

白色死蚕の遺伝学的研究

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	土井, 良宏 筑紫, 春生 木原, 始
巻/号	42巻6号
掲載ページ	p. 411-416
発行年月	1973年12月

白色死蚕の遺伝学的研究

土井良 宏・筑紫春生・木原 始

福岡市・九州大学農学部
(1973年2月12日受理)

カイコの幼虫期における致死形質としてはこれまでアルビノ (*al*) および黄色死蚕 (*lemi*) が知られている。両形質ともに不伴性の劣性遺伝子に支配されるが、ホモ個体は通常の場合には正常に孵化し、1齢期間中は正常形質を呈する。ところが、2齢起蚕時に至り白色 (*al*)、あるいは黄色 (*lemi*) となり、ほとんど食桑不能のまま致死する (鈴木, 1950; 田中, 1952)。*lemi* は辻田 (1955) により *lem* (3-0.0) の複対立遺伝子であることが確認されたが、*al* については所属連関群さえ久しく未知のままであった。

1969年春蚕期、九大農学部保存の1系統に1眠起後白色を呈し致死する個体が少数出現した。著者らはこの2齢起白色致死性が遺伝的であり、既知の *al* と同じ遺伝子座を占めることを確認し、これを第2アルビノと呼びさらに *al* の連関分析を行なった。その一部は既に発表したが (土井良ら, 1970; 筑紫ら, 1972; CHIKUSHI, 1972), ここにその詳細を報告する。

本研究を行なうに当り、*al* 系統は国立遺伝学研究所辻田光雄博士から分譲を受けた。また九州大学農学部における家蚕の系統保存は文部省系統維持費の援助を受けて行なわれている。記して謝意を表する次第である。

材料および方法

1960年九大農学部保存の *e03* (*oew*) 系統と *p22* (正常, 日本錦) 系統との間で交雑を行ない、 F_2 に分離した *oew* をとり、再度 *p22* 系統と交雑、*oew* 個体を選び *Q05* 系統として維持してきた。最初の交雑から13世代目に当る1969年第1蚕期に、保存飼育中 (15蛾混合育) の *Q05* 系統の2齢起蚕、総数約1,000頭中に白色を呈する個体を17頭見出した。この白色個体を集めて別飼育としたが、ほとんど食

桑不能のまま全部が起蚕時から24時間以内に収縮、乾燥して死滅した。したがって2齢起蚕白色個体による直接的な継代調査は不可能となったが、後述するように、同区の正常蚕相互の交配により、2齢起白色致死蚕を分離する系統として確立することができた。そこでこの2齢起白色致死形質の遺伝子分析、特に形質発現における *oew* の白卵油蚕性との関連の有無、既知 *al* 遺伝子との異同を調べ、次で連関検索を行ない、さらに3点実験による *al* 遺伝子の座位決定を行なった。

2齢起白色致死形質はホモ致死であり、ヘテロ個体は正常ホモと表型的には識別不能であるため、他系統との交雑を行なうに際しては常に本系統を雄にとり、所定の交配後さらに本系統雌に再交し、再交蛾区に2齢起白色死蚕が分離することを確認し得た区のみについて爾後の調査を行なった。

連関検索に際しては、*Y*(2), *Ze*(3), *L*(4), *re*(5), *E_{KP}*(6), *st*(8), *I-a*(9), *oew*(10), *K*(11), *cts*(16), *bts*(17), *mln*(19), *or*(?), *rb*(?)の諸遺伝子 [()内は所属連関群] を用い、 F_2 あるいは白色致死ヘテロ個体との戻し交雑により検定を行なった。なお *q*(7), *Ng*(12), *ch*(13), *U*(14), *Se*(15), *bl*(18), *nb*(20) などとの関係は、 F_1 作成時の再交検定、あるいは F_2 において白色死蚕分離区が得られず欠調となった。

結 果

1. 第2白色死蚕系統の育成

前述の如く、*Q05* 系統に分離した2齢起白色蚕はすべて斃死し、直接後代調査に用いることはできなかった。そこでこの2齢起白色蚕が劣性致死遺伝子 (検定中 *alb* と仮称) により発現されると仮定して、同系統における *alb* 遺伝子の頻度を *p*, +*alb* 遺

伝子の頻度を q とすると, alb ホモ個体が約 1,000 頭中に 17 頭見出されたのであるから $p = \sqrt{0.017} = 0.13$ となり, $alb/+$ のヘテロ個体の割合は $2pq = 0.23$ と推定される。したがって任意に交配を行ない, 1 蛾育すれば次代の約 5% の蛾区 (0.23^2) において alb ホモ個体が分離すると期待し得る。この推定に基づき次代を 1 蛾育により 55 区検定したところ, 53 区では正常蚕のみを生じたが, 2 区においては期待通り正常蚕と alb とを, 196 : 55 および 102 : 33, 合計 +298 : alb 88 に分離した。ここで alb を分離した 2 区の次代では, 総蛾区中, 再び alb が分離する蛾区の確率は $4/9$ と期待される。次代 20 蛾区を調査した結果, 11 区において alb を分離した。その数比は合計で, 正常 1,907 : 白色死蚕 628 であった。いずれの場合においても + と alb との分離比は 3 : 1 であるとみなすことができるので, この 2 齢起白色致死形質は単純劣性致死遺伝子 (仮称 alb) により発現されるものと推察される。

このようにして alb を系統的に確立することができたが, その形質の特徴は次の如くである。 alb ホモ型個体の胚子発育ならびに 孵化は正常に行なわれ, かつ 1 齢期間中は正常幼虫 (oew) と識別できない。1 眠起後表皮クチクルがほとんど着色せず白色を呈し, 頭部においてもかすかに黄褐色を帯びるに過ぎない。また, 半月紋などの斑紋部も着色しない。致死時期には個体により若干変動があるが 1 眠起後数時間ないし 30 時間以内であり, ほとんど食桑しないまま収縮, 乾燥して斃死する。

このような特徴ある形質発現を行なう alb 遺伝子は, Q05 系統に自然突然変異として新に生じた劣性致死遺伝子であろうと考えられるが, 本系統は白卵でしかも稚蚕期から幼虫皮膚透明度の高い油蚕 oew であるので, その高度油蚕性と 2 齢起白色致死性との関連の有無を調べた。 oew , alb 両形質について正常の p22 系統雌と $oew; alb/+$ 雄との交雑 F_1 はすべて正常蚕となった。 F_1 雌に Q05 系統雄を戻し交雑し, 13 蛾区を調査したが, その中の 2 区において alb が分離した。その数比は合計で ++237 : + alb 71 : oew + 230 : $oew alb$ 72 である (第 1 表 A)。 F_1 雄を Q05 系統雌に配した逆交では 25 蛾区中の 8 区に alb を分離, その数比は ++798 : + alb 291 : oew + 702 : $oew alb$ 215 である (第 1 表 B)。

oew のみならず + oew にも alb が分離したことが

第 1 表 2 齢起白色致死蚕 (alb) と oew との関係

	+		oew	
	+	alb	+	alb
(A) +/ oew ; +/ alb × oew/oew ; $alb/+$	121	33	118	40
	116	38	112	32
(B) oew/oew ; $alb/+$ × +/ oew ; +/ alb	102	33	92	21
	133	49	105	34
	67	26	38	16
	124	47	124	36
	56	17	63	16
	114	35	112	40
	70	33	73	19
	132	51	95	33

ら, この 2 齢起白色致死性は oew の白卵高度油蚕性とは無関係に発現し得るものであることが明らかである。ただし, 遺伝子型 + oew ; alb においては, 表皮クチクルが遺伝子型 $oew; alb$ に比し黄褐色を帯び, また斑紋部も + alb より弱いながらも着色するようになる。したがって oew の共存下においては alb の遺伝子作用は強調されて発現すると言える。

また第 1 表に掲げた分離結果は, 正逆いずれの交配においても ++ : + alb : oew + : $oew alb$ の分離比が 3 : 1 : 3 : 1 であることを示している。すなわち alb 遺伝子は oew とは異なり, 第 10 連鎖群には所属しないことも明らかである。

上述の結果から Q05 系統に生じた 2 齢起白色致死形質は, 不伴性の 1 劣性遺伝子により発現されることが明白であるので, これを仮に第 2 白色死蚕, 記号 alb として以下の実験を進めた。

2. 第 2 白色死蚕 (alb) とアルビノ (al) との関係

第 2 白色死蚕はその形態の特徴, 致死時期などの点で既知のアルビノに酷似しているため, まず alb と al との遺伝子の異同を調べた。 alb , al とともに不伴性, 劣性であることは確認済みであるから, 両系統間で交配を行なった場合, もしも alb が al と同じ遺伝子座の“反復突然変異”であれば, 確率的にみて全交雑蛾区数の $4/9$ の蛾区において 2 齢起白色致死蚕を分離することが期待される。また alb と al とが遺伝子座を異にすれば, 当然白色致死蚕は分離

しないわけである。*alb* 系統と *al* 系統との交雑 F_1 13 蛾区を調査した結果、6区においては正常蚕のみを生じたが、7区においては正常蚕と2齢起白色致死蚕とが分離した。これら7区における正常と白色致死との分離は合計で、+1,600：白色致死蚕522であった。したがって *alb* は *al* 遺伝子座に生じた“反復突然変異”とみることができる。

次で *alb* と *al* との生存テストを行なった。*al* は1920年田中によって発見されて以来、九大農学部における保存の歴史において2齢を超す個体は1例も観察されていない。今回の調査においても桑葉育によつては2齢を超す個体を得ることはできなかった。辻田・桜井(1971)、TSUJITA and SAKURAI (1971)によると *al* は人工飼料育によつて極少数が3齢に、またその一部が4齢にまで達したのが生存の最長記録であるという。一方、*alb* では普通条件の飼育によつてはすべて2齢期間中に斃死したが、極端な軟葉を用い、しかも湿度を十分に高く保つことにより2齢を超す個体を得ることができた。その1例を示せば *alb* の2齢起蚕を300頭とり、この軟葉、多湿条件で飼育したところ、3齢21頭、4齢12頭、5齢7頭(いずれも起蚕時頭数)と齢を重ね、さらに1頭は5眠して6齢となり、2日後に斃死した。もっとも発育経過は遅延し、かつ、不斉一であり、虫体肥大は著しく劣り5齢起蚕時においても正常蚕の3齢中期における程度であつて、営繭、化蛹に至る個体を得ることはできなかった。各齢における致死期は2齢における場合と同様、ほとんどが脱皮後24時間前後である。*alb/al* のヘテロ型個体においても5齢まで発育する個体を得ることができたが、営繭、化蛹には至らなかった。

さらに2齢起蚕時に正常型、*al* ホモ型、*alb* ホモ型幼虫をそれぞれ200頭とり、25°C 湿度55%の乾燥デシケーターに絶食状態で保護してみた。*al* および *alb* では15時間以内に全個体が収縮、固化して斃死したが、正常幼虫では斃死する個体は皆無であつた。一方、25°C 湿度95%のデシケーターに保護した場合は、24時間後においてもなお *al*、*alb* とともに約半数の個体は生存していた。したがって白色死蚕の致死原因は従来言われてきたように、食桑しえないため“餓死”する(田中, 1952; 辻田・桜井, 1971)のではなく、より直接的には体内水分を保持し得ず、急速に水分を失うため致死するものと考えられ

る。

前述のような *al*、*alb* 両形質個体の致死期の相異には系統的な差異を考慮に入れる必要はあるが、*alb* が発見された Q05 系統の起源である e03, p22 両系統は、*al* 系統と血縁関係を持たないことと併せ考えれば、*alb* は *al* と座位を同じくする新突然変異であると判断される。したがって *alb* は *al* と対立しないしは偽対立関係にあると解すべきであり、これを第2アルビノ *albino* 2 (記号、 al^2) と命名する。

3. al^2 の連関検索

前述のように al^2 は第1, 10 連関群とは独立である。さらに広汎な連関検索を行なった結果、第2 (*Y*)、3 (*Ze*)、4 (*L*)、6 (*Ekp*)、8 (*st*)、9 (*I-a*)、11 (*K*)、16 (*cts*)、17 (*bts*)、19 (*mln*) 連関群ならびに *or*、*rb* の両遺伝子ともすべて独立であつた〔() 内は用いた標識遺伝子〕。一方、赤卵 (*re*, 第5 連関群) との交雑 F_2 8 蛾区につき、正常色卵と赤色卵とに分けて飼育した結果、6 蛾区では正常色卵区、赤色卵区のいずれにおいても正常蚕のみを生じた。ところが、2 蛾区においては正常色卵区では+と al^2 とが略 2:1 の比に分離したのに対し、赤色卵区では正常幼虫のみであり al^2 ホモ型は分離しなかつた(第2表)。2 蛾区合計の分離数は、++364 : + al^2

第2表 al^2 と *re* との連関 (*re*+/+ al^2 相互交配)

卵色	+		<i>re</i>	
	+	al^2	+	al^2
幼虫形質	201	80	62	0
分離	163	82	55	0

162 : *re* + 117 : *re al^2* 0 である。この分離比を 2:1 : 1:0 とみるには無理があるが ($P < 0.001$)、これは主として *re* 区での孵化歩合が低く、*re*+ al^2 個体数が少ないためである。*re al^2* の2重劣性個体が1頭も分離しないのであるから、 al^2 は *re* と連関する。すなわち、第5染色体上に占座するものと言える。

4. 3点実験による *al* 遺伝子座の確定

al 遺伝子座の決定に先立ち、まず標識遺伝子選定のため al^2 と *re* との遺伝子間距離の推定を試みた。前述の *re* との交雑 F_2 で al^2 を分離した蛾区における正常卵色正常個体には、*re* に関し *re*/(+ (比率:

$2n+1/2(n+1)$, 非交叉型および交叉型) と $+/+$ (比率: $1/2(n+1)$, 交叉型) とが混在している。したがってこれを re ホモと交配することにより $re-al^2$ の組換価を算出することができる。検定結果は $re/+169: +/+10$ であり, $re-al^2$ 間の組換価は 11.2% となる。

この予備調査の結果に基づき pe (0.0), re (31.7) 両遺伝子を基準に選び, 3点実験による al 遺伝子の座位決定を試みた。すなわち, $pe\ re\ al/pe\ re+$ 系統を育成し, $+++$ と交雑, F_2 における分離を調べた。 F_2 蛾区において al を分離する蛾区の出現する確率は全体の $1/4$ である。 F_2 43蛾区を得てまず卵色の分離を調べ, 次に各蛾区を正常色卵 ($+pe+re$), 淡紅色卵 ($pe+re$ および $pe\ re$), 赤色卵 ($+pe\ re$) の3区に分け, 各々個別に飼育, 第1眠起後における al の分離を調べた。飼育に際してはまず淡紅色卵区を掃立て, al を分離した蛾区についてのみさらに正常色卵区, 赤色卵区を掃立て al の分離を調査した。43蛾区中の14蛾区に al を分離したが, その結果を一括して第3表に示す。表中, 卵色の分離結果も幼虫期に al を分離した区のみについてのデータである。

第3表 $pe-re-al$ の組換 ($pe\ re\ al/+++$ 相互交配)

卵 色	正 常	淡 紅*	赤**
		3, 552	1, 319
幼虫形質	+ al	+ al	+ al
	3, 223 65	333 645	1 279

* $pe+re$ および $pe\ re$

** $+pe\ re$

$pe+re$ ならびに $pe\ re$ の遺伝子型では, 両者は識別不能でいずれも淡紅色卵となるが, 卵色の分離結果から $pe-re$ 間の組換価を計算すると 28.16% となる。次に各卵色区における幼虫形質の分離結果からして, これら3遺伝子の配列順序は $pe-re-al$ の順であると判断され, 各遺伝子間の組換価は $pe-re$ 間: 24.64%, $re-al$ 間: 5.80% となり, $pe-al$ 間は淡紅色卵正常幼虫数 ($pe-re$ 間組換型と $re-al$ 間組換型との混合) から算出すると 29.32% となる。

考 察

通常の場合, カイコの系統は混合育により維持保存されている。このような混合集団に新しい突然変異を生じて, それが劣性でしかもホモ致死である場合には, 適切な対策がとられなければ貴重な変異形質を系統として確立し, 確保することはできない。無制限に飼育量を拡大することは実際上不可能であり, 第2アルビノの場合もこの困難に逢着したわけである。このような場合には本報におけるように, まず遺伝子頻度を推定し, その上で飼育量を決定することが有効かつ合理的な方策となる。

カイコにはこれまで多数の致死遺伝子が知られているが, そのほとんどは胚子期に致死するものであり, 幼虫期の特定時期に, しかも表型的変化を伴って致死するアルビノ, 黄色死蚕は極めて特異的な形質である。両致死形質の発現機構は TSUJITA and SAKAGUCHI 1955, TSUJITA and SAKURAI (1970, 1971), 辻田・桜井 (1971) により詳細な研究が行なわれているが, al ホモ型幼虫の致死の直接原因は外皮の不完全分化であって, それはフェニルアラニン・チロシン代謝およびこれと緊密な関連を有するプテリジン代謝の異常によりもたらされるという。辻田・桜井 (1971) はこれら代謝系異常の総合的結果として al ホモ幼虫では外皮におけるメラニンの形成が著しく少なく, かつ外皮の硬化が不完全で, “食桑しえないため餓死する” としている。しかし al および al^2 では1眠起後30時間以内, 早いものでは数時間以内に致死するものであって, 斃死蚕のほとんどは収縮固化しており, 特に乾燥下におけばこの傾向は著しく, かつ致死までの時間も短縮される。また al^2 では軟葉育と併せ高湿下に保護して始めて2齢を越す個体が得られたのである。したがって白色死蚕の致死原因は外皮の不完全分化にあり, 口器の硬化不全による食桑困難ということにも疑問の余地はないが, 一義的に“餓死”であるとは考え難く, むしろ辻田・桜井 (1971), TSUJITA and SAKURAI (1971) が明らかにした外皮の量的質的不全と, 内外角皮の構造異常とが相俟って急速に体内水分を失うことによると考える方が妥当であろう。

第2アルビノ系統とアルビノ系統との交雑 F_1 に白色致死蚕を分離したことは, 第2アルビノ遺伝子が al および $+al$ 遺伝子と複対立ないしは偽対立関

係にあることを示している。 al^2/al のヘテロ型個体が化蛾は勿論、営繭、化蛹にも至り得ないため、両者の遺伝子の関係をさらに追求することは不可能であったが、 al^2 が al と同じ *cistron* に属することは明らかである。さらに al^2 と re との交雑 F_2 において al^2 ホモ型は $+re$ 区にのみ分離し re 区には全然分離しないのであるから、両者は同一連関群に属する、したがってまた、 al も re と同じく第5染色体上に占座すると言える。

第3表に示した $pe\ re\ al/+++$ 相互交配の F_2 世代における分離結果からして、これら3遺伝子の配列は $pe-re-al$ の順であると判断される。しかし各卵色群における幼虫形質調査時での個体数の卵数に対する比を仮に生存率として算出すると、正常色卵区：92.56%、淡紅色卵区：74.14%、赤色卵区：75.88% となり、交叉価の決定に当ってはこれを補正する必要がある。生存率をそれぞれ100%として幼虫形質分離数を補正すると第4表の如くなる。

第4表 $pe\ re\ al/+++$ F_2 分離の補正

卵色	正 常		淡 紅		赤	
	+	al	+	al	+	al
幼虫形質	3,481.8	70.2	449.1	869.9	1.3	367.7

この結果から組換価を計算すると $pe-al$ 間：34.28%、 $pe-re$ 間：28.20%、 $re-al$ 間：5.48% となる。 $pe-re$ 間は染色体地図上 31.7 と決定されているので、これを基準としてさらに補正すれば、結局 $re-al$ 間の組換価として6.16%を得る。したがって al は第5染色体上 37.9 の位置、 wb (35.8) と oc (40.8) との間に占座することになる。

摘 要

混合育による1保存系統に2齢起蚕時に白色を呈する個体が少数分離した。これらはすべて2齢期間中に食桑不能のまま致死したが、同区における遺伝子頻度を推定し、2齢起白色致死蚕分離系統として確立することができた。この白色致死遺伝子は既知の al および $+al$ 遺伝子と複対立関係にある。したがってこれを第2アルビノ(記号、 al^2)と命名した。連関検索の結果、 al^2 は第5連関群に属することが判明したので、さらに pe , re を基準に選び3点実験を行ない、 al の遺伝子座を第5染色体 37.9 と決定した。

文 献

- 筑紫春生・坂口文吾・土井良宏・坂本博 (1972) : 九大農学芸, **26**, 47-59.
- CHIKUSHI, H. (1972) : "Genes and Genetical Stocks of the Silkworm," 288 pp., Keigaku Publishing Co., Tokyo.
- 土井良宏・筑紫春生・木原始 (1970) : 九州蚕糸, (1), 3.
- 鈴木簡一郎 (1950) : 遺種, **25**, 95-99.
- 田中義磨 (1952) : 家蚕遺伝学, 576 pp., 裳華房, 東京.
- 辻田光雄 (1955) : 遺種, **30**, 107-117.
- TSUJITA, M. and B. SAKAGUCHI (1955) : Ann. Rept. Nat. Inst. Genet., (5), 32-33.
- TSUJITA, M. and S. SAKURAI (1970) : "Chemistry and Biology of Pteridines, Proc. 4th Intern. Symp. Pteridines," 425-434.
- TSUJITA, M. and S. SAKURAI (1971) : Japan. J. Genetics, **46**, 17-31.
- 辻田光雄・桜井進 (1971) : 細胞生物学シンポジウム, **22**, 19-26.

Summary**Genetical studies of the albino mutants in *Bombyx mori***

By

Hiroshi DOIRA, Haruo CHIKUSHI and Hajime KIHARA

The recessive mutant "albino 2" was found as a spontaneous occurrence. Homozygotes for albino 2 gene exhibit normal black color soon after the hatching and develop quite normally in the first instar so that they can not be distinguished from normal type during the first larval instar. They are characterized by a departure from the normal type soon after the first molt representing the distinct albino features and die within 30 hours after the ecdysis.

Mating experiments revealed that albino 2 gene is allelic to *al*, and the gene received the symbol *al*². Linkage tests showed the *al*² locus to be on the fifth chromosome apart 11.2 from the *re* locus which is localized at 31.7. Precise localization of *al* was made by three-point experiments involving *pe*, *re* and *al*. By the data obtained from F₂ segregation the recombination value between *pe* and *re* was calculated as 24.6%, the value of *re*—*al* was 5.8% and *pe*—*al* was 29.3%. The locus of *al* is indicated by the correction factor as 6.2 to the right of *re*. Hence the *al* gene is localized at 37.9 on the fifth chromosome.

(Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka)