

カイコにおよぼす核酸塩基類似体の影響

誌名	日本応用動物昆虫学会誌
ISSN	00214914
著者	中島, 誠
巻/号	15巻3号
掲載ページ	p. 153-160
発行年月	1971年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



カイコにおよぼす核酸塩基類似体の影響

中 島 誠

東京農工大学農学部

(1970年12月1日受領)

Effects of DNA Base Analogues on the Silkworm, *Bombyx mori*. Makoto NAKAJIMA (Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, 183) *Jap. J. appl. Ent. Zool.* **15**: 153-160 (1971)

The present report deals with the effects of certain base analogues on larval growth, viability and induction of somatic mutations in the silkworm. The effects of 5-bromodeoxyuridine (BUdR) were tested in addition to those of 5-bromouracil (BU) and 2-aminopurine (AP). A series of experiments were carried out with strains of heterozygous for either genes $+^{od}$ and od or genes p^s and p by feeding the larvae on BUdR (0.028—0.161 μ M/individual), BU (0.27—2.21 μ M/individual) or AP (0.31—2.73 μ M/individual) during the first instar. In order to examine mutation frequencies, the number of white spots (phenotypically p) induced in certain of the integuments of the fifth instar larvae was counted.

The treatment with BUdR was followed by severe inhibition of growth and finally death, while AP had little effect on growth and survival. BU was not so toxic as BUdR. The number of aberrant spots per integument was larger in the larvae treated with BUdR than those treated with BU. The aberrant spots occurred very rarely in both AP treated and control animals.

The mean size of the spots induced by the base analogues was about half or a quarter as large as those induced by γ -irradiation. But there was no morphologically appreciable difference between the aberrant spots induced by base analogues and those induced by γ -ray.

The enhancement effect of aminopterin on aberrant spot production was observed in the treatment with BU, whereas no such effects were observed in the case of BUdR. There was a sex difference in the frequencies of induction of aberrant spots when the characters of such spots were sex-linked ones. Although the mechanism of such spots is not clear, mutation must have occurred in some of the epidermal cells during their development as a result of the replacement of the normal base in DNA with BU or BUdR.

緒 言

核酸塩基類似体である 5-ブロモウラシル (以下BU) や 2-アミノプリン (以下AP) および BU の nucleoside である 5-ブロモデオキシウリジン (以下 BUdR) は微生物においては、不活性化や突然変異を誘発する作用があり (DUNN and SMITH, 1957; FREESE, 1959; LITMAN and PARDEE, 1960; RUDNER, 1961; STRELZOFF, 1962; TERZAGHI *et al.*, 1962), それは、これらの塩基類似体が DNA に取り込まれることに起因するといわれている (ZAMENHOF *et al.*, 1956 a; DUNN and SMITH, 1957; ZAMENHOF *et al.*, 1959)。

一方、動物におけるこの種の研究は比較的少ないが、哺乳類の培養細胞の DNA は多量の BU を取り込むこと

ができるし (DJORDJEVIC and SZYBALSKI, 1960; CHUN and LITTLEFIELD, 1961; KRIS *et al.*, 1951; HAKALA, 1962), それによって染色体切断の起こされることがあるという (HSU and SOMERS, 1951)。また昆虫でも BU によって精母細胞に染色体切断が起きたり、細胞分裂が抑制される例が知られている (松田, 1953)。

しかし動物での突然変異誘発の研究は極めて少なく、それもほとんど昆虫に限られている。しかもその結果は BU または BUdR が突然変異を起こすという二・三の例 (KAUFMANN *et al.*, 1952; CASPARI *et al.*, 1955) のほかは否定的である (KAHN and ALDERSON, 1968; 田島, 1962)。

本論文では BU, AP および BUdR の添食がカイコ幼虫の発育、致死および体細胞突然変異の誘発におよぼ

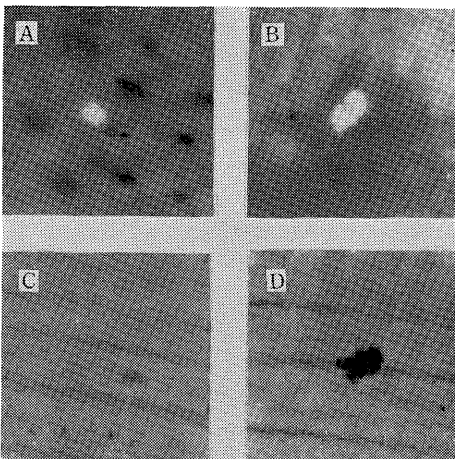
す影響、ならびにこれらの核酸塩基類似体にアミノプテリンを併用した場合の効果について実験し、BU および BUdR に发育阻害、致死および変異斑誘発的作用があることがわかったので、その結果について報告する。

本文に入るに先だち、懇切なるご指導を賜った国立遺伝学研究所田島弥太郎博士に感謝の意を表する。

材料および方法

本実験には黒縞蚕×支 110 号の F₁ のヘテロ黒縞蚕 (p^s/p) および od 油蚕(雌)×支 110 号(雄)の F₁ のヘテロ油蚕 (雄は +^{od}/od, 雌は W/+^{od}) を供試した。飼育は 25°C の恒温下で行ない、この条件での第 1 令の食下期間は両系統とも約 70 時間であった。BU, BUdR, AP およびアミノプテリンの添食は、いずれも一定量を 0.2M N HCO₃ 水溶液に溶かして、桑葉に塗布 (0.03 ml/cm²) する方法によった。なお無処理の対照蚕には、0.2M NaHCO₃ 水溶液を同様に塗布して食下させた。 γ 線照射は第 1 令 35 時間後に ⁶⁰Co を線原として 100R/min の線量率で 4000R 照射した。1 個体あたり平均添食量の算出は、試薬の塗布量と桑葉の食下率から食下試薬量を出し、それを供試個体数で除して求めた。死亡率は添食後 15 日間 (添食 15 日後には正常に发育を遂げた個体は第 5 令に達している) に死亡した個体数を調査して求めた。

変異斑の検出は specific loci method により、優性形質の中に劣性形質の斑点として現われるヘテロ黒縞蚕の白斑およびヘテロ油蚕の油蚕斑を、第 5 令 4 日目に第 6・7 両環節背面の皮膚について調べた (第 1 図)。出現頻度の表示は両環節の合計変異斑数を 2 で割って 1 環節あ



第 1 図 白斑 (A, B) と油蚕斑 (C, D)。

たりの変異斑数として示した。なお、白斑の調査は環節部を、また油蚕斑の調査は環節間膜部を対象として行なった。白斑の大きさは長径と短径との平均値をもって示し、油蚕斑の大きさはそれを構成する細胞数で示した。なお、調査はいずれも第 5 令 4 日目に正常に近い发育をした 20 個体を選んで行なった。

各処理区間の 1 環節あたり総真皮細胞数の比較は、絶対値で行なうことは困難であるので、次の方法により相対値を求めて行なった。すなわち、第 5 令 4 日目にほぼ正常に近い发育をした 15 個体を選び、第 6 環節の横断切片を作り、Feulgen 染色後、その断面円周上に並んだ真皮細胞核を数え、1 個体あたりの平均数を 2 乗した値をもって 1 環節あたりの総真皮細胞数を代表させた。

結果ならびに考察

发育ならびに致死におよぼす影響

核酸塩基類似体の添食が发育および致死におよぼす影響をみるために、ヘテロ黒縞蚕を用い、第 1 令中経路的に BU, BUdR または AP をいずれも約 1:3:9 の 3 種類の量比で添食し、第 2 令起蚕体重、幼虫経過および死亡率を調べた。その結果は第 1 表の通りである。

第 1 表 核酸塩基類似体の添食が幼虫の发育におよぼす影響 (ヘテロ黒縞蚕)

添食物質	1 個体当り 平均添食量 μ M	添食 個体数	第 2 令起蚕 体重(乾量) mg/100 個 体	第 2 令起蚕 3 回目脱皮 までの所要 日数	第 3 令起蚕 死亡率 %
5-プロモデオキシウリジン (BUdR)	0.028	200	95.4	14.00	24
	0.060	200	81.6	14.67	49
	0.161	200	67.2	—	100
5-プロモウラシル (BU)	0.27	200	98.3	14.00	16
	0.73	200	79.2	14.33	45
	2.08	200	65.8	14.67	62
2-アミノプテリン (AP)	0.38	200	102.4	13.33	5
	1.02	200	104.5	13.67	3
	2.73	200	95.6	14.00	8
無添食	—	200	104.7	12.33	2

第 1 令中添食。

第 1 表の結果から、第 2 令起蚕体重は BU または BUdR 添食の場合には、添食量の増加するにつれて減少するが、AP の場合は添食量が多い場合もほとんど影響がみられない。ふ化より第 3 回脱皮までの所要時間の比較から、BU および BUdR の場合は遅れが著しく、AP の場合には遅れは少ないことがわかる。とくに BUdR 添食の場合には发育が遅れるばかりでなく、著しくふぞろいになった。また致死作用に対しても、BUdR

の影響がもっとも大きく、0.161 μ M 添食の場合には第4令に達する個体は全くみられなかった。

以上体重低下、発育遅延ならびに致死からみた障害作用は、添食モル数の割合に、BUdR がもっとも大きく、AP はもっとも小さいことがわかる。

BU, BUdR および AP のこのような障害作用の差については、薬剤の target に対する作用の差のほかに、個体および細胞レベルでの取込量の差、とりわけ核酸塩基類似体としての特性から DNA への取込量の差などが考えられる。BU や BUdR は DNA に取り込まれて染色体切断をおこし、DNA 合成期間を伸長させ、また細胞分裂を抑える作用のあることが、フキバツタ (松田, 1963) や哺乳類の細胞 (Hsu and Somers, 1961; Toliver and Simon, 1967) で明らかにされているから、BUdR や BU によるカイコの発育の遅れや致死の原因も、このような機作によることが考えられる。また取込量も重要な因子であるので目下研究中である。

変異斑誘発におよぼす影響

核酸塩基類似体は微生物では突然変異誘起物質としてよく知られているが、多細胞生物ではその効果は疑問視されており、突然変異の起こることが確かめられた例は極めて少ない。

そこで、カイコに対する効果を明らかにするために、ヘテロ黒縞蚕およびヘテロ油蚕を用いて、第1令中 BU, BUdR または AP を添食し、第5令4日目に達した個体について第6, 7両環節背面の変異斑数を調べた。その結果は第2表および第3表の通りである。

第2表から、ヘテロ黒縞蚕の場合には、AP の添食効果はほとんどみられないが、BU および BUdR 添食の場合、とくに高添食量の場合に1環節あたりの白斑数の

第2表 核酸塩基類似体の添食による白斑の誘発 (ヘテロ黒縞蚕)

添食物質	1個体当り平均添食量 μ M	供試個体数	1環節当り白斑数
5-プロモデオキシウリジン (BUdR)	0.028	40	2.72 \pm 1.78
	0.060	31	6.84 \pm 2.25
5-プロモウラシル (BU)	0.27	40	2.65 \pm 1.73
	0.73	40	3.42 \pm 1.81
	2.08	40	5.51 \pm 2.16
2-アミノプリン (AP)	0.38	40	1.30 \pm 1.58
	1.02	40	1.05 \pm 1.76
	2.73	40	1.63 \pm 1.59
無添食	—	40	0.90 \pm 1.08

第1令中添食し、第5令期に調査した。

第3表 核酸塩基類似体の添食による油蚕斑の誘発 (ヘテロ油蚕)

添食物質	1個体当り平均添食量 μ M	供試個体数	1環節当り油蚕斑数
5-プロモデオキシウリジン (BUdR)	0.032	40	8.8 \pm 2.23
	0.074	29	18.1 \pm 5.61
5-プロモウラシル (BU)	0.28	40	6.7 \pm 2.16
	0.73	40	14.5 \pm 4.43
	2.21	40	19.5 \pm 6.47
2-アミノプリン (AP)	0.31	39	1.26 \pm 1.64
	0.94	40	1.73 \pm 1.54
	2.47	40	1.65 \pm 1.60
無添食	—	40	0.90 \pm 1.01

第1令中添食し、第5令期に調査した。

増加がみられる。また第3表から、ヘテロ油蚕における1環節あたりの油蚕斑数も同様に、AP の場合にはほとんど効果がみられないが、BU および BUdR の添食によって増加することがわかる。なお白斑と油蚕斑の出現頻度の違いは、対象としている遺伝子の差と、調査対象部位の差、すなわち白斑の場合は環節部であり、油蚕斑の場合は環節間膜部であることによるものであろう。

BU および BUdR 誘発変異斑の大きさ

BU または BUdR 添食によって誘発された変異斑は、いくつかの真皮細胞の集団、またはその集団によって形成された外皮から成っている。カイコの真皮細胞は第1令から第5令までに数回分裂し、外皮は各脱皮期ごとに新しく形成されるといわれている。そこで、第1令に BU または BUdR を添食して直ちに1個の変異細胞ができるものとすれば、何回かの分裂によって第5令には数個ないし数十個の変異細胞集団 (cluster) からなる変異斑を形成するものと考えられる。

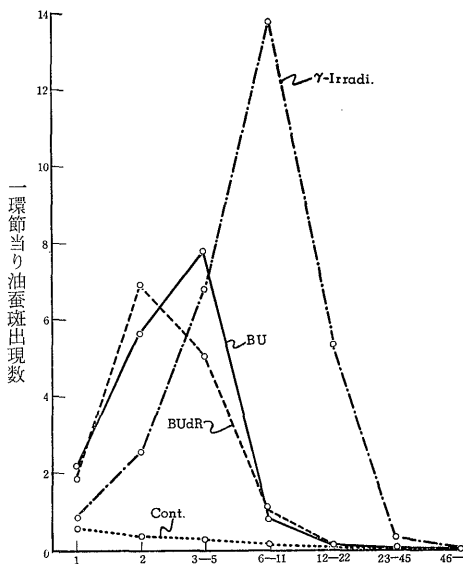
しかしながら、一般に微生物では核酸塩基類似体を取り込んですぐ突然変異が起こるのではなく、少なくとも2回分裂した後でない起こらない (Rudner, 1961; Strelzoff, 1962) ので、 γ 線照射の場合より遅れて起こると考えられている (Douney and Hass, 1959)。

そこでカイコにおいても BU および BUdR 添食と γ 線照射とで、このような差がみられるか否かを明らかにするため次の実験を行なった。すなわち、ヘテロ黒縞蚕またはヘテロ油蚕を用いて第1令中 BU または BUdR を添食するかまたは第1令36時間後に γ 線4000Rを照射し、それぞれ第5令4日目にほぼ正常に近い発育をした個体を選び、変異斑の大きさを調べた。なお、ヘテ

第4表 核酸塩基類似体誘発白斑の大きさ別の頻度 (ヘテロ黒縞蚕)

処理方法	処理時期	1個体平均添食量または照射線量	調査個体数	白斑の大きさ別の1環節あたりの白斑数				真皮細胞の大きさ(径) μ	1環節あたり真皮細胞数 $\times 10^3$
				<70 μ	70-140 μ	>140 μ	合計		
5-プロモデオキシウリジン添食	第1令中	0.07 μ M	27	4.82 (59.7)	3.15 (39.0)	0.11 (1.4)	8.05 (100)	26.9 \pm 2.9	709
5-プロモウラシル添食	"	1.04 μ M	52	2.50 (56.5)	1.85 (41.8)	0.08 (1.7)	4.42 (100)	30.6 \pm 2.8	714
γ 線照射	第1令時 36	4000R	78	10.30 (36.5)	12.55 (44.5)	5.38 (19.1)	28.23 (100)	28.2 \pm 2.4	710
無処理	—	—	80	0.60 (70.6)	0.20 (23.5)	0.05 (5.9)	0.85 (100)	29.6 \pm 2.3	725

調査は第5令期に行ない、()内は全白斑数に対する割合を%で示す。



油蚕斑の大きさ(一つの油蚕斑を構成する細胞数)
第2図 核酸塩基類似体誘発油蚕斑の大きさとその出現頻度との関係(ヘテロ油蚕)。

備考: BUdR および BU は第1令中, それぞれ個体平均 0.07 μ M および 1.26 μ M ずつ添食し, γ 線照射は第1令36時間目に4000R照射した。

口黒縞蚕の場合には正常の真皮細胞の大きさ(径)および1環節あたりの真皮細胞数も調査した。その結果は第4表および第2図の通りである。

第4表に示した1環節あたりの真皮細胞数は真の値を表わしたのではないが, 相対値として比較することは可能である。この値によって比較すると, 各処理区はいずれも無処理区との間に有意な差はみられないから, 処理によって真皮細胞の分裂回数は増減しないものと考えられる。

また真皮細胞の径は, もっとも影響のあったBUdR添

食の場合に無処理の場合の約91%となり, 白斑の大きさを比較する場合に補正が必要であるが, ここには測定値そのままを比較を行なった。まず, 白斑の大きさについて比較すると, 径140 μ 以上のものは, γ 線照射の場合には5.38個で白斑全体の19.1%にあたるのに対して, BUおよびBUdR添食の場合には0.1個内外で無処理区と差がなく, 全白斑の2%以下にすぎない。また γ 線の場合には70~140 μ のものをもっとも多いのに対して, BUまたはBUdR添食および無処理の場合には70 μ 以下のものが比較的多い。したがって, BUまたはBUdR添食の方が γ 線照射よりも白斑は全体的に小さいことになる。以上の比較には大きさによる補正がされていないので, 観察時までの白斑内細胞の分裂回数の多少を厳密に論ずることは困難である。そこでこれを補ぎなうために, ヘテロ油蚕を用いて変異斑の大きさを細胞数で比較した。すなわち, 第2図に示すように, BUまたはBUdR添食では2~5個の細胞から成る油蚕斑がもっとも多く, γ 線照射では6~11個のものをもっとも多くなることがわかる。

以上の事実をもとに考えられることは, BUまたはBUdRによる変異細胞出現の時期は, γ 線の場合よりも遅く, したがって添食直後ではなく, 少なくとも1.2回以上分裂した後であろうということである。この点, 微生物での結果とよく似ている(RUDNER, 1961; STRELZOFF, 1962)。

BU および BUdR の変異斑誘発におよぼすアミノプテリンの影響

BU および BUdR は DNA を構成する塩基の一つであるチミンまたはその nucleoside であるチミジンの類似体として知られており, チミンまたはチミジンと競合して DNA に取り込まれるといわれている(ZAMENHOF *et al.*, 1956a, 1959)。一方, アミノプテリンは葉酸の拮抗

物質として知られており、この作用を通して DNA-チミジンの生成を阻害するといわれている (FRIEDKIN and ROBERTS, 1956)。したがって、BU または BUdR とアミノプテリンとを併用した場合には、BU または BUdR の DNA への取り込みが促進されて、その効果は単独の場合よりもさらに増大するものと思われる。

そこでヘテロ油蚕を用いて、第1令中 BU または BUdR とアミノプテリンとを同時に添食し、致死および変異斑誘発効果が増大するか否かを調べた。その結果は第5表の通りである。

第5表 核酸塩基類似体の油蚕斑誘発におよぼすアミノプテリンの影響 (ヘテロ油蚕)

添 食 物 質	供 試 個 体 数	死 亡 率 %	1 環 節 当 り 油 蚕 斑 数
5-プロモデオキシウリジン (0.084 μ M)	100	46	15.8 \pm 3.9
5-プロモデオキシウリジン (0.081 μ M)+アミノプテ リン (0.089 μ M)	100	42	16.9 \pm 4.4
5-プロモウラシル (0.76 μ M)	100	44	18.5 \pm 6.2
5-プロモウラシル (0.75 μ M) +アミノプテリン (0.085 μ M)	100	33	40.1 \pm 9.6
アミノプテリン (0.088 μ M)	100	12	1.63 \pm 1.59
無 添 食	100	5	1.01 \pm 1.14

第1令中に添食、()内は1個体当たり平均添食量、調査は第5令期に行なった。

第5表から、アミノプテリン添加によっても死亡率はほとんど変化がないか、逆に減少する傾向さえみられる。油蚕斑出現頻度に対するアミノプテリン添加の影響は、BUdR の場合はほとんど認められないが、BU の場合には変異斑数の増加となって現われる。

そこで BU と BUdR とでアミノプテリン併用効果が異なる理由について考えてみる。まず DNA-チミジンの生成には二つの系が知られており、一つは DNA 中に直接チミジンを取り込む系で、他はデオキシウリジンとフォーマートを同時に DNA に取り込んでチミジンを合成する系である (FRIEDKIN and ROBERTS, 1956; KIT *et al.*, 1958)。この後の系でデオキシウリジンの取込阻害物質としてアミノプテリンが (FRIEDKIN and ROBERTS, 1956)、またフォーマートの取込阻害物質として BUdR が知られているが、BU にはこの作用がないという (KIT *et al.*, 1958)。このように BUdR とアミノプテリンとは阻害方法は異なるが、同じ DNA-チミジンの合成系を阻害するという点では共通している。したがって DNA-チミジンの合成阻害は、BUdR 添食の場合

はアミノプテリンの有無に関係なく起こるが、BU 添食ではアミノプテリンを併用した時だけ起こると考えられる。一方、BUdR や BU の DNA への取り込みは、DNA-チミジンの合成阻害が大きいほど多いといわれている (鈴木, 1978)。したがって BUdR 添食の場合にはアミノプテリンの有無に関係なく、常に多量の BUdR が DNA に取り込まれることになり、BU 添食の場合にはアミノプテリンを併用したときだけ DNA-チミジンの合成阻害が起こり、より多くの BU が DNA に取り込まれて変異斑誘発頻度を高めるものと考えられる。しかしながらカイコでは DNA-チミジンの合成系や、この系に対する BUdR やアミノプテリンの作用はまだほとんどわかっていないので、この面からの究明とそれにもとづく再検討が必要である。

雌雄による変異斑出現頻度の差

ヘテロ黒縞蚕の遺伝子型は p^s/p で雌雄による差はないが、ヘテロ油蚕の場合は雌は W/+^{od}、雄は +^{od}/od で雌雄差がみられる。そこで、BUdR による変異斑誘発頻度の雌雄差を調べるために、以上の他に雌雄とも p^s/p^s なるホモ黒縞蚕と、雌が W/+^{od}、雄が +^{od}/+^{od} なる正常蚕 (支110号) を供試して実験を行なった。その結果は第6表の通りである。

第6表 BUdR による変異斑誘発頻度の雌雄差

系 統	供試蚕の 雌雄と 遺伝子型	1 個 体 平 均 BUdR 添 食 量	供 試 個 体 数	1 環 節 当 り 変 異 斑 数 *	
				白 斑	油 蚕 斑
ヘテロ 黒縞蚕	♀ p ^s /p	0.054 ^{μM}	30	5.40 \pm 2.38	—
	♂ "		30	5.85 \pm 2.17	—
ホモ 黒縞蚕	♀ p ^s /p ^s	0.049	30	0.21 \pm 1.46	—
	♂ "		30	0.09 \pm 1.98	—
ヘテロ 油 蚕	♀ W/+ ^{od}	0.064	30	—	23.1 \pm 6.7
	♂ + ^{od} /od		30	—	13.4 \pm 4.1
正常蚕	♀ W/+ ^{od}	0.067	30	—	21.6 \pm 6.3
	♂ + ^{od} / + ^{od}		30	—	1.20 \pm 1.69

第1令中添食した。*は無添食区の変異斑数を差し引いた数値を示す。

第6表から、ヘテロ黒縞蚕およびホモ黒縞蚕の白斑出現頻度には全く雌雄差がみられないことがわかる。これは雌雄の間に遺伝子型の差がないためであろう。しかしながらホモ黒縞蚕の白斑出現頻度は著しく低く、無添食と大差がないが、それはホモ黒縞蚕は二つの p^s 遺伝子をもつので、白斑が出現するためには二つの p^s が同時に変異を起こさなければならないが、そのような確率は極めて低いとと考えられる。

一方、油蚕斑出現頻度をみると、ヘテロ油蚕の場合には雌は雄の約2倍も高いが、正常蚕の場合には雌は極めて高いにもかかわらず、雄は極めて低く無添食と大差がない。正常蚕の場合に雌と雄とで出現頻度が極端に違うのは、両者の遺伝型の差がヘテロ黒縞蚕とホモ黒縞蚕との遺伝子型の差と同じ関係にあるためであろう。次にヘテロ油蚕の場合に雌雄差が現われる理由について考えてみる。 $+^{od}$ 遺伝子は Z(性)染色体に所属するが、Z染色体にはこの他に os 油蚕の正常優性遺伝子として $+^{os}$ があるから、ヘテロ油蚕雌の遺伝子型は $W/+^{od}+^{os}$ で、 $+^{od}$ と $+^{os}$ のいずれに変異が起こっても油蚕斑となるが、雄の遺伝子型は $od+^{os}/+^{od}+^{os}$ であるから油蚕斑の出現はほとんどすべて $+^{od}$ 遺伝子の変異によるもので、結局雌雄の油蚕斑出現頻度は約 2:1 となるものと考えられる。

この実験からカイコでは BU や BUdR によって成長阻害、致死および変異斑誘発が起こることがわかったが、AP ではほとんど効果がみられなかった。この結果はコナダラメイガでの結果とほぼ一致している (CASPARI *et al.*, 1955)が、微生物では AP も BU や BUdR 同様に有効であるといわれている (FREESE, 1959; RUDNER, 1961)。このような微生物と昆虫の差がいかなる機構で起こるかは不明であるが、種によって異なることは興味あることである。また、BU や BUdR とアミノプテリンとの併用効果は昆虫ではまだ確認されていないが、この実験でカイコの変異斑誘発に対して、BU とアミノプテリンとの併用効果がみとめられた。

最後に BU や BUdR によって誘発された変異斑が突然変異であるか、非遺伝的変異であるかについて考えてみる。

微生物では BU や BUdR が突然変異誘発作用をもつことは、二・三の例外 (ZAMENHOF *et al.*, 1956b) を除いてほぼ確定的である (FREESE, 1959; DAWSON and McMAHON, 1954; TERZAGHI *et al.*, 1962; WITKIN and SINCURELLA, 1964)。一方、動物の場合には BUdR が DNA に多量に取り込まれる (DJORDJEVIC and SZYBALSKI, 1960) にもかかわらず、突然変異誘発の確認された例は少なく、主なものはショウジョウバエの伴性劣性致死 (KAUFMANN *et al.*, 1962) とコナダラメイガの翅の鱗片形質の変異 (CASPARI *et al.*, 1965) とで、反対に否定的と考えられるものもいくつか報告されている (田島, 1962; KAHN and ALDERSON, 1968)。

本実験で得られた BUdR および BU 誘発変異斑も明らかに突然変異であるといえる確証はないが、次のいく

つかの理由から一種の体細胞突然変異とみてよいであろう。(1) これらの変異斑は γ 線誘発染色体異常と考えられる変異斑 (VIRK, 1959) と形態的に差のないこと。(2) 第5令に観察される BUdR および BU 誘発変異斑は数個の変異細胞から構成されており、一種の cluster と考えられること。これは BUdR または BU によって誘発された1個の変異細胞が、その変異した遺伝物質を以後数回の細胞分裂を通して子孫細胞に伝えて、同じ変異形成能をもつ多数の細胞集団を形成したことを意味するからである。(3) BUdR および BU 誘発変異斑の細胞数は、 γ 線誘発変異斑の細胞数の $1/2 \sim 1/4$ にあたること。これは微生物で γ 線誘発突然変異はすぐ後の細胞分裂時に確立される (DOUDNEY and HASS, 1959) が、BUdR の場合はそれより少なくとも2回多く分裂した後、はじめて確立されるという結果 (RUDNER, 1961; STRELZOFF, 1962) と一致するからである。(4) 変異斑の形質は供試蚕のもつ優性形質の突然変異型として期待される劣性形質であったこと。(5) 変異斑の出現頻度が遺伝子型に依存すること。すなわちヘテロ黒縞蚕の白斑出現頻度はホモ黒縞蚕より著しく高く、またヘテロ油蚕や正常蚕では、伴性形質と考えられる油蚕斑の出現頻度に雌雄差がみられることである。

以上の理由から、この変異斑は一種の体細胞突然変異とみることができ。しかし、もう一つの観点から、この変異斑は体細胞の染色体交叉 (somatic crossing over) によるという可能性も残こされているが、ヘテロ黒縞蚕に BUdR を添食しても白斑は現われるが、 p^s/p^s なる濃黒色斑が全然現われないことから、この可能性は否定される。

摘 要

カイコにおよぼす核酸塩基類似体の影響を明らかにするために、ヘテロ黒縞蚕およびヘテロ油蚕を用いて、第1令中 5-プロモウラシル(BU)、5-プロモデオキシウリジン (BUdR) または 2-アミノプリン (AP) を添食して、幼虫の発育状況、死亡率および変異斑 (ヘテロ黒縞蚕からの白斑ならびにヘテロ油蚕からの油蚕斑) 誘発頻度を調べた。なお1個体あたり平均添食量は BUdR, BU および AP それぞれ $0.028 \sim 0.161 \mu\text{M}$, $0.27 \sim 2.21 \mu\text{M}$ および $0.31 \sim 2.73 \mu\text{M}$ であった。

1) 発育阻害、致死および変異斑誘発に対する効果は BUdR がもっとも大きく、BU がこれに次ぎ、AP はほとんど効果がなかった。

2) 第5令に変異斑の大きさを測定した結果、BUdR

添食の場合には γ 線照射の場合の1/2~1/4であった。しかし両者の間に形態的な差は認められなかった。

3) アミノプテリンの併用によって、BUでは変異斑誘発頻度が高められたが、BUdRでは併用効果は認められなかった。

4) BUdR誘発変異斑の形質が伴性形質である場合に限り、その頻度に雌雄差が認められた。

5) 以上の結果にもとづき、BUdRおよびBU誘発変異斑は、体細胞突然変異によるものであろうと考察した。

引用文献

CASPARI, E., W. MUTH and H. J. POHLEY (1965) Effects of DNA base analogues on the scales of the wing of *Ephesia*. *Genetics* **51** : 771~794.

CHUN, E. H. L. and J. W. LITTLEFIELD (1961) The separation of the light and heavy strands of bromouracil-substituted mammalian DNA. *J. mol. Biol.* **3** : 668~673.

DAWSON, G. W. P. and P. C. McMAHON (1964) Mutants of *Salmonella typhimurium* induced by 5-bromodeoxyuridine. *Nature* **204** : 1226~1227.

DJORDJEVIC, B. D. and W. SZYBALSKI (1960) Genetics of human cell lines. III. Incorporation of 5-bromo and 5-iodo-deoxyuridine into deoxyribonucleic acid of human cells and its effect on radiation sensitivity. *J. exptl. Med.* **112** : 509~531.

DUNN, D. B. and J. D. SMITH (1957) Effects of 5-halogenated uracils on the growth of *Escherichia coli* and their incorporation into deoxyribonucleic acids. *Biochem. J.* **67** : 494~506.

DOUDNEY, C. O. and F. L. HASS (1959) Mutation induction and macromolecular synthesis in bacteria. *Proc. natn. Acad. Sci. U. S. A.* **45** : 709~722.

FRESE, E. (1959) The specific mutagenic effect of base analogues in phage T₄. *J. mol. Biol.* **1** : 87~105.

FRIEDKIN, M. and D. ROBERTS (1956) Conversion of uracil deoxyriboside to thymidine of deoxyribonucleic acid. *J. biol. Chem.* **220** : 653~660.

HAKALA, M. T. (1962) Effect of 5-bromodeoxyuridine incorporation on survival of cultured mammalian cells. *Biochim. Biophys. Acta* **61** : 815~823.

Hsu, T. P. and C. E. SOMERS (1961) Effect of 5-bromodeoxyuridine on mammalian chromosomes. *Proc. natn. Acad. Sci. U. S. A.* **47** : 396~403.

KAHN, A. H. and T. ALDERSON (1968) Studies of the mutagenic ability of nucleic acid base-analogues in

Drosophila. *Mutation Res.* **5** : 155~161.

KAUFMANN, B. P., H. GAY, J. BUCHANAN, A. WEINGART, K. MARUYAMA and A. A. KEY (1962) Organization of cellular materials. *Carnegie Inst. Wash. Yearbook* **61** : 466~474.

KIT, S., C. BECK, O. L. GRAHAM and A. Gross (1958) Effect of 5-bromodeoxyuridine on deoxyribonucleic acid thymine synthesis and cell metabolism of lymphatic tissues and tumors. *Cancer Res.* **18** : 598~602.

KRISS, J. P. and L. R. VÉSZ (1961) Quantitative studies of incorporation of exogenous thymidine and 5-bromouridine into deoxyribonucleic acid of mammalian cells *in vitro*. *Cancer Res.* **21** : 1141~1147.

LITMAN, R. M. and A. B. PARDEE (1960) The induction of mutants of bacteriophage T₂ by 5-bromouracil. III. Nutritional and structural evidence regarding mutagenic action. *Biochim. Biophys. Acta* **42** : 117~130.

松田健治 (1963) フキバタ精母細胞に及ぼす 5-bromouracil の影響 (予報). *遺伝雑* **38** : 305~308.

RUDNER, R. (1961) Mutation as an error in base pairing. II. Kinetics of 5-bromodeoxyuridine and 2-aminopurine-induced mutagenesis. *Z. Vererb.* **92** : 361~379.

STRELZOFF, E. (1962) DNA synthesis and induced mutations in the presence of 5-bromouracil. II. Induction of mutations. *Z. Vererb.* **93** : 301~318.

鈴木肇之 (1958) 核酸に含まれるプリンおよびピリジンアノールの生体核酸へのとりこみ. *蛋白質・核酸・酵素* **3** : 257~265.

田島弥太郎 (1962) 核酸の base-analogue による突然変異誘発実験. *文部省研究報告集録 (農学編) 昭 36, 総合研究* : 34~35.

TERZAGHI, B. E., G. S. STREISINGER and F. W. STAHL (1962) The mechanism of 5-bromouracil mutagenesis in the bacteriophage T₄. *Proc. natn. Acad. Sci. U. S. A.* **48** : 1519~1524.

TOLIVER, A. and E. H. SIMON (1967) DNA synthesis in 5-bromouracil-tolerant HeLa cells, an autoradiographic study. *Exp. Cell Res.* **45** : 603~617.

VIRK, D. S. (1959) Genetical studies on the effects of X-rays in the silkworm *Bombyx mori* L. I. Differential frequency of chromosomal fragmentation by X-ray treatment in F₁ hybrids of different female parents. *Jap. J. Genet.* **34** : 285~292.

WITKIN, E. M. and N. A. SINCURELLA (1964) Pure clones of lactose negative mutants obtained in *Escherichia coli* after treatment with 5-bromouracil.

- J. mol. Biol. 8 : 610~613.
 ZAMENHOF, S., B. REINER, R. De GIOVANNI and K. RICH (1956a) Introduction of unnatural pyrimidines into DNA of *Escherichia coli*. J. Biol. Chem. 219 : 165~173.
 ZAMENHOF, S., R. De GIOVANNI and K. RICH (1956b)

- Escherichia coli* containing unnatural pyrimidines in its deoxyribonucleic acid. J. Bacteriol. 71 : 60~90.
 ZAMENHOF, S., K. RICH and R. De GIOVANNI (1959) Studies on thymine-5-bromouracil "exchange" in deoxyribonucleic acids of *Escherichia coli*. J. Biol. Chem. 234 : 2960~2964.

新 刊 紹 介

Plant Parasitic Nematodes Vol. I, Vol. II.

- B. M. ZUCKERMAN, W. F. MAI and R. A. ROHDE 編集 (1971) Academic Press 発行, Vol. I, 345 ページ, Vol. II, 347 ページ

線虫学もここ 10 年間に著しく進歩してきたが、これらの進展をになってきた各専門家により執筆されている。I 巻には形態、組織、分類、および生態学などが含まれ、II 巻には遺伝、細胞、生理、生化学、寄主と寄生者の関係などの分野が含まれている。I 巻の各章と著者は次のとおり。1) 緒言, W. F. MAI. 2) 比較形態学と組織学, Hedwig HIRSCHMAN. 3) 植物寄生性線虫の起源, A. R. MAGGENTI. 4) 形態、機能と行動, H. D. CROFTON. 5) 分類の科学, G. W. BIRD. 6) Heterodeidae の分類, Mary T. FRANKLIN. 7) Dorylaimida の分類, Virginia R. FERRIS. 8) Tylenchida 目の分類, A. Morgan GOLDEN. 9) 土壌における生物的影響, Richard M. SAYRE. 10) 土壌における非生物的影響, H. R. WALLACE. 11) 土壌検針方法, K. R. BARKER and C. J. NUSBAUM. 12) 密度の変動, C. J. NUSBAUM and K. R. BARKER. II 巻の各章と著者は次のとおり。13) 遺伝と細胞学, A. C. TRIANTAPHYLLOU. 14) 寄生性への適応, Alan F. BIRD. 15) 生物的系统 (Biological races), Dieter STURHAN. 16) 酵素, K. H. DEUBERT and R. A. ROHDE. 17) シンシチュウム (巨大細胞) と Heterodridae における寄主・寄生者の関係, Burton Y. ENDO. 18) 病原微生物との関係, N. T. POWELL. 19) 摂食活動における機構と行動, C. C. DONCASTER. 20) Gnotobiology (無菌飼育), B. M. ZUCKERMAN. 21) ウイルスのベクター, C. E. TAYLOR. 22) 化学組成, L. R. KRUSBERG. 23) 呼吸, R. A. ROHDE. 24) 交接と寄主見出行動, C. D. GREEN. 25) 脱皮・ふ化への刺激, Audey M. SHEPHERD and

- A. J. CLARKE. 26) 殺線虫剤の作用機作, C. E. CASTRO and I. J. THOMASON. 27) 生存, 休止, cryptobiosis, A. F. COOPER, Jr. and S. D. VAN GUNDY. 未発表のデータも含まれており、近年線虫の研究に導入された実験方法も項を別にして書かれている。また、多くの表を用いて簡結に書かれ、近年における線虫研究の進歩が理解し易くなっている。

(農技研 三井 康)

- Insect Pollination of Crops.** J. B. FREE 著 (1970), 544 ページ, Academic Press 発行

最近、農薬公害で重要視されている受粉昆虫の概説書で、著者はイギリスのローザムステッド農業試験場に所属し、長年受粉昆虫にたずさわっている専門家である。本書は、昆虫学や生態学にたずさわる者ばかりでなくて、育種や園芸の分野の者をも対象にしており、ミツバチを中心とした受粉昆虫の習性や利用のための基礎知識が平易に解説されている。

内容は 2 部分に分れ、第 1 部では受粉者として利用できる昆虫の概説で、ミツバチの訪花習性、ミツバチの社会、受粉者としてのミツバチの利用、ハナバチの利用、孤独性ハナバチの利用、受粉昆虫を囲いに入れて受粉させる場合などの章に分れる。第 2 部は作物の側から見たもので、主な作物の科を章ごとに取りあげ、それぞれ花の構造を受粉との関連で取り上げ、受粉の必要性、通常その作物の受粉に関与している昆虫とミツバチの能力、ミツバチを利用したときの収穫増、その作物に対しての受粉昆虫の習性、その作物の生産する蜜や花粉とそれのミツバチに対する価値、ミツバチ利用の際の必要なコロニー数などが順次解説されている。図や写真も豊富で、文献も良く紹介されており、受粉昆虫の解説書としてすぐれたものといえよう。

(農技研 中村 和雄)