれている遺伝的な差を分離する方法を確立しなければならない。

最近、電気泳動法の分析技術が発達して、品種、系統、および個体の蛋白質レベルでの変異を判別することができ、しかも、それらの遺伝的支配様式までもが研究されるようになった¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾²⁰⁾。ことに *Microtus* 属の野ネズミにおいては、個体群の変動機構の分析にも、この研究が適用されはじめていることは注目しなければならない¹⁾³⁾²¹⁾²²⁾²³⁾。

エゾヤチネズミの発生予察に対する電気泳動法の適用も、たんに飼育実験での遺伝的差異を分離するためだけでなく、エゾヤチネズミ個体群の質的構成を遺伝子型で分析することによって、個体群の変動機構が明らかになり、発生予察の研究に貢献できるものと考えられる。

この報告は、澱粉ゲル電気泳動法によって分離検出された血清エステラーゼ活性帯のパターンを、北海道、8 地域のエゾヤチネズミ個体群についてとりまとめたものであるが、これは桑畑が国立遺伝学研究所細胞遺伝部に留学したとき、森脇との共同研究の一部である。

研究を進めるにあたって、終始ご厚情ある指導と援助をいただいた、細胞遺伝部長の吉田俊秀博士に厚く感謝するとともに、留学のために尽力くださった本場ならびに支場の関係各位にたいし感謝の意を表する。

2. 実験材料および方法

実験材料は Table 1 に示すように、北海道、8 地域から採集した 148 頭のエゾヤチネズミが使用された。この 148 頭のなかには飼育室で繁殖した個体も含まれている。数年まえ、野幌トドマツ天然林で採集し、約 20 世代ほど飼育室で繁殖をくりかえした普通型の 17 頭と、洞爺湖中島で約 15 % の出現率で捕獲された、黒変型のエゾヤチネズミを飼育室で繁殖させた 11 頭が飼育個体である⁹⁾。

血清標本は大腿骨静脈採血と心臓採血との併用で採取し、1～2 時間ほど室温に放置したあと、3,000 rpm で 30 分間遠心分離して、地域別、個体別に、その上清を電気泳動用血清標本とした。この血清は電気泳動に使用するまで、 -20°C のストッカーで凍結保存した。

澱粉ゲルの調合および電気泳動法は、Moriwaki *et al.*¹⁷⁾ の方法で行なった。

エステラーゼの基質発色液は、pH 8.0、0.4 M・Tris-HCl 緩衝液、20 ml に、脱イオン水、187 ml を加えた溶液のなかで、Fast Blue RR salt 400 mg をとかけた液と、 α -naphthyl acetate 80 mg を 8 ml のアセトンでとかけた液とを一緒にして作られ、室温 ($20\sim 25^{\circ}\text{C}$) で発色させ活性帯を検出した。

α -naphthyl acetate を使用して検出された、エゾヤチネズミの血清エステラーゼ活性帯を区分するために、 10^{-6} M・Eserin、 10^{-3} M・PCMB (*p*-chloromercuribenzoic acid) と、 10^{-3} M・EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid) の阻害剤が使用された。

Eserin と PCMB は、泳動の終わった澱粉ゲルを、 10^{-6} M と 10^{-3} M 濃度の反応液に 30 分間浸したあと、発色液に浸した。EDTA は発色液のなかに、 10^{-3} M 濃度が含まれるように調合して使用した。

3. 血清エステラーゼ活性帯

エゾヤチネズミにおける血清エステラーゼの澱粉ゲル電気泳動像は、これを易動度の早い順に番号をつけると、試料挿入穴から陽極側に 20 番までのエステラーゼ活性帯が検出されたが、陰極側にはまったく検出されなかった。

Fig. 1 は、Long Evans 系 rat (*Rattus norvegicus*) と比較したエゾヤチネズミのエステラーゼ活性帯の模式図である。エゾヤチネズミのエステラーゼ活性帯を分析するときは、いつでも Long Evans 系 rat の活性帯が対照として使用されるので、この比較は重要である。

Long Evans rat の活性帯は、Es-1 と Es-5 とが、ひじょうに強い活性を示し、これらの間に弱い活性帯 Es-2, Es-3, Es-4 がある。エゾヤチネズミの活性帯と Long Evans rat の活性帯との対応関係は、Long Evans rat の Es-1 にはエゾヤチネズミの Es-4, Es-5, Es-6 が、Es-2 には Es-9 が、Es-3 には Es-12 が、Es-4 には Es-14 が、Es-5 には Es-17 が、それぞれ対応している。

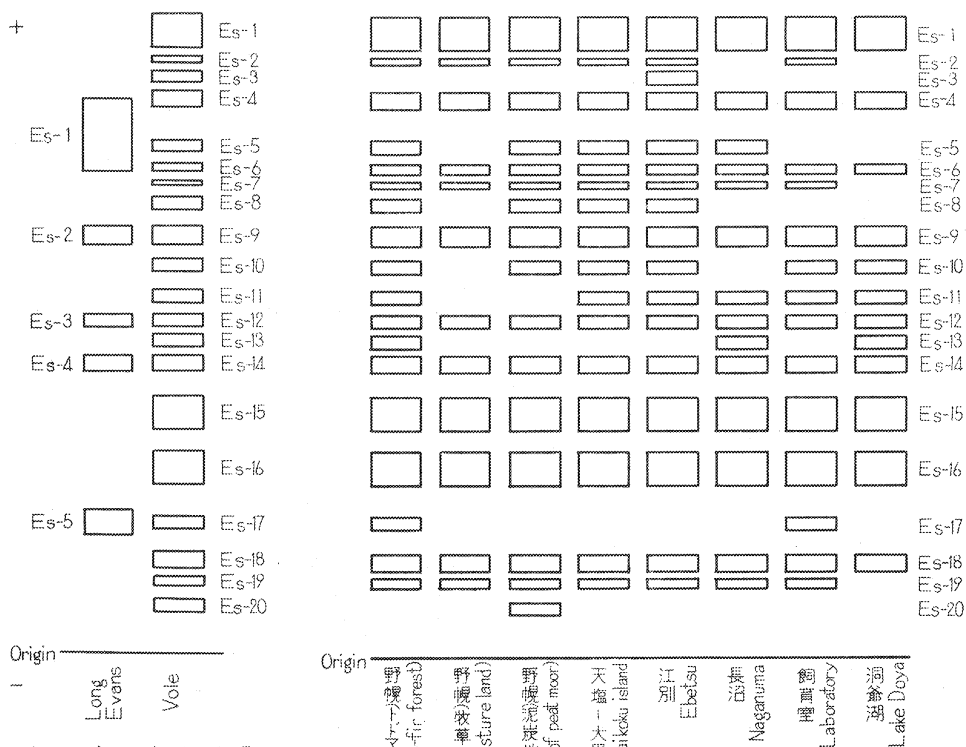


Fig. 1 エゾヤチネズミと Long Evans 系 rat における血清エステラーゼの澱粉ゲル電気泳動像の模式図
Schematic representation of the esterase zymograms separated by starch-gel electrophoresis using the sera of the vole and Long Evans rat.

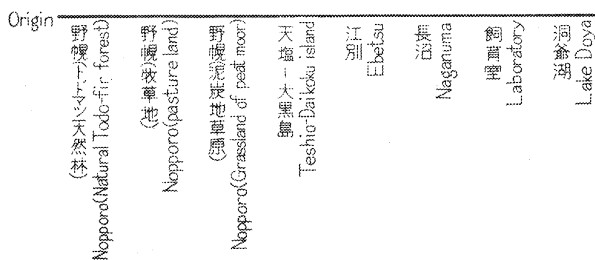


Fig. 2 エゾヤチネズミ個体群における血清エステラーゼ・パターン
The serum esterase patterns in the vole population, *Clethrionomys rufocanus bedfordiae*.

4. 個体群における血清エステラーゼ・パターン

エゾヤチネズミ 9 個体群におけるエステラーゼ活性帯数の個体変異は, Table 1 のとおりである。この表をみると野幌トドマツ天然林の個体変異がもっとも大きく, 1 本から 16 本までの範囲にひろがり, しかも, その山がいくつもある複峰型の分布を示している。もっとも個体変異が小さいのは, 洞爺湖中島の黒変型であり, 活性帯数は 6 本から 10 本までの範囲に分布している。

活性帯数の平均値をみると, 江別と大黒島がもっとも大きく, 野幌牧草地がもっとも小さいが, それぞれの個体群間の平均値には有意な差は認められない。

しかし, ここで問題になることは, それぞれの個体群をまとめた全体の活性帯数が, 8 本のところに山のある単峰型の分布を示していることである。つまり, エゾヤチネズミの平均活性帯数が, おおよそ 8 本ぐらいのところにあるわけだが, それでは, この平均値より少ない活性帯数の個体と, 多い個体とでは, いったいどんな遺伝的, 生理的変異を示すのかは興味のある問題である。

エゾヤチネズミのエステラーゼ活性帯は, 全部で 20 本あったが, これらの活性帯がそれぞれの個体群で, どのようなパターンになっているかを Fig. 2 に示した。この図でまず最初に気付くことは, 天塩と大黒島の活性帯パターンが, まったく同じになっていることである。このことは, 天塩と大黒島の生息場所が海辺という点で, 偶然にも似ていることが注目される。

では, それぞれの個体群における活性帯パターンの類似性と相違性をしらべるために, 11 本の可変活性帯(残りの 9 本は, どの個体群にも共通しているので, これを固定活性帯とする)のパターンを, Table 2

Table 1. 殿粉ゲル電気泳動法に使用したエゾヤチネズミとエステラーゼ
The vole populations and numbers used for the starch-gel
among individuals in the numbers of esterase bands

個 体 群 Populations	特 長 Feature	活 性 帯 数						
		1	2	3	4	5	6	7
野 幌 (トドマツ天然林) Nopporo (Natural Todo-fir forest)	野 生・普通型 Wild・Common type	1		1	4	1	1	6
	飼 育・普通型 Laboratory・Common type				1	3	1	2
野 幌 (牧 草 地) Nopporo (Pasture land)	野 生・普通型 Wild・Common type			1		1	2	1
野 幌 (泥炭地草原) Nopporo (Grassland of peat moor)	野 生・普通型 Wild・Common type					2	3	4
天 塩 (海岸砂防林) Teshio (Coastal sand-dune fixation forest)	野 生・普通型 Wild・Common type					1	1	5
江 別 (石狩川河岸) Ebetsu (Dry river-bed along the Ishikari river)	野 生・普通型 Wild・Common type						3	1
長 沼 (水田の畔) Naganuma (Ridge between rice-field)	野 生・普通型 Wild・Common type				1	1	1	
大 黒 島 Daikoku island	野 生・大黒島型 Wild・Daikoku island type						2	2
洞 爺 湖 (中 島) Lake Doya (Island in the lake)	飼 育・黒変型 Laboratory・Black mutation						3	
全 体 All populations		1		2	6	9	17	21

で比較してみた。

Table 2 では、江別の石狩川河岸の活性帯パターンが天塩、大黒島のパターンにもっともよく似ていることがわかる。すなわち、Es-3 活性帯があるか、ないかのちがいで、残りの活性帯はまったく同じになっている。

つぎに、野幌トドマツ天然林と飼育室との活性帯パターンを比較してみよう。飼育室のエゾヤチネズミは、数年まえに野幌トドマツ天然林から採集されたものであるが、生活条件のちがいが、どれほど遺伝組成に変化をもたらすかをみるうえで興味のある問題である。飼育室のエゾヤチネズミでは、Es-5, Es-8, Es-13 の、3つの可変活性帯が消失しているが、一方、Es-17 は両者だけにある可変活性帯で、ほかの個体群にない活性帯である。Es-5, Es-8, Es-13 が、どうして消失したかの原因については考察で論議することにする。

長沼、野幌牧草地、洞爺湖中島の黒変型は、ともに特殊な生息場所に隔離された個体群であるが、検出できなかった可変活性帯が多くなっている点では、これらの個体群は似ているといえるけれども、活性帯パターンでは相当に違っている。すなわち、これらの個体群の遺伝組成は、大きな違いがあると考えてさしつかえないだろう。

最後に、20本のエステラーゼ活性帯の頻度が、それぞれの個体群でどのように変化しているかをみてみよう。

20本の活性帯頻度を分析するにあたって、Table 2 で摘出した11本の可変活性帯と、残り9本の固定活性帯とに区分してみる必要がある。可変活性帯は条件的で変化しやすい活性帯であるが、固定活

性帯はエゾヤチネズミの種に固定された活性帯であると、かりに考えて分析をすすめることにする。

Table 3 に、9個体群の活性帯頻度を示した。固定活性帯は Es-1, Es-4, Es-6, Es-9, Es-12, Es-14, Es-15, Es-16, Es-18 の9本であるが、これらの固定活性帯といえどもその頻度には、ひじょうに大きな変化がみられ、エゾヤチネズミの個体変異の大きさを示している。

また、固定活性帯のなかで50%以下の頻度になる活性帯は Es-4, Es-12, Es-15, Es-16 の4本であるが、これらのなかでとくに Es-4 は頻度の低い個体群が多く、なかでも、飼育室の5.9%は極端に低い値を示している。

11本の可変活性帯の頻度は、固定活性帯の頻度に比べて全体として低く、50%以上の頻度を示すものはごくまれで、多くは50%以下の値を示している。もちろん、可変活性帯にも固定活性帯以上の大きな個体変異がみられる。

活性帯数の個体変異

electrophoresis and the variation

Numbers of esterase bands											計 Total	平均値 Average
8	9	10	11	12	13	14	15	16				
	3	7	4	2		1		1			32	8.0±1.3
5	2	3									17	7.5±1.0
	2		1								8	7.0±2.0
3	3	1	2	1							19	8.0±1.0
3	3	3	1	1							18	8.3±0.9
2	1	1		2	1	1					12	9.3±1.8
2			1	1	1						8	8.4±2.6
5	4	2	5	2	1						23	9.3±0.8
6	1	1									11	7.7±0.8
26	19	18	14	9	3	2		1			148	

Table 2. エゾヤチネズミ個体群における
Variable bands of the serum esterase patterns

個 体 群 Population	Es-2	Es-3	Es-5	Es-7	Es-8	Es-10
野 幌 (トドマツ天然林) Nopporo (Natural Todo-fir forest)	+	—	+	+	+	+
江 別 Ebetsu	+	+	+	+	+	+
野 幌 (泥炭地原野) Nopporo (Grassland of peat moor)	+	—	+	+	+	+
天 塩 Teshio	+	—	+	+	+	+
大 黒 島 Daikoku island	+	—	+	+	+	+
飼 育 室 Laboratory	+	—	—	+	—	+
長 沼 Naganuma	—	—	+	+	—	—
野 幌 (牧 草 地) Nopporo (Pasture land)	+	—	—	+	—	—
洞 爺 湖 Lake Doya	—	—	—	—	—	+

+ : ある Present — : ない Absent

Table 3. エゾヤチネズミ個体群における
Frequency of the 20 serum esterase bands

個 体 群 Populations	個 体 数 Numbers	Es-1	Es-2	Es-3	Es-4	Es-5	Es-6	Es-7
野 幌 (トドマツ天然林) Nopporo (Natural Todo-fir forest)	32	(%) 88.5	(%) 19.2	(%)	(%) 26.9	(%) 11.5	(%) 76.9	(%) 19.2
野 幌 (牧草地) Nopporo (Pasture land)	8	75.0	12.5		50.0		100.0	12.5
野 幌 (泥炭地草原) Nopporo (Grassland of peat moor)	19	100.0	27.8		38.9	22.2	94.4	22.2
天 塩 Teshio	18	88.9	16.7		22.2	38.9	88.9	5.6
江 別 Ebetsu	12	83.3	16.7	33.3	41.7	25.0	91.7	25.0
長 沼 Naganuma	8	75.0			75.0	37.5	75.0	37.5
大 黒 島 Daikoku island	23	95.7	39.1		60.9	13.0	95.7	21.7
飼 育 室 Laboratory	17	100.0	23.5		5.9		88.2	5.9
洞 爺 湖 Lake Doya	11	100.0			36.4		100.0	

5. 阻害剤に対する反応

阻害剤に対する血清エステラーゼ活性帯の反応は、Table 4 に示すとおりである。野幌牧草地個体群をのぞく 8 個体群のなかで、代表的なパターンを示した雄を選びだして、阻害剤に対する反応試験を行なったが、その結果、Eserin をのぞく、ほかの 2 つの阻害剤—PCMB と EDTA による活性帯の阻害は、まったく認められなかった。ただ、EDTA を使用したときは、対照に比べて活性帯の発色が、全体として

可変活性帯

in the vole populations, *Clethrionomys rufocanus bedfordiae*

Es-11	Es-13	Es-17	Es-19	Es-20	消失した可変活性帯の数 Number of variable bands that disappeared from the 20 esterase bands in the vole
+	+	+	+	—	2
+	—	—	+	—	3
—	—	—	+	+	4
+	—	—	+	—	4
+	—	—	+	—	4
+	—	+	+	—	5
+	+	—	+	—	6
—	—	—	+	—	8
+	+	—	—	—	8

血清エステラーゼ活性帯の頻度

in the vole population, *Clethrionomys rufocanus bedfordiae*

Es-8	Es-9	Es-10	Es-11	Es-12	Es-13	Es-14	Es-15	Es-16	Es-17	Es-18	Es-19	Es-20
(%) 3.8	(%) 92.3	(%) 26.9	(%) 7.7	(%) 65.4	(%) 7.7	(%) 76.9	(%) 65.4	(%) 69.2	(%) 15.4	(%) 88.5	(%) 30.8	(%)
	62.5			50.0		62.5	75.0	75.0		75.0	50.0	
5.6	100.0	22.2		55.6		83.3	72.0	66.7		88.9	27.8	5.6
5.6	77.8	16.7	5.6	33.3		94.4	50.0	72.2		94.4	61.1	
8.3	100.0	25.0	25.0	66.7		83.3	66.7	83.3		100.0	50.0	
	75.0		50.0	62.5	12.5	100.0	75.0	37.5		87.5	37.5	
30.4	100.0	21.7	8.7	56.5		91.3	26.1	78.3		100.0	91.3	
	100.0	11.8	17.6	64.7		94.1	94.1	29.4	23.5	76.5	11.8	
	100.0	45.5	9.1	81.8	9.1	72.2	36.4	90.9		81.8		

薄くなる傾向がみられた。

Eserin による阻害には個体差がみられるが、そのなかで Es-9 だけは個体差がなく、すべての個体で阻害されている。一方、Long Evans rat に対する Eserin の阻害が Es-5 であったことから考えると、Eserin によって阻害される活性帯の電気泳動的易動度は、ネズミの種によってかならずしも一定しないことが確認された。

Table 4. 阻害剤 10^{-5} M-Eserin に対する血清エステラーゼ活性帯の反応
 Reaction of the esterase bands in the vole to the 10^{-5} M-Eserin inhibitor

個 体 群 Populations	区 分 Classi- fication	Es -1	Es -4	Es -5	Es -6	Es -9	Es -10	Es -11	Es -12	Es -14	Es -15	Es -16	Es -18	Es -19
洞 爺 湖 Lake Doya	対 照 Control	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Eserin	+			+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
大 黒 島 Daikoku island	対 照 Control	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
	Eserin	+		+	+	-	-		+	+	+	+	+	+
飼 育 室 Laboratory	対 照 Control	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Eserin	+			+	-	-	-	-	+	+	+	-	
天 塩 Teshio	対 照 Control	+			+	+				+		+	+	+
	Eserin	+			+	-				+		+	+	+
野幌 (トドマツ天然林) Nopporo (Natural Todo-fir forest)	対 照 Control	+		+	+	+			+	+	+	+	+	+
	Eserin	+		+	+	-			-	+	+	+	+	+
野幌 (泥炭地草原) Nopporo (Grassland of peat moor)	対 照 Control	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
	Eserin	+	+	+	+	-	+		+	+	+	+	+	+
江別 (石狩川河岸) Ebetsu	対 照 Control	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+
	Eserin	+	+	+	+	-		+	+	+	+	+	+	+
長沼 (水田の畔) Naganuma	対 照 Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+
	Eserin	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+		+	+

+ : ある Present - : ない Absent

6. 考 察

エゾヤチネズミの血清エステラーゼは、 α -naphthyl acetate を基質にして、20本の活性帯を分離検出することができたが、これらの活性帯の酵素化学的性質を明らかにすることが必要である。現在、エステラーゼは arylesterase, aliesterase, そして cholinesterase の3つに便宜上区分されているが¹⁸⁾、電気泳動的易動度の違いに注目して、これら3つのエステラーゼの特長を示すと、つぎのようになる。すなわち、易動度のもっとも早いものを arylesterase (アルブミンと一緒に動く)、中間的なものを aliesterase (α -グロブリンと一緒に動く)、もっともおそいものを cholinesterase (α - β -グロブリンと一緒に動く)としている。

また、阻害剤に対する抵抗性によっても、それぞれのエステラーゼを特長づけることができる。aliesterase は Eserin と EDTA に対して抵抗性を示すが、cholinesterase は Eserin に対して、arylesterase は EDTA に対して、それぞれ完全に阻害されることがわかっている。

エゾヤチネズミの血清エステラーゼに対する 10^{-6} M-Eserin の阻害には、個体差がみられた。すなわち、活性帯 Es-9 はすべての実験個体が阻害されたが、Es-10 は5頭中4頭 (80%)、Es-11 は4頭中1頭 (25%)、Es-12 は7頭中2頭 (29%)、Es-18 は8頭中1頭 (13%) が、それぞれ阻害された。

Eserin で阻害される活性帯は cholinesterase と考えられているので、エゾヤチネズミのこれらの個体差は、電気泳動的易動度の違う cholinesterase をあらわしていることになる。cholinesterase の易動度は、もっともおそいところにあるとされているが、エゾヤチネズミでは Es-9 のところに cholinesterase があるとする、易動度のうえではむしろ中間的なところにある。実験個体8頭中1頭だけが Es-18 に cholinesterase と考えられる活性帯をもっているが、これはもっともおそい易動度の活性帯である。

一方、この研究の対照につかわれた Long Evans rat の cholinesterase は、易動度のもっともおそい活性帯 Es-5 にあり、エゾヤチネズミと比べて、まったく違った易動度を示していることから、cholinesterase の易動度は種によって変化することが明らかになった。

RUSSELL と SEMEONOFF²¹⁾ は、*Microtus agrestis* の血清エステラーゼを澱粉ゲル電気泳動法で分離検出し、15本の活性帯を認めている。そしてかれらは、これらの活性帯のなかから、2つの遺伝子座によって支配される9つの遺伝子型の遺伝様式を、飼育条件での交配実験で明らかにしたが、これらの遺伝子型の生理的、生態的意味づけは行なわなかった。

しかし、SEMEONOFF と ROBERTSON²²⁾ の研究は、さきの RUSSELL と SEMEONOFF の研究をさらに発展させたものであると考えられる。すなわち、かれらは血清エステラーゼの多型をもとに、*Microtus agrestis* の自然個体群の質的構成を遺伝子型で分析し、それを個体数の変動と結びつけることによって、高密度のときに有利にはたらくと考えられる遺伝子型を摘出した。しかし、この遺伝子型と自然淘汰との関係は、完全に実証されたものでなく、まだ仮説的段階のものであるが、個体群の変動機構の研究に、新しい概念を導入したことが注目される。

最近、畜産の分野で血清エステラーゼの多型の遺伝的、生理的調節機構を明らかにし、それを畜産の育種に応用しようとする試みがなされているが^(10/11/12/13/14/15/16)、これらの研究をエゾヤチネズミに適用することによって、個体群の遺伝的変異を明らかにし、遺伝子型と自然淘汰の関係を具体的に分析することが可能になると考えられる。

これまでのエゾヤチネズミ個体群の変動についての研究では、漸進的大発生説をかかげて、春仔と秋仔の成長と繁殖の仕方の問題や、あるいは齢構成とその機能の問題などで個体群の質的構成の変化と、個体数の変動との関係を追究してきたが、個体群の質的構成を遺伝子型で区分し、遺伝子型と自然淘汰との関係から個体数の変動を予測する試みは、まったく新しいことである。

エゾヤチネズミ個体群における血清エステラーゼ・パターンでは、天塩と大黒島が同じであったほかは、すべて違っていた。このことは、おおくの個体群の遺伝組成に違いがあることを示すものである。天塩と大黒島のパターンが、なぜ同じなのかは、これだけの調査ではなにもいえない。もっと、多くの個体群のパターンを調べることが必要であるが、そのとき、可変活性帯のパターンが問題になるだろう。

野幌トドマツ天然林個体群と、数年まえに、そこから採集した飼育室個体群とのパターンを比較すると、3つの可変活性帯——Es-5, Es-8, Es-13 が飼育室個体群から消失しているので、ここ数年間の飼育という生活条件の変化によって、遺伝組成に違いが生じたものと考えられそうであるが、しかし、野幌トドマツ天然林個体群では、もともとこの3つの可変活性帯の頻度がひじょうに低く (Table 3)、そのため、

これらの可変活性帯をもたない個体で、群がつくられた可能性も十分に考えられるので、3つの可変活性帯の消失に生活条件が影響したといいきれない問題がある。

エゾヤチネズミの発生予察は、さまざまな個体群の変動を予測することであるが、今回調べた9個体群の多くは遺伝組成に違いがあることが認められた。このような遺伝組成の違いが、どんな機構でつくられるのかを研究しなければ、エゾヤチネズミの発生予察をより有効に行なうことができないものと考えられる。

7. 要 約

エゾヤチネズミの血清エステラーゼは、澱粉ゲル電気泳動法で分離検出されたが、エステラーゼの電気泳動像は、易動度の違う活性帯を検出するため、組織化学的染色法によって示された。

電気泳動に使用したエゾヤチネズミの血清は、生活条件のちがう9個体群から採取した148標本であった。

エゾヤチネズミにおけるエステラーゼの電気泳動像は、個体によってひじょうに大きな変異を示すが、Long Evans rat と比較するため、すべての個体の泳動像をまとめて模式図化すると、Fig. 1 のようになった。易動度の早い順に番号をつけると、エゾヤチネズミでは陽極側に20番までの、Long Evans rat では5番までのエステラーゼ活性帯が検出されたが、陰極側には両種とも活性帯が検出できなかった。

エゾヤチネズミにおける20番までのエステラーゼ活性帯は、2つのグループに分けることができる。すなわち、ひとつのグループはEs-2, Es-3, Es-5, Es-7, Es-8, Es-10, Es-11, Es-13, Es-17, Es-19, Es-20の11本の活性帯で構成されるが、これらの活性帯は、個体あるいは個体群のあいだで、大きく変動するものと考えられる。また、ほかのグループはEs-1, Es-4, Es-6, Es-9, Es-12, Es-14, Es-15, Es-16, Es-18の9本の活性帯で構成されるが、エゾヤチネズミの活性帯パターンが、つねにこの9本の活性帯を基本にして構成されていることから、これらの活性帯はエゾヤチネズミの種にとって、欠くことのできない活性帯であると考えられる。

9個体群の活性帯パターンは、大黒島と天塩がまったく同じパターンであったが、ほかの個体群のあいだではすべて違ったパターンになっている。

阻害剤として 10^{-5} M-Eserin, 10^{-3} M-PCMB, 10^{-3} M-EDTA を使用したところ、Eserin で明確な阻害が認められたが、ほかの2つの阻害剤では、明確な阻害が認められなかった。Eserin によって阻害された活性帯は、Long Evans rat とエゾヤチネズミでは、明らかにちがっていた。Long Evans rat ではEs-5 が阻害されたが、エゾヤチネズミでは個体によって阻害される活性帯に違いがみられたが、すべての個体に共通して阻害された活性帯は、Es-9 であった。

文 献

- 1) GAINES, M. S. and C. J. KREBS: Genetic changes in fluctuating vole populations. *Evolution*, 25, 702~723, (1971)
- 2) 藤巻裕蔵: 天然林におけるネズミ類の生息密度と個体群構成の変動, 北海道林試報, 7, 62~77, (1969)
- 3) KREBS, C. J., M. S. GAINES, B. L. KELLER, J. H. MYERS and R. H. TAMARIN: Population cycle in small rodents. Demographic and genetics events are closely coupled in fluctuating populations of field mice. *Science*, 179, 35~41, (1973)

- 4) 桑畑 勤: エゾヤチネズミ個体群の変動に関する研究 (I) 漸進的大発生の一過程の分析, 林試研報, 143, 15~38, (1962)
- 5) —————: エゾヤチネズミ個体群の変動に関する研究 (II) 繁殖活動について, 林試北支年報 1965年度, 210~236, (1966)
- 6) —————: エゾヤチネズミの飼育実験装置について, 森林防疫ニュース, 17, 8, 137~143, (1968)
- 7) —————: エゾヤチネズミの発生予察について, 林試北支年報 1970年度, 119~139, (1971)
- 8) KUWAHATA, T.: On the breeding of cage reared red-backed vole, *Clethrionomys rufocanus bedfordiae* (THOMAS). 1971年国際実験動物アジア太平洋会議で発表, (印刷中)
- 9) 前田 満: エゾヤチネズミの黒変種 ——その遺伝学と生態学のあいだ——, 銀葉, 110, 1~13, (1970)
- 10) 万田正治・大木与志雄: 血清エステラーゼの多型現象とその育種学的研究 I マウスおよびラットにおける血清エステラーゼの電気泳動像について, 日畜会報, 40, 9, 363~369, (1969)
- 11) —————・猪 貴義・西田周作: 血清エステラーゼの多型現象とその育種学的研究 II マウスにおける血清エステラーゼの電気泳動像の系統的差異, 日畜会報, 41, 2, 80~87, (1970)
- 12) —————・西田周作: 血清エステラーゼの多型現象とその育種学的研究 III ラットにおける血清エステラーゼの電気泳動像の系統的差異, 日畜会報, 41, 5, 250~253, (1970)
- 13) —————・大木与志雄・西田周作: 血清エステラーゼの多型現象とその育種学的研究 IV マウスおよびラットにおける血清 cholinesterase isozymes の生理的変動とその性ホルモン支配, 日畜会報, 42, 9, 442~450, (1971)
- 14) —————・西田周作: 血清エステラーゼの多型現象とその育種学的研究 V マウス血清 Aliesterase, A₄ zone (Es-10) の生理的変動, 日畜会報, 42, 10, 509~512, (1971)
- 15) —————・大木与志雄・西田周作: 血清エステラーゼの多型現象とその育種学的研究 VI マウス cholinesterase, C₃ zone (Es-9) の遺伝的支配, 日畜会報, 43, 1, 11~15, (1972)
- 16) —————・—————・—————: 血清エステラーゼの多型現象とその育種学的研究 VII マウスにおける血清 Aliesterase, A₄ zone (Es-10) の遺伝的支配, 日畜会報, 43, 1, 16~19, (1972)
- 17) MORIWAKI, K., K. TSUCHIYA, and T. H. YOSHIDA: Genetic polymorphism in the serum transferrin of *Rattus rattus*. Genetics, 63 1, 193~199, (1969)
- 18) 守屋 寛・吉田光孝・藤本幸男 共訳: イソ酵素——アイソザイム——, 丸善, 東京, (1969)
- 19) 太田嘉四夫: 野鼠の発生予察のために, 北方林業, 139, 327~330, (1960)
- 20) PETRAS, M. L. and F. G. BIDDLE: Serum esterases in the house mouse, *Mus musculus*. Can. J. Genet. Cytol., 9, 704~710, (1967)
- 21) RUSSELL, M. A. and R. SEMEONOFF: A serum esterase variation in *Microtus agrestis*. Genet. Res., 10, 135~142, (1967)
- 22) SEMEONOFF, R. and F. W. ROBERTSON: A biochemical and ecological study of plasma esterase polymorphism in natural populations of the field vole, *Microtus agrestis* L. Biochemical Genet., 1, 205~227, (1968)
- 23) —————・—————: Esterase polymorphisms in *Microtus ochrogaster*; Interaction and linkage. Biochemical Genet., 6, 125~138, (1971)
- 24) 上田明一・ほか9名: エゾヤチネズミ研究史, 林試研報, 191, 1~100, (1966)

**Studies on Population Fluctuation of the Red-backed
Vole, *Clethrionomys rufocanus bedfordiae* (THOMAS) (III)**

**Zymograms of serum esterase in the red-backed
vole separated by starch-gel electrophoresis**

Tsutomu KUWAHATA⁽¹⁾ and Kazuo MORIWAKI⁽²⁾

Summary

Serum esterases of the red-backed vole (*Clethrionomys rufocanus bedfordiae*) were separated by starch-gel electrophoresis (For technical details, see MORIWAKI *et al.*, Genetics 63: 193, 1969) and isozyme bands were demonstrated by a histochemical method employing α -naphthyl acetate as a substrate.

Sera used in the present study were taken from 148 voles collected from 9 populations which differed in habitat. The esterase zymograms showed different electrophoretic patterns among the individuals; these are summarized schematically in Fig. 1. Throughout this experiment, the serum of inbred Long Evans rat (*Rattus norvegicus*) has been used as a standard.

When the esterase bands were numbered in turn from the fastest, 20 bands in the vole and 5 in the rat were identified on the anodal side (Fig. 1). No esterase bands were observed on the cathodal side. The 20 esterases in the vole can be divided into 2 groups; one consists of 11 bands, Es-2, Es-3, Es-5, Es-7, Es-8, Es-10, Es-11, Es-13, Es-17, Es-19 and Es-20, which are rather variable among the individuals and the populations, and the other consists of 9 bands, Es-1, Es-4, Es-6, Es-9, Es-12, Es-14, Es-15, Es-16 and Es-18, which are considered to be indispensable to the vole, because the esterase patterns in this animal seem always to be constructed on the basis of these 9 bands.

A comparison of the esterase patterns of the 9 populations from Hokkaido showed that the Daikoku island and Teshio populations had exactly the same patterns, but that the rest of them had obviously different patterns.

When 10^{-5} M eserine, 10^{-3} M PCMB (*p*-chloromercuribenzoic acid) and 10^{-3} M EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid) were used as inhibitors to facilitate the grouping of the esterases, eserine clearly inhibited specific bands, whereas PCMB and EDTA showed no effect. Esterases inhibited by eserine were Es-5 in the Long Evans rat and Es-9 in the vole; these are both considered to be cholinesterase.

Received August 6, 1973

(1) Hokkaido Branch of Government Forest Experiment Station

(2) Head of the Laboratory, Department of Cytogenetics, National Institute of Genetics, Mishima Shizuoka-ken, Japan.