— Note —

Survey of Marker Genes in the 9 Rat Strains

Michiru MIZUNO* and Kiyoshi SUZUKI**

* Shizuoka Laboratory Animal Agricultural Cooperative
Association, Koike-cho, 1616, Hamamatsu, 435, and

** Institute of Medical Science, Tokyo University,
Shirogane-dai, 4-6-2, Tokyo, 108.

(Received for publication : Aug. 22, 1977)

In total of 17 genetic traits of the 9 strains of rats, *Rattus norvegicus*, examined, 9 loci showed polymorphic, being *a*, *c*, *d*, *h*, *Es-1*, *Es-2*, *Es-3*, *Amy-1* and sex-influenced esterase (*d*-allele is not identified [12]). These genetic markers are not only useful as linkage markers but also available for inspection of proper maintenance of inbred rat strains.

9 系統ラットにおける標識遺伝子の検索

水野 充*・鈴木 潔**

* 静岡県実験動物農業協同組合

** 東京大学医科学研究所実験動物研究施設

近交系マウス・ラットの遺伝的斉一性および各系統間の遺伝的差異を認識するためには、毛色遺伝子や形態的な形質を支配する遺伝子の把握、系統内あるいは系統間皮膚移植や各系統の量的・質的形質の調査などの方法が掲げられる。我々は既に近交系マウスの遺伝的斉一性の問題について、特に電気泳動法を用いて検出される生化学的形質を支配する遺伝子(以下生化学的遺伝子と略記)を標識として利用し、これらを適用することの長所とその重要性を示唆してきた [5,7]。今回我々は9系統のラットについて、毛色および生化学的遺伝子の検索を行い、得られた知見と共にその結果を報告する。

〔調査した系統および遺伝子座位〕

使用した系統ラットは、国立遺伝学研究所より購入した ACI/N, Baffalo, Fischer 344, Long Evans, Wistar King-A の5系統、和歌山県立医科大学より譲渡された Tester Moriyama, および東京大学医科学研究所で維持されている LEW, JAR, Sprague Da-

wley の3系統、合計9系統である。これらの系統の由来や世代数は『実験動物の系統維持・開発とその発がん特性』研究班で維持しているがん研究用実験動物(昭和51年度, 研究代表者川俣順一)に詳しい。

有色ラットについては、その毛色によって *a*, *b*, *c*, *d*, *h*, の各座位の遺伝子型を推定し、アルビノラットについては、Tester Moriyama (毛色遺伝子 *aaBBCCdd-hh*, 但しこの *d* 遺伝子については未確認 [12]) と交配することにより、*a*, *d*, *h* の各毛色座位を調査した。

生化学的変異については系統間に変異のあることが知られている血清 esterase-1 (遺伝子座位記号 *Es-1*, 以下同様) [1], 血清 esterase-2 (*Es-2*) [4, 8], 小腸 esterase (*Es-3*) [9], 腎臓 esterase (*Es-4*) [10] および sex-influenced esterase [4] の各座位について調査した。更に唾液および膵臓 amylase, 肝臓 isocitrate dehydrogenase (IDH), 腎臓 glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), 腎臓 lactate de-

Table 1. Methods for Detection of Biochemical Traits

Protein	Buffer system	Substate	Coenzyme	Dye
esterases	Tris-EDTA-Borate (pH 8.6)	β-naphtylacetate	—	Fast Blue BB Salt
amylases	Veronal-Na. veronal (pH 8.6)	α-starch	—	I ₂ -KI
IDH	Tris-Citrate (pH 7.0)	Na ₃ . isocitrate	NADP	NBT **, PMS **
G6PDH	Tris-EDTA-Borate (pH 8.6)	Na ₂ . glucose-6- phosphate	NADP	NBT **, PMS **
LDH	Tris-EDTA-Borate (pH 8.6)	Na. lactate	NAD	NBT *, PMS **
catalase	Borate-NaOH/Tris-Citrate	H ₂ O ₂	—	FeCl ₃ -K ₃ Fe (CN) ₆
albumin	Na. acetate-EDTA (pH 5.4)	—	—	Amido Black 10 B
transferrin	Borate-NaOH/Tris-Citrate	—	—	Amido Black 10 B

* Nitro Blue Tetrazolium
** Phenazine Methosulfate

Table 2. The Distributions of Alleles at 5 Coat Colour Genes and Several Biochemical Variants in the 9 Strains of Rats

Strain	Generations of full-sib mating	Coat Colour **	Biochemical variants **					
			1	2	3	4	5	6
ACI/N	F 74+32	AABBCCDDh ^h l ^l	b	a	a	b	b	+
Baffalo	F 69	cc	a	a	a	b	a	—
Fischer 344	F 111	cc	a	a	a	b	a	—
JAR	F 32	aa ccDDhh	a	a	a	b	a	—
LEW	F ? +19	aa ccDDhh	b	a	a	b	a	+
Long Evans	F ? +53	aa BBCCDDhh	b	a	a	b	a	+
Sprague Dawley	F 19	aa ccDDhh	b	d	c	b	b	+
Tester Moriyama	N9 + F1 +6 +3	aa BBCCdd*hh	b	a	c	b	b	+
Wistar King-A	F 148+54	cc	b	c	b	b	a	+

* *d*-allele is not determined [12].
** Marker genes and their linkage groups are, respectively :
a (LGIV), *b* (LGII), *c* (LGI), *d* (—), *h* (LGVI), 1 ; *Es-1* (LGV),
2 ; *Es-2* (LGV), 3 ; *Es-3* (LGV), 4 ; *Es-4* (LGV), 5 ; *Amy-1* (—),
and 6 ; sex-influenced esterase (LGV).

ydrogenase (LDH), 腎臓catalase の各酵素のアイソザイム, および albumin, transferrin の血清蛋白についても電気泳動的検索を行い, 系統間変異の有無を調査した。上記の種々の酵素・蛋白の泳動条件等を Table 1 に示す。

[調査結果および考察]

まず毛色・酵素および蛋白の変異についてみると, 今回の調査では新たに膵臓 amylase に系統間変異が見い出され (遺伝子座位記号 *Amy-1*, 仮称), 更に Sprague Dawley および Tester Moriyama に *Es-3* 座位の

新たな対立遺伝子 *Es-3^c* (仮称) が発見された [6]。従って全体としては *a*, *c*, *d*, *h*, *Es-1*, *Es-2*, *Es-3*, *Amy-1* および sex-influenced esterase の 9 座位に系統間変異が見られたことになる (Table 2)。又 *Es-4* 座位は全ての系統で *Es-4^b* 遺伝子に固定しており, 調査したその他の酵素・蛋白にも多型は見られなかった。

この様に本調査では系統間変異を示した酵素・蛋白の数は我々の予想以下であり, 既にマウスの系統間で多型の知られている G6PDH, IDH などの酵素にも変異が見られなかった。これらの原因としては, ひとつには調

査系統数が少ないことが考えられるけれども、ラットの由来がマウスのそれに比べ狭いこと、すなわち起源となった gene pool が小さいことにも原因するのであろう。一方、最近 Eriksson ら [2] は二地域の野生ラット集団などについて、調査した25の肝酵素を支配する座位のうち11座位に多型が見られたことを報告している。彼らは更に近交系である Fischer (F110) で2つ、ACI (F95) で3つの酵素を支配する座位がまだ分離していることを観察している。

次に系統間の差異をみると、調査した9系統のうち、ACI/N, Sprague Dawley, Tester Moriyama および Wistar King-A の4系統が特異的な遺伝子型のパターンを示したが、Baffalo, Fischer 344 と JAR, および LEW と Long Evans がそれぞれ同一のパターンを示した。なお調査時点では LEW, Sprague Dawley, Tester Moriyama の3系統がまだF20を越えてはいなかったが、これら3系統を含む全ての系統について、調査した毛色および生化学的遺伝子は各系統でそれぞれ固定しており、交雑ミスなどが起った可能性はないと考えられる。

ラットの近交系は現在亜系を含め100系統ほど報告されている[3]が、実際に維持されている系統は更に多いであろう。これらの系統を見てみると、Wistar を由来とする系統を始めとして同一 closed colony に由来する系統が多いが、同じ系統名の亜系を遺伝的に同一視して良いかどうかは現在問題となっている所である。更に系統そのものの由来が不明瞭なものや、標識遺伝子が記載されていない系統もあり、現在の系統ラットに関する遺伝的斉一性の問題や、系統同定の問題を複雑にしている。この原因としては、アルビノの系統が圧倒的に多いので外観からは交雑ミスなどの有無の判断が不可能なことが多く、又後代検定により毛色遺伝子を調査するにしても、西村が Tester Moriyama を、山田・中島[12]が abh, bhd の2系のテスター系統を作出するまで、優れたテスター系統が見あたらなかったことなどが考えられる。又ラット系統間に可視的な形質を支配する遺伝子がそれほど知られていないことにも起因しているのかも知れない。

各系統ラットの系統間の遺伝的差異を認識し、更に各系統の遺伝的チェックを行うために生化学的遺伝子を利用することは重要である。今回調査した毛色および生化学的標識遺伝子は少なくとも4染色体以上に位置しており[11]、遺伝的チェックの観点からはある程度の効果は期待できると考えられる。又これらの標識遺伝子は

linkage marker としても有用である。今後は検索すべき蛋白酵素ならびに調査系統数も増やしてゆく予定であるが、ラットの系統間にどの程度の遺伝的多様性が保たれているのかも興味ある問題である。

[要約]

9系統のラットについて、毛色および生化学的変異を支配する17座位を調査したところ、*a, c, d, h, Es-1, Es-2, Es-3, Amy-1* および sex-influenced esterase の9座位に系統間変異が見られた。これらの標識遺伝子は linkage marker として有効であるばかりでなく、各系統の遺伝的斉一性のチェックをする場合にも利用できる。

終りに当たり Tester Moriyama 系ラットを分与していただいた和歌山県立医科大学西村正彦博士に深謝する。

[文献]

1. Augustinsson, K. B., and Henricson, B. (1966). A genetically controlled esterase in rat plasma. *Biochem. Biophys. Acta* 123: 323-331.
2. Eriksson, K., Halkka, O., Lokki, J., and Saura, A. (1976). Enzyme polymorphism in feral, outbred and inbred rats (*Rattus norvegicus*). *Heredity* 37: 341-349.
3. Festing, M., and Staats, J. (1973). Standardized nomenclature for inbred strains of rats. Fourth listing. *Transplantation* 16: 221-245.
4. Gasser, D. L., Silvers, W. K., Reynolds, H. M., Black, G., and Palm, J. (1973). Serum esterase genetics in rats: two new alleles at *Es-2*, a new esterase regulated by hormonal factors, and linkage of these loci to the *Ag-C* blood group locus. *Biochem. Genet.* 10: 207-217.
5. 水野充・近藤恭司 (1976). NZB 系マウスの *Es-1* 遺伝子座位に見られたヘテロ性の研究, 実験動物, 25: 291-295.
6. Mizuno, M., and Suzuki, K. (1978). Genetic variation of pancreatic α -amylase in the rat, *Rattus norvegicus*. *Jap. J. Genet.* 53: 137-142.
7. 水野充・鈴木潔・富田武・近藤恭司, (1977). 近交系マウスにおける生化学的標識遺伝子の重要性, 実験動物, 26: 43-49.
8. Womack, J. E. (1972) Genetic control of the major electrophoretic component of rat plasma esterase. *Heredity* 63: 41-42.
9. Womack, J. E. (1972). Genetic control of an esterase of digestive tract tissues in *Rattus norvegicus*. *Experimentia* 28: 1372.
10. Womack, J. E. (1973). Biochemical genetics of rat esterases: polymorphism, tissue expression, and linkage of four loci. *Biochem. Genet.* 9: 13-24.
11. Womack, J. E., and Sharp, M. (1976). Comparative autosomal linkage in mammals: genetics of esterases in *Mus musculus* and *Rattus norvegicus*. *Genet.* 82: 665-675.
12. 山田淳三・中島一男 (1976). 2系統の毛色遺伝子テスト用ラットの作出, 実験動物, 25: 307-308.