

## 家蚕中腸の耐熱性エステラーゼに関する遺伝学的研究

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	劉, 治国 小林, 正彦 吉武, 成美
巻/号	53巻5号
掲載ページ	p. 432-435
発行年月	1984年10月

## 家蚕中腸の耐熱性エステラーゼ に関する遺伝学的研究

劉 治国\*・小林正彦・吉武成美

東京都文京区・東京大学農学部 (〒 113)

(1984年5月8日 受領)

ZHI-GUO LIU, MASAHICO KOBAYASHI and NARUMI YOSHITAKE : Genetical studies  
on the heat-stable esterase in the mid-gut of the silkworm, *Bombyx mori*

寒天ゲル電気泳動法により、家蚕中腸の耐熱性エステラーゼの活性における品種間差異とその遺伝様式について調べた。その結果、家蚕中腸のエステラーゼの活性帯は Aes<sub>1</sub>~Aes<sub>8</sub> までの8種が分離され、Aes<sub>2</sub>, Aes<sub>4</sub>, Aes<sub>5</sub> はそれぞれ複数の成分に分けられた。エステラーゼの耐熱性については、総活性でみた場合にも品種差異がみられたが、各活性帯についても、Aes<sub>5</sub> が熱に対し最も安定で、次いで Aes<sub>1</sub> であり、他は 60°C、15分の熱処理で殆んど失活した。Aes<sub>5</sub> は、活性が強く易動度の大きいF型、活性が比較的強く易動性の遅いS型、及び活性が弱いO型に分けられた。これら三つの型を交雑し、F<sub>1</sub> および F<sub>2</sub> における活性の発現を調べたところ、Aes<sub>5</sub> の活性はF,Sが共優性的に発現し、F<sub>2</sub> ではF型またはS型とO型、あるいはF型、FS型及びS型がほぼ理論比通り分離した。これらの三つの活性型は同一座位に存在する複対立遺伝子 Aes<sub>5</sub>-F, Aes<sub>5</sub>-S および Aes<sub>5</sub>-O によって支配されていることが明らかとなった。

カイコの系統間あるいは地理的品種間における種々のアイソザイムの活性差異並びに遺伝様式を調べることは、カイコの系統発生の研究上重要な意義がある。すでに多くのアイソザイムについてこの種の研究が行われている。これら一連の研究の初期において、吉武(1963)はカイコの中腸のエステラーゼが品種によって異なること、異なった中腸エステラーゼ活性帯を示す品種間の F<sub>1</sub> の活性帯は、両親の型が混在していることを明らかにしている。

中腸のエステラーゼ活性帯はその数が非常に多く、それらの易動度は電気泳動の諸条件の影響を受けやすい。従って、各々の活性帯の遺伝的支配様式を検討するには難点が多く、中腸エステラーゼアイソザイムについては遺伝的研究がほとんど行われていない。

本研究は、電気泳動後一定の熱処理を行うことによって、耐熱性エステラーゼのみを残すといった方法で中腸エステラーゼの分別を行い、その遺伝的支

配様式を検討した。さらに、これらの遺伝子の地理的品種間における出現頻度の差異を調査したのでその大要について報告する。

本研究を行うに際して、種々ご助言を頂いた東京大学農学部養蚕学研究室永田昌男博士、成洙一博士に深謝する。また、貴重な研究材料を提供された農林水産省蚕糸試験場蚕育種部蚕品種保存研究室(小沢)の山本俊雄室長に厚くお礼申上げる次第である。

### 材料と方法

供試材料：供試したカイコの品種は、蚕糸試験場蚕育種部蚕品種保存研究室保存の80種、東大農学部養蚕学研究室保存の5種並びにこれら交雑種 F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> である。主として、5齢2~3日の中腸組織全体を用いた。原則として1系統あたり5個体、また F<sub>2</sub> では20個体を個体別に調査した。

電気泳動：電気泳動は寒天ゲルによって、吉武(1963)に準じて行った。すなわち、基質としては 0.02% β-naphthyl acetate を、指示薬としては

\* 現在 中国・瀋陽農学院

0.5% fast blue B salt を用いた。泳動用の緩衝液はペロナール緩衝液(pH 8.7, イオン強度0.05)で、150 V の定電圧で約 90 分間泳動を行った。

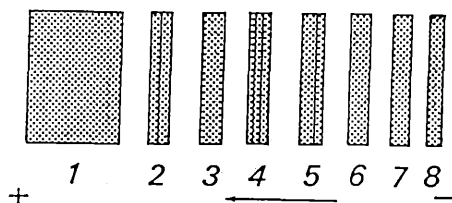
熱処理：密閉された容器の中で、泳動の終了したゲルプレートに 45°C~60°C に加熱して行った。

### 結果と考察

#### 1. 中腸エステラーゼバンドの耐熱性

中腸組織の磨砕物を電気泳動すると、一般に Aes<sub>1</sub> ~ Aes<sub>8</sub> までの 8 本のバンドが検出され、Aes<sub>2</sub>, Aes<sub>4</sub>, Aes<sub>5</sub> はそれぞれ複数の成分に分けられた(第 1 図)。これら中腸エステラーゼバンドの耐熱性を調べるために、泳動前および泳動後に 45, 50, 55, 60 および 65°C で、それぞれ 5~40 分熱処理を行った。その結果、泳動前の熱処理では、ある種の物質の保護作用によって泳動後の処理よりも耐熱性が高く、個々のバンドの耐熱性を知るためには、泳動後の処理の方がよいことがわかった。耐熱性各バンドをみると、45°C 15~30 分間処理では対照区(24°C 30 分間)とほとんど差異がみられず、50~55°C で 15~30 分間では Aes<sub>4</sub>, Aes<sub>6</sub>, Aes<sub>7</sub> および Aes<sub>8</sub> の活性は顕著に低下した。さらに、60°C 15 分間処理では Aes<sub>2</sub> および Aes<sub>3</sub> も明らかに活性が低下した。また、Aes<sub>1</sub> の活性は若干変化し、Aes<sub>5</sub> の活性はほとんど変化しないことが明らかになった。すなわち、第 1 表に示したように、中腸エステラーゼバンドにおいて、最も耐熱性が高いのは Aes<sub>5</sub> で、つぎが Aes<sub>1</sub> であり、他のバンドはその程度はやや異なるが、熱に対して不安定であることがわかった。

Wroblewski (1962) によれば、ヒト血清乳酸脱水素酵素(LDH)において、LDH<sub>1</sub> は 55°C 20 分間処理では影響を受けないが、LDH<sub>5</sub> は 53°C 6 分間で完全に失活する。この耐熱性の相違を利用して、心臓、腎臓に由来する LDH<sub>1</sub>, LDH<sub>2</sub> と肝臓、骨格



第 1 図 中腸におけるエステラーゼ泳動帯の模式図

第 1 表 カイコにおける中腸エステラーゼの耐熱性

バンド	1	2	3	4	5	6	7	8
処理								
対照 (24°C)	+	+	+	+	+	+	+	+
45°C	+	+	+	+	+	+	+	+
50°C	+	±	+	±	+	±	±	±
55°C	+	±	±	±	+	±	±	±
60°C	+	±	±	-	+	-	-	-

1) 熱処理時間は15-30分間である。

2) +はバンドがあるもの、±はバンドがほとんど認められないもの、-はバンドがないものを示す。

第 2 表 カイコにおける中腸エステラーゼ Aes<sub>5</sub> の活性型の出現率 (%)

	活性強早型 (F)	活性強遅型 (S)	活性弱型 (O)	合計
日本種	11.5 (3)	0 (0)	88.5 (23)	100 (26)
中国種	21.9 (9)	9.8 (4)	68.3 (28)	100 (41)
南方種	(0)	(1)	(5)	(6)
欧州種	(1)	(0)	(0)	(1)
その他朝鮮品種	(0)	(1)	(2)	(3)
中欧 中日欧 (固定種)	(2)	(0)	(1)	(3)
三眠性	43.8 (7)	12.5 (2)	43.8 (7)	100 (16)
四眠性	13.6 (8)	6.7 (4)	79.7 (47)	100 (59)

数字は同一地理的品種あるいは同一眠性内の活性型の出現頻度を、( ) 内は品種数を示す。

筋に由来する LDH<sub>4</sub>, LDH<sub>5</sub> の相対的比率を知ることができる」と述べている。カイコの中腸エステラーゼバンドが耐熱性によっていくつかの群に分けられたことは、それらのバンドが構造的にあるいは生理的に機能が異なるものであることを示しているものと思われる。

#### 2. 中腸耐熱性エステラーゼバンド Aes<sub>5</sub> の品種間変異

前項で述べたように、中腸エステラーゼは Aes<sub>1</sub> から Aes<sub>8</sub> まで 8 種のバンドとして検出されるが、これらの中で最も耐熱性が高いのは Aes<sub>5</sub> である。そこで、種々の地理的品種に属する 80 品種を用いて Aes<sub>5</sub> バンドの変異性について検討した。

その結果、易動性の遅速並びに 60°C 15 分の熱処

第3表 カイコにおける中腸エステラーゼ Aes<sub>5</sub> の F, S, O 型に属する系統名

品 種 類 型	日 本 種	中 国 種	眠 性 品 種 等
F 型	赤 蚕 鬼 縮	瘤 蚕 湖 北	三 光 旭 光
	玉無飛白	秀 黄 漢 口 赭 蘭 余 杭 新 昌 長	四 川 三 眠 濟 南 四 川 金 黄 欧 7 号 朝 陽
S 型		大 造 緋 紅 アモイモリコード	輪 月 高 麗 3 眠 山 東 三 眠
O 型	青 熟 赤 熟	改 じ ょ う 新 昌 長	三 眠 白 五 眠 白
	日 本 錦 金 光 珠	特 意 新 漢 黄	韓 三 眠 鮮 3 号
	金 色 国 一	棲 め い 漢 川	九 大 五 眠 五 眠 黒 色 蚕
	小 石 丸 古 金	金 黄 南 湖	め ん 陽 朝 五 蚕 一 号
	相 摸 桜 姫	黒 蚕 碧 蓮	長 城 VC 1
	青 白 天 竜 青 白	錫 元 蓮 心	OK39 NS
	大 如 来 只 見 蚕	諸 桂 紹 興	ア ン ナ ン
	伊 達 錦 中 巢 乙	大 安 橋 大 円 頭*	ピ ュ ア マ イ ソ ール
	又 昔 紫 金	浙 江 諸 夏	マ イ ソ ール
	栗 国 蚕* 大 草	烏 竜	カ ン ボ ウ ジ ュ
	黒 子 種 ケ 島		カ ン ボ ウ ジ ュ ( 固 定 )
琉 球 多 蚕 繭			
合 計	26 系 統	27 系 統	27 系 統

1) 第5バンドが殆んど不明瞭なものをO型とし、明瞭なものは易動度の大きいものをF型、小さいものをS型とした。

2) \*はやや不明瞭な場合を示す。

理後の活性の強弱によって三つの型に分けられることがわかった。すなわち、活性が強く易動性の速いF型、活性が強く易動性の遅いS型、および活性が極めて弱いO型である。供試した80品種におけるこれら活性型の出現頻度は、第2表に示したように、それぞれ20%、7.5%および72.5%であった。

一方、地理的品種間における3種の活性型の出現頻度を比較すると、第2表および第3表に示したように、耐熱性を示すAes<sub>5</sub>のF型は日本種より中国種の方が多いのに対して、耐熱性の低いO型の出現頻度は日本種の方が中国種より高いことがわかった。また、三眠性品種においては、活性強型と活性弱型の品種の数がほぼ同一で、他の地理的品種よりも耐熱性を示す活性強型の出現頻度が高い傾向がみられた。

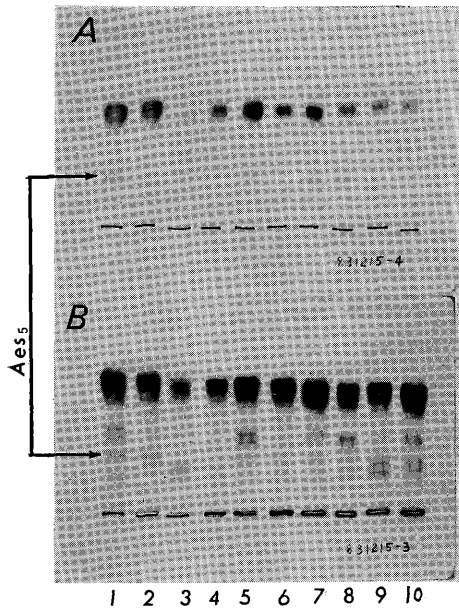
吉武(1968)は地理的蚕品種の分化の問題に関連して、中国種が最も多型化していることを指摘した

が、Aes<sub>5</sub>バンドの変異型においても中国種が他の地理的品種よりも多型化していることが認められた。

### 3. 中腸エステラーゼ Aes<sub>5</sub> の遺伝学的解析

供試した80品種からAes<sub>5</sub>バンドの活性型に関して代表的な赤蚕、青熟、古金、金色(以上日本種)、瘤蚕、新昌長、大造、改じょう(以上中国種)の8品種を用いて、これら相互間の種々の交雑をつくり、F<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>についてAes<sub>5</sub>バンドの活性型を調査した。

その結果、第2図および第3図に示したように、Aes<sub>5</sub>-F×Aes<sub>5</sub>-OおよびAes<sub>5</sub>-F×Aes<sub>5</sub>-Sなどにおいて、F<sub>1</sub>ではFとSが共優性を示し、F<sub>2</sub>ではほぼ3:1に分離する場合と易動度の大きいものと小さいものおよび両者ともみられるものが分離する場合があった。これら三つの活性型は同一座位に存在する複対立遺伝子Aes<sub>5</sub>-F、Aes<sub>5</sub>-SおよびAes<sub>5</sub>-Oに



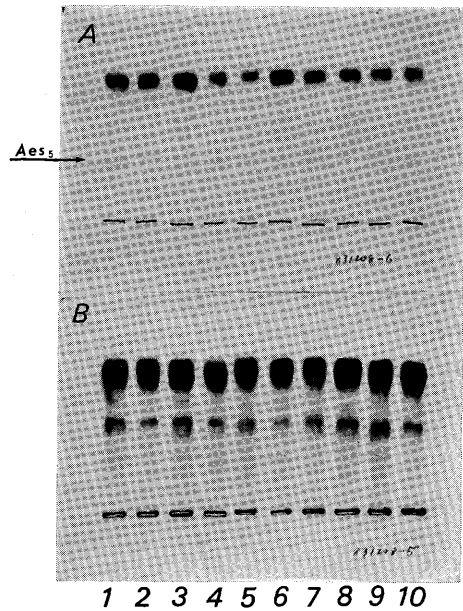
第2図 日本種間の交雑 F<sub>1</sub> における耐熱性 Aes<sub>5</sub> の活性型

A : 60°C, 15分間で熱処理 B : 対照

1. 赤蚕 2. 青熟 3. 古金 4. 金色
5. 青熟×赤蚕 6. 古金×金色 7. 赤蚕×古金
8. 金色×赤蚕 9. 古金×青熟 10. 金色×青熟

よって支配されていることが明らかとなった。

Markert (1963) によって、基質特異性は同じであるが、分子構造が異なるものはアイソザイムと定義されているが、一般にアイソザイム間ではその一次構造において比較的少数のアミノ酸の差異のみが存在するとされている。Aes<sub>5</sub> バンドにおいても同様のことがいえるとすると、ごく僅かなアミノ酸の差異によって、耐熱性が異なるということは興味ある問題である。



第3図 大造(S/S)×繭蚕(F/O)F<sub>2</sub>における Aes<sub>5</sub> の活性型の分離

A : 60°C, 15分間で熱処理 B : 対照 (無処理)

## 文 献

吉武成美 (1963) : 日蚕雑, 32, 285-291.

吉武成美 (1969) : 遺伝, 23, 10-14.

WROBLEWSKI, F. (1962) : "Diagnostic dissection by isoenzymes, Enzymes in clinical chemistry" p.385. Butter-Worths, London.

MARKERT, C. C. (1963) : "Cytodifferentiation and Macromolecular Synthesis", pp. 65-84, Academic Press, New York and London.