HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	シロザケ(Oncorhynchus keta)およびサクラマス(Oncorhynchus masou)の血清蛋白ディスク電気泳動像
Author(s)	米田, 勤; 石原, 義雄
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 24(2), 76-89
Issue Date	1974-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23494
Type	departmental bulletin paper
File Information	24(2)_P76-89.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
24(2), 76-89. 1973.

シロザケ (*Oncorhynchus keta*) およびサクラマス (*Oncorhynchus masou*) の血清蛋白ディスク電気泳動像*

米田　勤**・石原義雄**

Disc Electrophoretic Patterns of the Blood Serum Proteins from Chum Salmon, *Oncorhynchus keta* and Cherry Salmon, *Oncorhynchus masou*

Tsutomu YONEDA** and Yoshio ISHIHARA**

Abstract

There are some reprots on electrophoresis of salmon sera using filter paper, starch gel or cellulose acetate membrane as support, but not on disc electrophoresis by acrylamide gel in detail. We believe that the fine resolution of serum proteins of fish by this method may contribute to the study of population genetics and to the blood assay of physiological changes.

The procedure of acrylamide gel disc electrophoresis was that of Ornstein and Davis with some modifications; it was possible to substitute forty percent of saccharose solution of sample gel. We found almost all the proteins of serum could be stained visibly with amido black dyeing using two micro liter of serum for a gel column, and that better separation was obtained at pH 9.4.

In the present report two species of salmon, *Oncorhynchus keta* and *Oncorhynchus masou*, were used and their disc electrophoretic profiles are exhibited. We found some, may be three, typical patterns especially of the gloublin fractions alone of disc electrophoresis of sera of one species, *O. keta* or *O. masou*, and observed some variation between different typical patterns. From these results it is possible to consider the presence of some genetic groups in a species of salmons or to determine what pattern is the typical one belonging to the normal sera for a species of fish.

緒　言

生体成分の分離および純度決定の手段として，電気泳動法はクロマトグラフィーと並び生化学領域における貢献は極めて大きい。生命現象が分子レベルで論じられる方向へ向ったために微量でしかも高精度の分析手段が求められ，1952 年 Raymon[1] により電気泳動の支持体としてアクリルアミドが使われ，1962 年 Ornstein[2] と Davis[3] によりディスク電気泳動（以下 DEP と略す）法が発案された。DEP 法は試料蛋白の濃縮機構を備えたうえさらにアクリルアミドの重合度に応じた篩効果が高い分離能と鮮明な泳動像の再現をもたらすのである。例えば易動度に 1 %の差があれば分別可能とされ

* この報告の一部は 1969 年 11 月（於余市）および 1970 年 4 月（於東京）に催された日本水産学会で発表した。

** 北海道大学水産学部水産高分子化学講座 (*Laboratory of Polymer Chemistry of Marine Products, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)

ている[4]。

生物の種差および種内変異を観察するには外部形態と形質（細胞学的・組織学的・血清学的・生理学的・行動学的）が挙げられるが，最近は蛋白質・酵素・DNA 分析[5,6] など生化学的方法が採られている。この分野の魚類に関する研究として次の報告がある。

先ず蛋白質に関して，筋肉蛋白の電気泳動分析についてはゴマサバ血合肉（2型存在)[7]，ニシン筋肉ミオゲン（種差)[8]，アイルランド産淡水魚 14 種（種差)[9]，ソーダカツオ（2型存在し分類学と一致)[10]，Sable fish（多型)[11]，マエソ属（種差，3種で形態学の結果と一致)[12]，英国産魚 20 種（フィレーで判別可能)[13] など。ヘモグロビンについてはサケ属（純系で斉一，交雑系で不斉一)[14]，フナ類（4種が近縁1種が遠縁)[15]，ウナギ（アメリカ産に1変種存在)[16]，マグロ（キハダ・メバチには種内変異なし，ビンナガは多型)[17]，サケ類（種差)[18] など。また眼球水晶体蛋白についてはマグロ類（種差)[19]，サバ（種差と種内変異)[20]，Brock trout（多型)[21]，イカ（種差)[22] など。トランスフェリンについては Pacific hake（2棲息域で差)[23]，Coal fish·Pollock·Whiting（多型)[24]，*Tilapia*（2種で差異)[25] など。

次に酵素の電気泳動分析について，サケ・ニジマスの筋肉 malate dehydrogenase（それぞれ3型・4型存在)[26]，*Tilapia* の serum esterase（種差)[25]，サンマα-GDH（7型存在，集団分析に有用)[27]，硬骨魚 *Fundulus* の esterase (15 isozyme 存在)[28]，Pacific perch の L-α-glycerophosphate dehydrogenase（集団分析に有用)[29]，サンマ malate dehydrogenase（2群に3型存在)[30]，トゲウオ G-6-P dehydrogenase（分類に有用)[31]，ヒラメ LDH（多型)[32]，ニシン esterase（ストックの差)[33]，各種魚類 aldolase（魚類により isozyme に差)[34]，マス類 LDH（種差を示し分類と診断に有用)[35]，Walleye pollock tetrazolium oxidase（多型，population の差)[36]，など。動物血清蛋白の電気泳動については Dessauer[37] が詳述したように，外部要因や生理的条件の影響を受けるが，分類学的に有用とされ，これまでにもチョウザメ（多型)[38]，Silver hake（棲息域で差)[39]，スルメイカ（採取域の差なし)[40]，ハゼ科（*Gobius jozo* で斉一)[41]，ザリガニ（種差)[42]，Atlantic salmon（年令・季節・群による差)[43]，カサゴ（季節変化)[44]，Cat fish（種差)[45]，ニジマス（多型)[46] などの報告がある。

魚類血清蛋白の電気泳動像の種内変異を観察することにより (1) 多型の問題の1資料がえられる，(2) "normal pattern" が確立されると，病気では immunoglobin などの変化で，また Cu^{2+} など重金属イオンの血液中蓄積では血清蛋白特に albumin との結合で，泳動像の変動が考えられるゆえに，病気・公害の予知にも有用であろう。

ここに著者らは北海道産シロザケとサクラマスの血清について DEP 法による分析を行い種差と共にその種内変異を観察した。

試料および方法

試料　実験に供したシロザケ (*Oncorhynchus keta*) は 1968 年，1969 年および 1970 年に茂辺地川に帰川したもの 125 尾と 1970 年十勝川千代田で捕獲されたもの 80 尾で，茂辺地のものは鰓動脈切断により十勝のものは背動脈から注射器 (vacuum blood collecting tube) により採血した。血清の分離は自然凝固を待って行った。茂辺地の場合は振動を避け速やかに実験室に持ち帰り血清を分離した。十勝の場合は現地で血清を分離し，ドライアイス冷却下で持ち帰った。また，サクラマス (*Oncorhynchus masou*) は 1968 年尻別川で捕獲後北大水産学部七飯養魚場に移し，産卵放精を行わせた後の 19 尾でその尾柄部を切断して採血し自然凝固を待って血清を分離した。いづれも泳動を行うまでは −20°C のストッカー中に凍結保存した。

試薬　アクリルアミド・N′, N′-メチレンビスアクリルアミド (BIS)·N, N, N′, N′-テトラエチルエチレンジアミン (TEMED)・トリスアミノメタン (Tris)・リボフラビン・過硫酸アンモニウム・

グリシン・アミドブラック 10B・ブロムフェノルブルー (BPB) ・ショ糖は和光純薬工業のものを用いた。

分離用ゲルの調製 pH 8.9, ポアーサイズ 7.5% のゲルは, 1N-HCl 48ml, Tris 36.6g, TEMED 0.23ml を蒸溜水 (以下水と略す) に溶かし 100ml としたもの (pH8.9) を 1 容と, アクリルアミド 30.0g, BIS 0.8g を水に溶かし 100ml てとしたもの 2 容と, 水 1 容を混合してこれに 0.14% 過硫酸アンモニウム 4 容を加え速やかに攪拌し内径 5mm・高さ 7cm のガラス管に各々 5cm の高になるように分注し, 2～3mm の水を重層し空気を遮断して室温放置で重合させることによりえられる。このゲルの蛋白泳動時の pH は 9.4 である。

試料濃縮用ゲルの調製 上記の分離用ゲルに対する濃縮用ゲルは pH6.9 でポアーサイズ 2.5% である。1M-H_3PO_4 25.6ml, Tris 5.7g を水に溶かして 100ml としたもの 1 容と, アクリルアミド 10.0 g BIS 2.5g を水に溶かして 100ml としたもの 2 容と, 0.004% リボフラビン水溶液 1 容と, 水 4 容を加え攪拌したものを, 分離用ゲルの上に 8～9mm の高さに注加し水を重層して螢光灯下で光重合させる。

試料溶液 試料用ゲルは作らずに 40% ショ糖液に血清試料を 50:1 の容比で混合したものをこれに代える。重合後水を除去した濃縮用ゲルの上に 0.1～0.2ml ずつ注加し泳動に備える。

泳動槽用緩衝液 Tris 6.0g, グリシン 28.8g を水に溶かして 1l とする。この緩衝液の pH は 8.3 である。使用時 10 倍稀釈とされているが著者は稀釈しなかった。

電気泳動 電気泳動槽用緩衝液は上部電極槽 (陰極側), 下部電極槽共におよそ 100ml を要するが上部に用いる緩衝液にのみ 0.001% BPB 0.5ml を予め添加混合しておき, この緩衝液を試料溶液注加後これに重層 (ガラス管の上端まで) して上部電極槽に装填する。泳動はゲル 1 本当り 2mA を流し 2～3°C の冷蔵庫内で行い, 泳動時の pH と電位勾配の不連続界面を示すフロント (BPB の青い界面) が移動してゲルの下端に達するところで泳動終了とした。

染色および脱染色 泳動終了後のゲルは, 水を満たした大型シャーレの中でゲルとガラス管の間に長い針を挿入することにより水に潤滑されて抜ける。ゲルの染色は氷酢酸: メタノール: 水を 1:5:4 の容比に混合したものにアミドブラック 10B を 0.1% の濃度に溶解した染色液[47] に数時間浸漬して行い, 水洗後 7% 酢酸でゲル 1 本当り 5mA の通電脱色を行なった。

その他, 写真の撮影は小試験管にゲル 1 本ずつ移し水を満たして立て複写用光源の白い紙に対する反射光で行った。またこれに 1% チモールアルコール溶液を数滴添加すれば冷暗所で長期の保存に耐える。デンシトグラムは自記濃度計 Ozmor 82 型によった。

結果と考察

DEP 法はおおむね Ornstein と Davis の方法に準じて行ったが, 血清の場合は pH 8.0 よりも pH 9.4 が良い結果を与える。ポアーサイズも 5.0% と 3.75% を試みたが 7.5% で最も良い分離がえられる。この方法については永井[48] の総説を参考にした。なお血清試料溶液は凍結保存に耐えない。

血清蛋白の電気泳動による研究はこれまでにも多数行われ, 特に人の病気に関連して臨床的に実用されているがこの場合に対象とされるのは生理的変動に伴う泳動像の変化である。血清蛋白は組織蛋白に比べ抽出操作の僅の違いによりおこる蛋白の変化を考慮せずにすむ点有利な材料といえる。魚類血清蛋白の DEP 像は種々の生理学的要因 (年令・性別と性的熟度・変態・病気) や理化学的ストレス (溶存酸素量・各種化学物質・捕獲法・採血法) の影響[43][44][46][51] を受けるが, この点を考慮してなお種差および種内変異の観察にも有用とされる。種差についてはスルメイカ,[40] ハゼ科魚,[41] ザリガニ,[42] ナマズ,[45] サケ類,[49] 種内変異についてはチョウザメ[38] Silver hake[39], ニジマス[46] の報告がなされている。一般に生理学的変動は albumin 区,[37][50] albumin 区に最も近い易動度の α-globulin[51] に多く現われることから globlin 区を主体にして比較を行った。

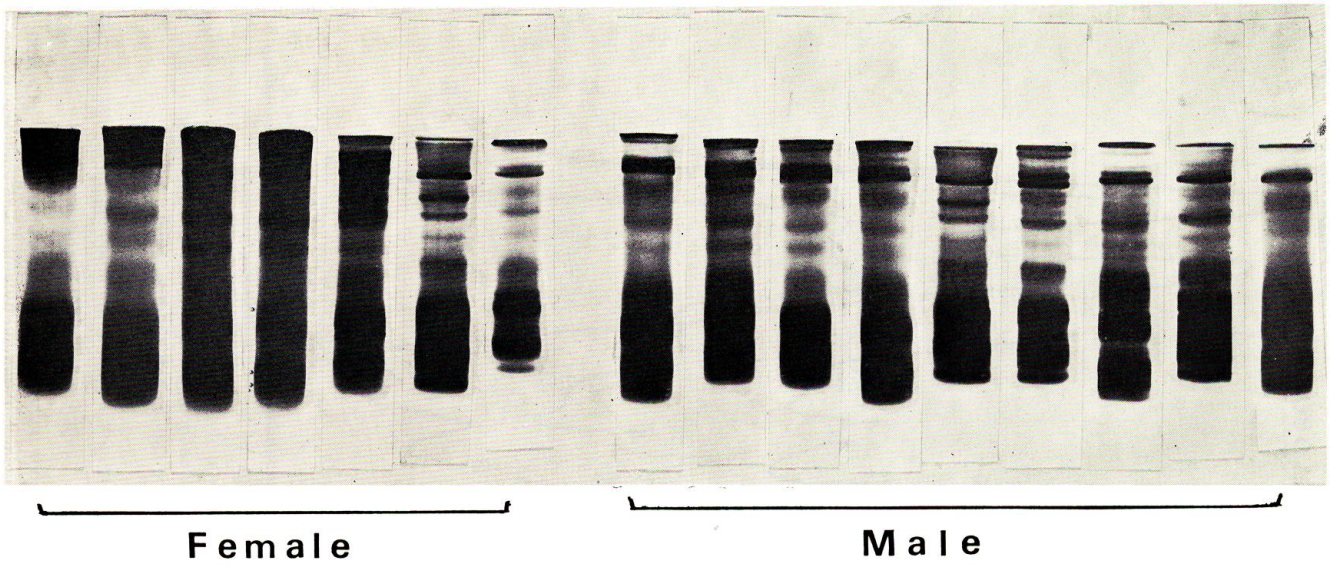

Fig. 1 The comparison of the disc electrophoretic patterns of the individual serum of *Oncorhynchus keta*. These 16 specimens were extracted at randoum from 48 specimens which were captured from the mouth of the Moheji river in Hokkaido from October to December in 1968.

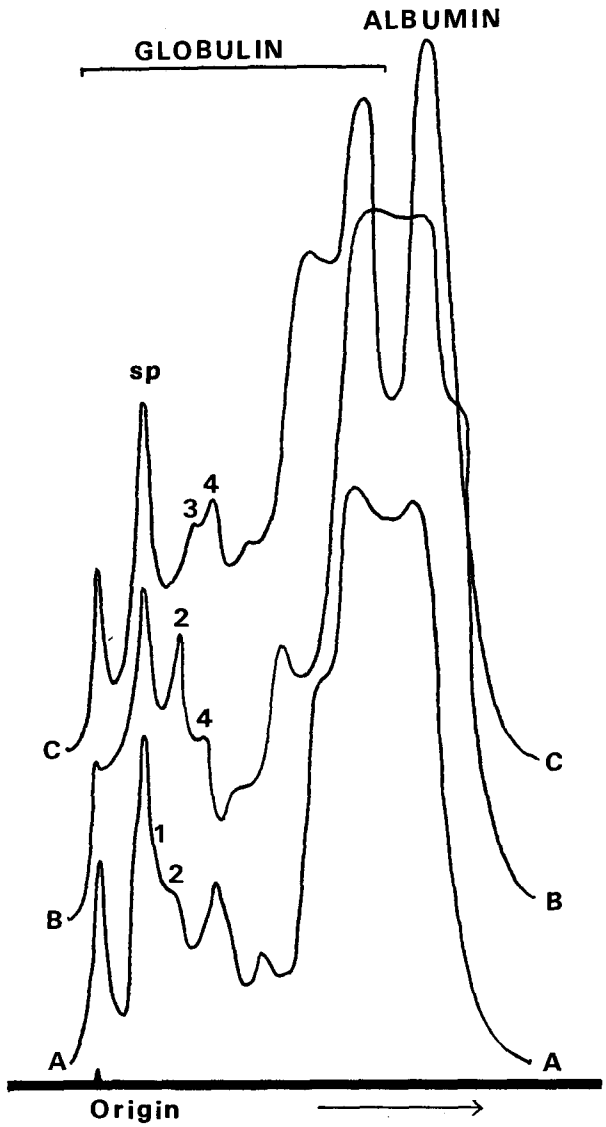

Fig. 2 Disc electrophoretic densitograms of chum salmon. In this illustration the anode is to the right and the cathode to the left. These three typical patterns were extracted from 48 specimens of the Moheji river in 1968.

シロザケの DEP 像を Fig. 1 に示す。1968 年 10 月茂辺地河口の海側で捕獲されたものと同年 12 月に茂辺地川で捕獲されたものの中から無作意に 16 個体の泳動像を抜き取り雌雄に分けた後グロブリン区の比較的類似するものが隣合うように並べたものである。これらの DEP 像は極めて多様なものであるが，globulin 区だけに着目していくつかのグループにわけることを試みた。Fig. 2 はこの中でより特徴的な 3 つのデンシトグラムを示したものである。電気泳動を行ったすべてのシロザケの globlin 区に共通して認められる蛋白 (sp) より早く移動する 1～4 の蛋白は個体による変異が大

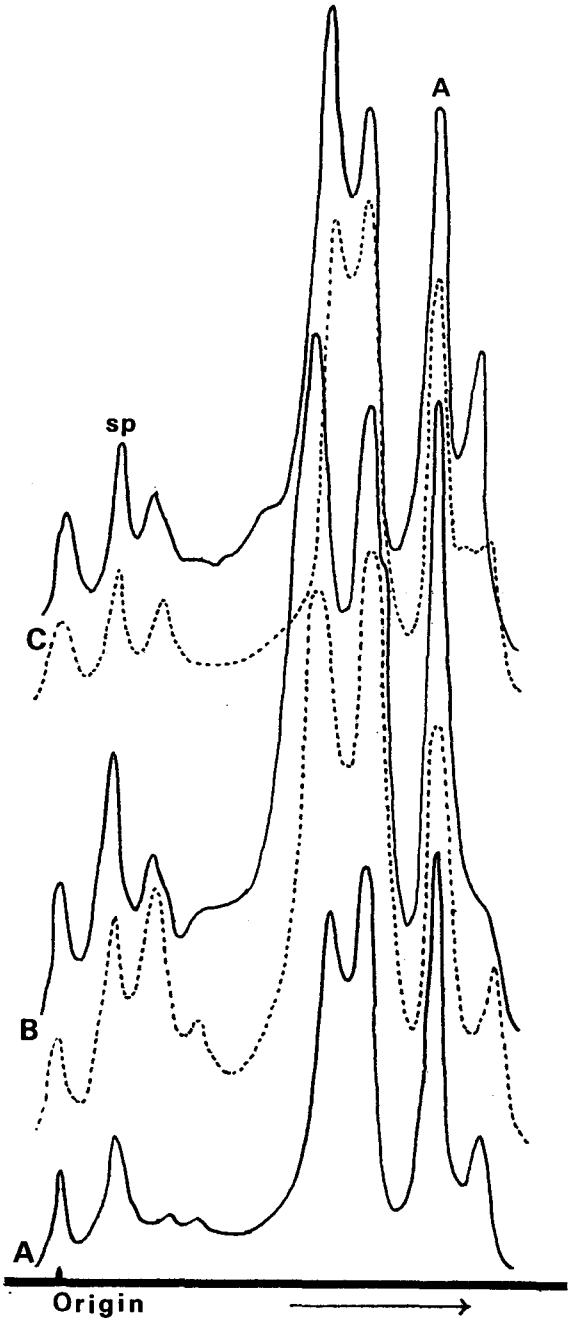

Fig. 3 Disc electrophoretic densitograms of chum salmon. These patterns were extracted from 36 specimens of the Moheji river in 1969.

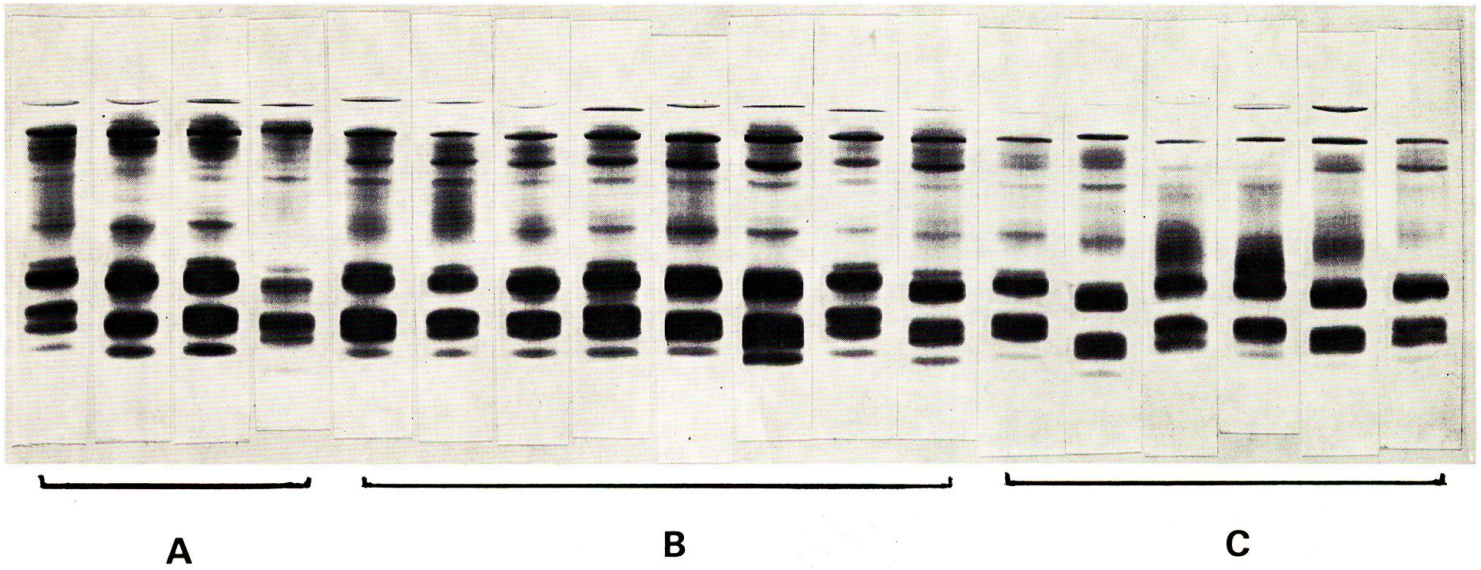

Fig. 4 The comparison of the disc electrophoretic patterns of the individual serum of *Oncorhynchus keta*. These 18 specimens were extracted at random from 73 specimens which were captured from the Tokachi river at Ikeda early November in 1970. The possible arrangment belonging to the typical three patterns is exhibited.

Table 1. *Comparison of the frequencies of the various types of chum salmon serum protein.*

River	Period	Appearance		
		type A	type B	type C
Moheji	1968	6/20	9/20	5/20
	1969	5/36	15/36	16/36
	1970	9/34	13/34	12/34
	sum	20/90 (0.22)	37/90 (0.41)	33/90 (0.37)
Tokachi	1970	18/73 (0.24)	30/73 (0.41)	25/73 (0.34)

Male only.

Table 2. *Reration between the various types and total lengths of chum slamon.*

Total length	Appearance	Number
76-80 cm	B C	2
71-75 cm	B C C C	4
66-70 cm	B B	2
61-65 cm	A A B B C C C C	8
56-60 cm	B B C C C	5
51-55 cm	A B B B C C C	9
46-50 cm	B	1

Moheji, 1969, male only.

きい。そこで，これらの蛋白の組合せから3種の典型的パターンを拾ったところ殆んどすべての個体をいづれかに帰属させ得ることがわかった。各パターンを A, B, C と仮称する。1～4 の蛋白は性には無関係であり 1968 年のシロザケ，雌雄合せて 43 個体の比較が可能であるが，1969 年および 1970 年の例にならい雄についてのみ出現頻度をかぞえてみた。3 ケ年に渉り茂辺地川で捕獲されたもの 90 個体と 1970 年十勝川で捕獲された 73 個体を比較したのが Table 1 である。この結果 B に帰属させうる個体が最も多いことが二つの河川で共通する。また B の他 A, C についても両河川について出現頻度に大きな差が認められない。Fig. 3 は 1969 年茂辺地川の シロザケの A, B, C の泳動パターンで albumin 区およびこれに近い globlin 区の蛋白の分離がみられる。Fig. 4 は十勝川のサケ 90 個体の中から 18 個体を無作意に抜き取り比較的類似するものが隣合うように並べた上 A, B, C に帰属せしめたものである。Table 2 は 1969 年茂辺地で 捕獲したシロザケの うち 31 個体の雄に つきその体長と A, B, C の出現頻度との関係をみたものであるが，いづれのタイプも体長に 対しては 相関せず独立的である。また 10 月に茂辺地河口の海側で捕獲された大部分の 雌のシロザケの DEP 像には globulin 区の蛋白のなかでも易動度の小さい特有の蛋白がみられるが，12 月茂辺地川で捕獲した雌ではこの蛋白の現われる個体が少なかった。この蛋白はギンザケ[52]，ヤツメ[51] でも 観察されている 未成熟卵へ運ばれる lipovitellin と考えられる。この状態にある雌の血清を水で 10 倍量に 稀釈することによりこの蛋白が沈澱し 3,000 rpm 10 分間の遠心分離で集めることができる。この蛋白はまた 0.85% の食塩水に溶解し電気泳動を行うことができる。Fig. 5 は卵完熟前の雌の血清 (N) と 稀釈後の上澄に溶

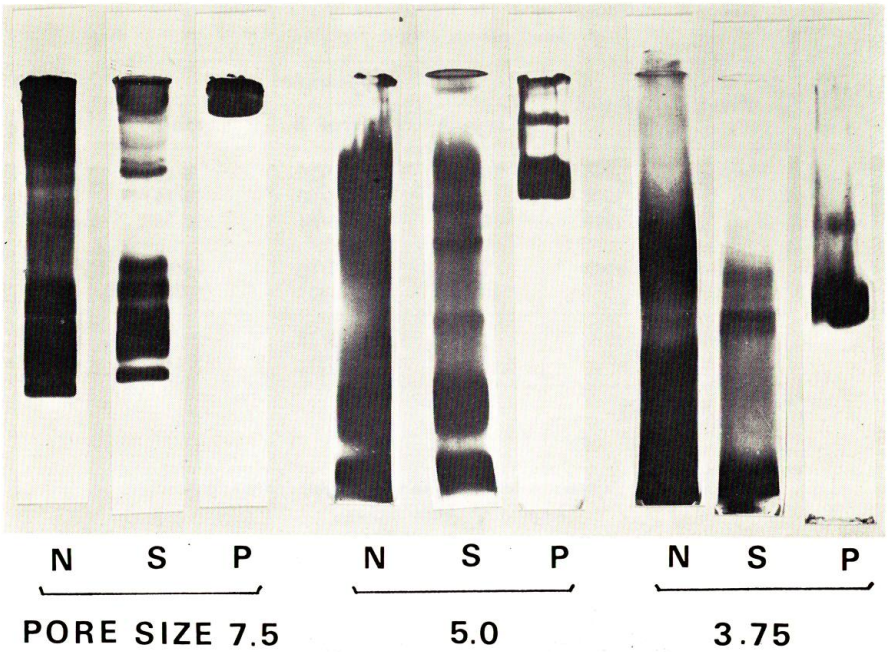

Fig. 5 Disc electropherograms of native serum protein of female chum salmon and precipitated or soluble proteins after dilution to ten volumes with water. This specimen was captured early October in 1968 from Moheji.

解している蛋白 (S) および沈澱蛋白 (P) を 7.5%, 5.0% および 3.75% のポアーサイズで DEP 法を試みたものである。

サクラマスの DEP 像は Fig. 6 に示した。雌雄に関係なくやはり何種類かのパターンを拾うことができる。サクラマスの血清性状については久保による変態および海水適応に着目しての生理学的研究の報告[53)54)55)]と分類学的および資源学的見地からの報告[56)]がある。

実験結果を総括すると，シロザケ，サクラマスともに変動因子を考慮してもなおこれらの DEP 像が多様であると言わねばならない。本実験ではアミドブラックによる染色を行っているために血清蛋白のすべてが像として現われる。こうしてえられた像からはパターンの比較以上に深い考察はむづかしい。血清蛋白の中から，生理活性，酵素活性あるいは特定の金属との結合等により他の蛋白と明瞭に区別されるものを特異的に検知する方法と DEP 法とを組合せて観察することが一層有効な population genetics の解析手段になろう。DEP 像に影響を与える諸要因が大体同じ条件下での本実験は種差と共に多型の 1 資料ではなかろうか。Thurston[46)] もニジマスに就いて生理的変動を受けてなお集団遺伝の反映を考えるべきであると論じている。サケ・マス類は母川回帰の習性の為各河川毎に異なる魚群を形成しそれぞれ独立して再生産を行なっているので，集団遺伝は当然考慮さるべき問題で，これに関してカナダ Frazer 河に遡上するベニザケで同一河川でも産卵場所・産卵時期を異にするものゝ多型が鱗相などから認められている。また，Tsuyuki[48)] によるとサケについて北米産とアジア産で DEP 像の異ることを報告しているが，本実験では河川による差は認められなかった。今後分析例を充分多くしてさらに検討すべき課題と考える。

血清蛋白 DEP 像が上述の種々の要因で変動することは，一面においてはその "normal pattern を確立することにより病気・公害の予知に利用できることになろう。これに関して次の報告は極めて示

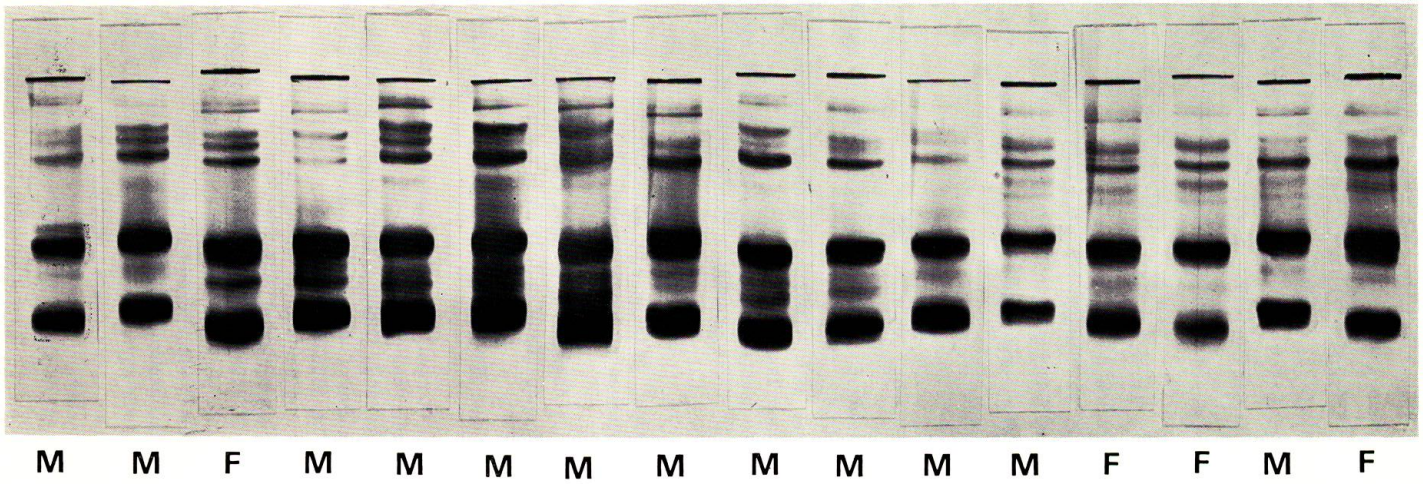

Fig. 6 The comparison of the disc electrophoretic patterns of the individual serum of *Oncorhynchus masou*. These 16 specimens were captured from the Shiribetus river in Hokkaido during September in 1968 and supplied after spawning.

唆に富むものである。病気による影響については，ブリで特定分画の低下が著しい[57]，ニシン[58]ウナギ[59]，ヤツメウナギ[60]などで何れも変動，その他ヒトではネフローゼ患者で albumin と α_2-globulin が著しく低下[61]，カイコで病気により付随バンド出現[62]，モルモットで結核により変動し治療で回復[63]，また，化学物質の影響として魚類で Kraft pulp 廃液による泳動像変動が汚染度判定に有用[64]，ニジマス[46]で Cu^{2+} スズキ[65]で Cr^{6+} による変動，コイでは農薬で血清 GOT と GPT 値上昇[66]，ウサギで Pb^{2+} 汚染の早期検出に有効[67]，ネズミでホルモン投与により albumin 区増加[68]，ヒトでペニシリン投与によりこれと結合する albumin の易動度増大[69]などの報告を挙げることができる。

以上，シロザケおよびサクラマス血清蛋白の DEP 分析の二つの意義について考察を試みた。これらは共に今後大きな関心を持つべき分野と考える。

本実験を行うに当り，試料採集について御協力下さった上磯町茂辺地並びに十勝千代田の漁業組合の方々，貴重な試料を譲渡され種々の御助言をいただいた北海道大学水産学部久保達郎助教授，サケの採血法について北海道立栽培漁業センター結城了伍博士，遺伝学について北海道大学水産学部山崎文雄博士の御助言に深く感謝の意を表す。

文　　献

1) Raymond, S. and Weintraub, L. (1959). Acrylamide gel as supporting medium for zone electrophoresis. *Science* **130**, 711.
2) Ornstein, L. and Davis, B.J. (1962). Disc-electrophoresis. Unpublished work. (Preprinted by Distillation Products Ind.)
3) Davis, B.J. (1964). Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. "Gel electrophoresis" Conference chairman, Fredirch, J.F. *Ann. New York Acad. Sci.* **121**, 404.
4) Panyim, S. and Chalkley, R. (1969). High resolution acrylamide gel electrophoresis of histones. *Arch. Biochem. Biophys.* **130**, 337–346.
5) Sueoka, N. (1961). Variation of heterogeneity of base composition of DNA. *J. Mol. Biol.* **3**, 31–35.
6) Zeiger, R.S., Salomon, R. Dingman, C.W. and Peacock, A.C. (1972). Role of base composition in the electrophoresis of crab DNA in polyacrylamide gel. *Nature* (New biology) **238**, 65–69.
7) 鄭　森雄 (1973). 血合肉蛋白の電気泳動分析による台湾産ゴマサバに関する研究. 日本水産学会誌 **39**, 295–298.
8) McKenzie, J.A. (1973). Comparative electrophoresis of tissues from blue back herring. *Comp. Biochem. Physiol.* **B. 44.** 65–68.
9) Haen, P.J. and O' Rourke, F.J. (1969). Comparative electrophoretic studies of the water-soluble muscle proteins of some Irish fresh water fishes. *Proc. Roy. Irish Acad.* **B., 68**, 101–108. (*C.A.* **72**, 97737t (1970)).
10) 谷口須彦・中村　泉 (1970). セルロース・アセテート電気泳動法によるソーダカツオ属2種の筋肉たんぱくの比較. 日本水産学会誌 **36**, 173–176.
11) Tsuyuki, H. and Roberts, E. (1969). Muscle protein polymorphism of sable fish from the eastern Pacific Ocean. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **26**, 2633–2641.
12) 谷口須彦 (1969). マエソ属魚類3種の筋肉蛋白の電気泳動像，日本水産学会誌 **35**, 885–890.
13) Cowie, W.P. (1968). Identification of fish species by thin-slab polyacrylamide gel electrophoresis of the muscle myogens. *J. Sci. Fd. Agric.* **19**, 226–229.
14) 吉安克彦 (1973). 西南部日本に分布する河川・湖沼型サケ科魚類ヘモグロビンの電気泳動的研究. 日本水産学会誌 **39**, 97–114.
15) 天野秀臣・橋本周久・松浦文雄 (1971). フナのヘモグロビンに関する電気泳動的研究. 同誌 **37**, 48–54.
16) Poluhowich, J.J. (1970). An electrophoretic comparison of hemoglobins from Ameri-

can and European eels. *Comp. Biochem. Physiol.* **31**, 739–743.
17) Sharp. G.D. (1969). Electrophoretic study of tuna hemoglobins. *Ibid.* **31**, 749–755.
18) 山中英明・山口勝己・橋本周久・松浦文雄 (1967). 魚類ヘモグロビンの澱粉ゲル電気泳動. III. サケマス類. 日本水産学会誌 **33**, 195–203.
19) Smith, A.C. (1970). Electrophoretic, solubility and thermostability differences in proteins of eye lens nuclei from two closely related fish species, the yellow-fin and the bigeye tuna. *Comp. Biochem. Physiol.* **33**, 1–5.
20) Smith, A.C. (1969). Protein variation in the eye lens nucleus of the mackerel scad. *Ibid.* **28**, 1161–1168.
21) Eckroat, L.R. and Wright, J.E. Genetic analysis of soluble lens protein polymorphism in brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *Copeia* **No. 3**, 466–473.
22) Smith, A.C. (1969). An electrophoretic study of protein extracted in water from the eye lens nucleus of the squid. *Comp. Biochem. Physiol.* **30**, 551–559.
23) Utter, F.M. (1969). Transferrin variants in Pacific hake. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **26**, 3268–3271.
24) Møller, D. and Naevdal, G. (1966). Serum transferrins of some gadoid fish. *Nature* **210**, 317–318.
25) Chen, F.Y. and Tsuyiki, H. (1970). Zone electrophoretic studies on the proteins of *Tilapia mossambica* and *Tilapia hornorum* and their F_1-hybrids. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **27**, 2167–2177.
26) 沼知健一・松宮義晴 (1972). サケとニジマスのリンゴ酸脱水素酵素に関与する重複遺伝子と変異. 日本水産学会誌 **38**, 699–706.
27) 沼知健一 (1971). サンマにおける α-グリセロリン酸脱水素酵素の遺伝的多型. 同誌 **37**, 755–760.
28) Holmes, R.S. and Whitt, G.S. (1970). Developmental genetics of the esterase isoenzymes of *Fundulus heteroclitus*. *Biochem. Genet.* **4**, 471–480. (*C.A.* **73**, 63653t (1970)).
29) Johnson, A.G., Utter, F.M. and Hodgins, H.O. (1970). Electrophoretic variants of L-α-glycerophosphate dehydrognease in Pacific Ocean perch. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **27**, 943–945.
30) 沼知健一 (1970). サンマにおけるリンゴ酸脱水素酵素の多型. 日本水産学会誌 **36**, 1235–1241.
31) Muramoto, J., Igarashi, K. Itoh, M. and Makino, S. (1969). Chromosomes and enzymic patterns of three forms of sticklebacks. *Proc. Japan. Acad.* **45**, 803–807.
32) Markert, C.L. and Holmes, R.S. (1969). Lactate dehydrognease isozymes of the flat fish. *J. Exp. Zool.* **171**, 85–103.
33) Simonarson, B. and Watts, D.C. (1969). Some fish muscle esterase and their variation in stocks of the herring, *Clupea harengus, L. Comp. Biochem. Physiol.* **31**, 309–318.
34) 竹尾和典 (1969). ディスク泳動法による魚類のアルドラーゼ分析. 生物物理化学 **14**, 179–184.
35) Bouck, G.R. and Ball, R.C. (1968). Comparative electrophoretic patterns of lactate dehydrognease in three species of trout. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **25**, 1323–1331.
36) Iwata, M. (1973). Genetic polymorphism of tetrazolium oxidase in walleye pollock. *Japan. J. Genetics* **48**, 147–149.
37) Dessauer, H.C. (1966). Taxonomic significance of electrophoretic patterns of animal sera. *Bull. Serol. Mus.* **34**, 4–8.
38) Lyk'yanenko, V.I., Popov, A.V. and Mishin, E.A. (1971). Heterogeneity and polymorphism of serum albumins in fish. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* **201**, 734–740. (C.A. **76**, 110490m (1972)).
39) Volkov, V.S. (1968). Electrophoretic analysis of serum proteins in the blood of the northwestern Atlantic silver hake. *Vses. Konf. Molodykh Uch., Min. Ryb. Khozz SSSR* 100–111. (*C.A.* **76**, 44134v (1972)).
40) 元広輝重・猪上徳雄 (1970). ヘモシアニンの比較生化学. II. スルメイカ血液のディスク電気泳動. 日本水産学会誌 **36**, 585–587.

41) Rodino, E. (1968). Taxonomic study of some species of *Gobius* by electrophoresis of plasma proteins. *Atti. Ist. Veneto Sci., Lett. Arti, Cl. Sci. Mat. Natur.* **126**, 409–417.

42) Chaisemartin, R.A. (1968). Variations of the serum protein electropherogram in *Astaciea*. *C.R. Soc. Biol.* **162**, 2707–2710.

43) Carbery, J.T. (1969). Electrophoretic pattern of serum proteins of Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Res. Vet. Sci.* **10**, 295–296.

44) 山下秀夫 (1969). カサゴの血液学的研究. V. 血清蛋白電気泳動像. 日本水産学会誌 **35**, 379–385.

45) Rolan, R.G. (1968). Electrophoretic comparison of human and catfish plasma proteins. *Trans. Amer. Fish. Soc.* **97**, 455–459.

46) Thurston, R.V. (1969). Electrophoretic patterns of blood serum proteins from rainbow trout. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **24**, 2169–2188.

47) 橋口 勉・前田芳実・岡本 悟・武富萬治郎 (1968). ウズラ血清蛋白における雌雄間差異. 鹿児島大学農学部報告 **18**, 143–150.

48) 永井 裕 (1967). ディスク電気泳動法. 蛋白質核酸酵素 生物化学実験法 IX. 物理化学実験法 (3) 別冊. 3–14.

49) Tsuyuki, H. and Roberts, E. (1966). Inter-species relationships within the genus *Oncorhyncus* based on biochemical systematics. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **23**, 101–107.

50) Herner, A.E. and Frienden, E. (1960). Biochemistry of anuran metamorphosis, VII. Changes of serum proteins during spontaneous and induced metamorphosis. *J. Biochem. Physiol.* **235**, 2845–2851.

51) Rall, D.P., Schwab, P. and Zubrod, C.G. (1961). Alteration of plasma proteins at metamorphosis in the lamprey, *Petromyzon marinus dosatus*. *Science* **133**, 279–280.

52) Vanstone, W.E. and Chung-Wai Ho, F. (1961). Plasma proteins of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, as separated by zone electrophoresis. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **18**, 393–399.

53) 久保達郎 (1955). サクラマス (*ONCORHYNCHUS MASOU*) の Smolt の降海途中における血液性状の変化. 北大水産彙報 **6**, 201–207.

54) 久保達郎 (1960). 沿岸洄游時に於けるサクラマスの血液性状の季節的変化. 特に浸透圧濃度について. 同誌 **11**, 15–19.

55) 久保達郎 (1961). 河川汚上期に於けるサクラマス (*Oncorhynchus masou*) の血液の性状, 特に浸透圧濃度の季節的変化について. 同誌 **12**, 189–195.

56) 久保達郎 (1970). 青森県における渓流魚 (ヤマベ・サクラマス) の増殖診断. 日本水産資源保護協会・月報 **No.73**, 4–11.

57) 木村正雄 (1968). 海産養殖魚とくにブリの疾病. X. 予防ならびに治療. 宮崎大農研時報 **5**, 154–161.

58) Sindermann, C.J. and Mairs, D.F. (1958). Serum protein changes in diseased sea herring. *Anat. Record* **131**, 599–600.

59) Fine, J.M. (1963). The proteins of eel serum. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **114**, 651–654.

60) Thomas, M.L.H. and McCrimmon, H.R. (1964). Variability in paper electrophoresis of the serum of sea lamprey. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **21**, 239–246.

61) 入山 等 (1970). ディスク電気泳動法による各種じん疾患患者の血清及び尿たんぱく. 岐阜大医紀 **18**, 155–200.

62) Eguchi, M. and Narumi, Y. (1967). Comparative studies on esterase zymograms among various tissues in the silkworm, *Bombyx mori*. *Appl. Entomol. Zool.* **2**, 163–167.

63) Wozniak, W., Szepietowska, B. and Werako, B. (1968). Electrophoretic pattern of the serum proteins in experimental tuberuclosis. *Gruzlica* **36**, 409–416. (*C.A.* **69** 57955 u (1968)).

64) Fujiya, M. (1961) Use of electrophoretic serum separation in fish studies. *J. Water*

Pollution Control Federation **34**, 1151

65) Fromm, P.O. and Schiffman, R.H. (1958). Toxic action of hexavalent chromium on large mouth bass. *J. Wildlife Management* **22**, 40–44.

66) 坂口宏海 (1972). 魚類に対する農薬の影響. I. 二, 三の有機リン製剤によるコイの血液および肝臓成分の変化. 日本水産学会誌 **38**, 555–560.

67) DeBruin, A. (1970). Polyacrylamide gel electrophoresis in industrial toxicology. *Med. Lav.* **61**, 33–40. (*C.A.* **73**, 54064z (1970)).

68) Rockicki, W. (1969). Serum protein electrophoergoram in experimental hyperthyroidism. *Przegl. Lek.* **25**, 614–616 (*C.A.* **72** 107556z (1970)).

69) 江沢敏一・北村元仕 (1969). 電気泳動像に見られたヒト血清アルブミンとペニシリン G の相互作用. 生物物理化学 **14**, 205–207.