

矮小不眠蚕の遺伝学的研究

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	土井, 良宏 木原, 始 伴野, 豊
巻/号	53巻5号
掲載ページ	p. 427-431
発行年月	1984年10月

矮小不眠蚕の遺伝学的研究

土井良 宏・木原 始・伴野 豊

福岡市東区箱崎・九州大学農学部 (〒 812)

(1984年5月4日 受領)

HIROSHI DOIRA, HAJIME KIHARA and YUTAKA BANNO: Genetical studies on the "non-molting dwarf" mutation in *Bombyx mori*

The recessive lethal mutation "non-molting dwarf" (symbol, *nm-d*) was found in F_2 progenies of the cross between a female sparsely mottled with fine translucent dots and a normal male. Linkage test showed that the *nm-d* gene was linked to Dominant chocolate (*I-a*) which had been mapped at position 5.9 on the ninth linkage group. Precise localization of *nm-d* was performed by a three-point experiment of the type *I I-a/nm-d* sib-mating. The locus of *I* (Yellow inhibitor) gene on the genetic map corresponds to position 0.0. The recombination value between *I* and *nm-d* was calculated to be 0.13%, *nm-d* and *I-a* 6.60%, *I* and *I-a* 6.74%, respectively, through the observation of 10,895 individuals. Hence the arrangement of these three gene loci on the chromosome is in the order of *I/nm-d-I-a*, and *nm-d* gene lies at position 0.1 on the ninth linkage group. (Faculty of Agriculture, Kyushu University, Higashi-ku, Fukuoka 812)

1 保存系統から皮膚に透明な小斑点が散在する斑油蚕様個体を見出し、正常蚕と交配したが後代に油蚕は得られず、 F_2 16 蛾区を調査した中の 1 区において 1 齢 3 日目で顕著な矮小蚕を多発した。同区の正常蚕が就眠した後も矮小蚕は摂食を続けて皮膚が透明になり、眠に入ることなく孵化後 5~6 日までほとんど斃死した。同区の正常蚕の後代検定によりこの不眠致死形質は常染色体上の 1 男性遺伝子により発現されることを確認し、これを矮小不眠蚕 (記号, *nm-d*) と命名した。次で連鎖検索を行った結果、*nm-d* は第 9 連鎖群に所属することが判明したので、さらに *I*, *I-a* 両遺伝子を基準に用いて 3 点実験を行い、その座位を第 9 連鎖群 0.1 と決定した。

カイコにおいてはこれまでに多数の致死遺伝子が知られているがその大部分は胚子期に致死作用を発現するものであって、幼虫期における致死形質には乏しい (Doira, 1978)。その中で梅谷・唐沢 (1930) が報じた遺伝的不眠蚕 (*nm*) はホモ個体が孵化後 12~13 日もの間、1 齢幼虫のままで経過して結局、眠に入ることなく死滅する極めて特異な変異体である。著者らはこの *nm* に似た、ホモ個体が正常に孵化し食桑もするが就眠不能のまま斃死する新変異体 *nm-d* を系統として確立し、その遺伝子分析、連鎖分析を行ったのでここに報告する。

材料と方法

矮小不眠蚕：1 齢期の成長が劣り就眠することなく斃死する突然変異体であるが、孵化後の 2 日間は正常蚕と典型的に識別することはできない。1 齢 3 日目になると正常蚕では胸部が白く腹部は褐色を呈しているのに対して、矮小不眠蚕では全的に暗褐色で前日とほとんど変わらない状態にある。また、やや成長はするが大きさも正常蚕に比しはるかに小さい。4 日目には正常蚕は第 1 眠に入っている。矮小蚕は皮膚が透明になり油蚕類似の様相を呈し、不活発ながら食桑を続けるが眠につくことなく 5~6 日ごろにはほとんど斃死する。致死時期には若干の幅があり早いものでは毛振いしないまま孵化翌日、遅

本研究の一部は文部省科学研究費 (一般研究 C 58560322) によって行った。

いもので正常蚕の第2眼前後であるが、一部に催青死卵となるものもみられる。致死時期が早い点を除き *nm* に酷似した劣性の自然突然変異であり、遺伝子記号は *nm-d* とされている(土井良ら, 1983)。

遺伝的分析: まず系統的に確立された矮小不眠致死変異体の遺伝子分析を行い、次で連関検索、3点実験による遺伝子座位の決定を行った。他系統と交雑する場合には矮小不眠蚕がホモ致死であるため、ヘテロ個体を用いなければならぬが表現型によって正常ホモ型と識別することはできないので、常に本系統を雄にとり標識形質系統の雌に交配した。割愛後その雄を本系統雌に再交して、再交検定蛾区に矮小不眠蚕を分離し雄蛾がヘテロ型であることを確認し得た交雑蛾区について爾後の調査を行った。連関検索に用いた標識形質を連関群別に示せば、*Y(2)*, *Ze(3)*, *L(4)*, *st(8)*, *I-a(9)*, *K(11)*, *bts(17)*, *nb(19)* である。標識形質が優性の場合には交雑 F_1 の雌に矮小不眠蚕系統雄を交配した次代、劣性の場合には F_2 における形質分離を調べて連関の有無を検した。その他の3点実験などにおける交配形式の詳細に関しては、それぞれ必要な個所に記述する。

結 果

1. 矮小不眠蚕の系統育成と遺伝

1976年春蚕期、九州大学農学部で保存飼育中の *xu 07* 系統から油蚕様の透明な小斑点が粗に散在する雌個体を1頭見出した。本系統は複雑な交雑系であるが、育成の過程で油蚕は用いられていない。そこでこの斑油蚕様個体に同系統の雄を交配し、次代を飼育したが386頭の全てが正常表型を呈した。その相互交配による F_2 を1蛾育により6区飼育したところ、油蚕を分離するものはなかったが、その中の1区において1齢の2~3日にかけ矮小蚕が多数認められた。この矮小蚕を集め別飼育としたが全部が眠につくことなく斃死した。因みにその分離数は正常蚕258頭、矮小で1齢中に致死したもの80頭であった。そこでさらに F_2 を10蛾区調査したが、油蚕も矮小蚕もみられなかった。したがって1齢期の矮小蚕による継代調査は不可能になったので、矮小死蚕分離区の正常個体間で交配を行い、 F_3 を1蛾育により10区検定した。その5区では正常発育蚕のみを生じたが、残る5区において再び矮小な1齢死蚕を分離した。その蛾区別分離数を Table 1 に示すが、

Table 1. Segregation of dwarf and non-molting lethal mutant in F_3 progenies derived from the cross between a female with fine translucent dots and a normal male

Batch No.	1	2	3	4	5
Normal	209	299	247	335	256
Dwarf-lethal	65	100	105	109	53

5区の合計数は正常蚕1,346頭に対し矮小不眠致死蚕432頭であって、蛾区により若干の乱れはあるものの分離比は3:1であるとみなすことができる。引続き F_4 世代の20蛾区を調査したところ、その中の8区において正常蚕と矮小不眠致死蚕とが3:1の比に分離した。かくて1齢幼虫のまま眠につくことなく致死に至る矮小蚕を分離する系統として確立することができた。矮小蚕は皮膚が透明になり孵化後5~6日を中心として斃死するが、死蚕分離区のいずれにおいても生残った正常蚕の性比に異常は認められなかった。

上述の結果から *xu 07* 系統に見出された斑油蚕様個体の後代に生じた1齢期における矮小不眠致死形質は常染色体上の1劣性遺伝子により発現されることが明瞭であるので、これを矮小不眠蚕 (*non-molting dwarf*) と命名し、遺伝子記号 *nm-d* とする。

2. 矮小不眠蚕の連関検索

矮小不眠蚕を分離した区の正常蚕の性比は1:1であるので、*nm-d* 遺伝子は第1連関群には所属していないことになる。このことは以下に行った連関検索に際して *nm-d* ヘテロであることが確認された雄と標識形質系統との交雑 F_1 において矮小不眠蚕を分離するものはなかったことから確認される。さらに *nm-d* 系統と標識形質系統との交雑 F_2 、或いは交雑 F_1 雌に *nm-d* ヘテロ雄を戻し交雑した区における形質分離を調べたが、*nm-d* は第2, 3, 4, 8, 11, 17, 19連関群に対してはすべて独立遺伝と判定される結果を得た。一方、優性赤蛾 (*I-a*, 9-5.9) との交雑 F_1 の雌に *nm-d* 系統の雄を交配して得られた10蛾区を掃立て調査したところ、その中の4区において *nm-d* ホモ型を生じたのであるが、赤蛾 (*I-a*) 個体で矮小不眠となるものは1頭も

Table 2. Segregation in the cross of the type $I-a/nm-d \text{♀} \times +/nm-d \text{♂}$

<i>I-a</i>		+	
+	<i>nm-d</i>	+	<i>nm-d</i>
153	0	78	79
176	0	82	75
203	0	106	68
165	0	81	30

みられず、黒蟻 (+^{I-a}) 個体においてのみ正常と矮小不眠とに分離した (Table 2)。4 区総数 1,296 頭における分離は $I-a+697$ 頭： $I-a nm-d$ 0 頭：++347 頭： $+nm-d$ 252 頭である。この分離比を連関する場合の理論比、2:0:1:1 とするには無理があるが ($P < 0.01$)、これは総数の 1/4 を占めるべき $nm-d$ が特に 2 区において少なく、合計でも +： $nm-d$ = 4:1 となっているためであって、 $I-a$ +：++ は 2:1 の比で $I-a nm-d$ が 1 頭も生じていないことからすれば、両遺伝子は連関関係にあるものとみなし得る。そうであればこの戻し交雑区における表現型 ++ の個体は全部 $nm-d$ ヘテロのはずである。そこでこの ++ 表型個体の相互交配による次代を 9 蛾区調査したが、全区に $nm-d$ ホモ個体を分離した。これらの結果を総合すれば、 $nm-d$ は $I-a$ と連関していることが確実であり、第 9 連関群に所属することになる。

3. $nm-d$ 遺伝子の座位

第 9 連関群に所属する遺伝子の中から $I-a$ と黄血抑圧 (I , 0.0) とを基準遺伝子を選び、 $nm-d$ 遺伝子の座位を決定するための 3 点実験を行った。 I 遺伝子は第 2 連関群の黄血遺伝子 (Y) の存在下においてはじめてその発現が認められるものであるから、まず +^P Y ; $nm-d/+$ の系統を育成し、+^P Y ; $I I-a$ 系統との間で以下の実験を進めた。

+^P Y ; $I I-a \times +^P Y$; $nm-d/+$ の F_1 はすべて白血 (I)、赤蟻 ($I-a$) でその発育は正常 (+^{nm-d}) である。その F_2 を多数 1 蛾育てて $nm-d$ の分離を確認し得た区のみを残し、正常発育個体について 4~5 齢期に I 及び $I-a$ に関する分離を調査した。その結果を Table 3 に示すが、以下便宜上 +^P Y は表示から省く。調査総数は 43 区合計 10,895 頭であるが、この結果から 3 遺伝子間の組換え価を算出すると、

Table 3 Crossing-over experiment between $I/nm-d-I-a$ (segregation in +^{nm-d} progenies obtained by sib-mating of $I+I-a/+nm-d$)

<i>I-a</i>		+	
<i>I</i>	+	<i>I</i>	+
10,650	5	240	0

$I-nm-d$ 間 0.13%、 $nm-d-I-a$ 間 6.60%、 $I-I-a$ 間 6.74% となる。したがってこれら 3 遺伝子の配列は $I-nm-d-I-a$ の順であることが明らかである。なお二重交叉型として識別可能な ++ 個体は 1 頭も得られなかった。

考 察

カイコの幼虫は通常の場合孵化後約 3 日間経過すれば食桑を停止し、脚を固定させて眠に入り最初の幼虫脱皮を行う。ところが不眠蚕と総称される一群の変異体においては同区の正常蚕が就眠してもなお食桑を続け、長いものでは 10 日余の間を 1 齢幼虫として過し結局眠に入ることなく斃死する。この種の遺伝的な不眠蚕はこれまでに約 10 種が報告されており、現存するものでも本報における $nm-d$ のほか、 nm (11-11.6: 梅谷・唐沢, 1930; 清水ら, 1980) $nm-m$ (13-27.9: 清水ら, 1983), $nm-g$ (17-?: 清水, 1983) 及び $nm-b$ (2-25.1, 発表準備中) などがある。これら不眠蚕は形質発現上の詳細についてはそれぞれ特徴を異にしているが、幼虫の初期発育或いは眠に関連する諸問題にとどまらず、 nm では死の直前に脂肪組織での細胞分裂の頻度が異常に高くなる (横山, 1936) ことから窺われるように、個体乃至は細胞レベルでの老化現象を追求する新たな研究素材として活用されるであろうことが期待される。

本研究に用いた矮小不眠蚕 $nm-d$ は xu 07 系統に生じた皮膚に透明な小斑点を有する斑油蚕様の雌個体の後代から系統的に確立されたものである。本系統にはそれ以前、また正常蚕の相互交配による後代にも不眠蚕或いは油蚕を生じたものはない。斑油蚕様雌個体と正常蚕との F_2 延 16 蛾区を飼育調査したが、油蚕を分離する区は得られずその 1 区において $nm-d$ を分離したのである。 F_2 16 蛾区中の 1 区に $nm-d$ ホモ型の分離をみたことからすれば、確率的

には F_1 個体の $1/4$ が $nm-d$ ヘテロであったことを意味している。雌親である斑油蚕様個体が造成した卵細胞の $1/4$ には $nm-d$ 突然変異が保有されていたことになり、減数分裂以前の $2n$ 期の卵原細胞の半数が $nm-d$ ヘテロであったと推定される。したがって受精卵が分裂を開始して間もなくの核の数が少ない時期に $nm-d$ 突然変異を生じたものであろうことはほぼ確実である。また、 $nm-d$ ホモ個体は生存の末期には皮膚が透明になり油蚕類似の様相を呈することからすれば、起源となった斑油蚕様個体の皮膚細胞にみられた透明な小斑点は油蚕性に関する体細胞突然変異とみるよりもむしろ、 $nm-d$ ホモ型の細胞群であったと解されるのである。 $nm-d$ は劣性であり正常に皮膚組織が分化、形成されればヘテロの細胞群を混じていたとしても発現されることはない。しかし組織分化の途中で突然変異生起直後の不安定性に伴う DNA 複製の誤りなどの何らかの機構により $nm-d$ ホモの細胞群を生じ、それが油蚕様の小斑点となって認められたものであろう。

常染色体上の劣性致死遺伝子 (I) に関しホモ個体を分離した区における表現型正常の個体を遺伝子型でみると $I/+$ のヘテロ型と $+/+$ のホモ型とを $2:1$ の比に混じているはずである。したがってその相互交配を行えば次代の蛾区数の $4/9$ 相当の区において再び I/I ホモ個体を分離すると期待される。 $nm-d$ 系統を確立するに際しての F_3 , F_4 代での $nm-d$ ホモ型分離蛾区の出現割合はこの期待数に合致するものであった。

$nm-d$ の連関検索において st , bts , nb の劣性標識形質を用いた場合は交雑 F_2 での生存個体、 $+^{nm-d}$ にみられる形質分離を調べたのであるが、いずれにおいても正常個体と標識形質個体とが $3:1$ の比に生じたので独立と判定した。 Y , Ze , L , $I-a$, K の優性形質を用いた場合は交雑 F_1 の雌に $+/nm-d$ 雄を配して、 $I-a$ との場合を除き前例と同様にして生存個体での形質分離を調べたが、いずれも優性変異体と正常とが $1:1$ の比に分離したことから独立と判定した。 $I-a$ の場合、孵化直後から蟻蚕体色による形質分離調査が可能である。 $I-a/nm-d$ ♀ × $+/nm-d$ ♂ の次代において、もしも $I-a$ と $nm-d$ とが独立であれば同数ずつ分離する赤蟻と黒蟻の双方において、 $+$ と $nm-d$ とが $3:1$ の比に生じるはずである。ところが4蛾区のいずれにおいても $I-a$ には

$nm-d$ を全く分離せず発育正常の個体のみであり、 $nm-d$ は $+^{I-a}$ 個体においてのみ出現した。この結果は (1) $I-a$ は $nm-d$ とは独立であるがその発現を抑制する。(2) $I-a$ と $nm-d$ とが連関関係にある、のいずれかによるものである。然して $I-a+ : I-a nm-d : ++ : +nm-d$ の分離比は、(1) の場合であれば $4:0:3:1$, (2) の場合であれば $2:0:1:1$ と期待される。実際の結果は4区のいずれにおいても $I-a+ : ++ = 2:1$ であり(1)の場合の期待比 $4:3$ とは大きく異っている。また F_2 等において $I-a$ であっても $nm-d$ は発現されることが確認されたので(1)は否定される。4区中の2区においては(2)の場合の期待分離比と合致している。他の2区においては $+^{I-a}$ 側でその半数生ずべき $nm-d$ が $30\sim 40\%$ を占めるに過ぎず、 $1:1$ の比とはみられない。しかしこの2区での催青死卵のほとんどが黒蟻型であったことからすれば、 $nm-d$ の一部が孵化に至らず死卵になったものと考えられる。また、ここに分離した $++$ 個体の相互交配による次代を9区調べたところ、その全てに $nm-d$ ホモ型を分離した。それ故、この戻し交雑区における表現型 $++$ の個体は例外なく $nm-d$ ヘテロであるとみて差支えない。これらの事情を総合すれば $nm-d$ は $I-a$ と連関していることが確実である。

$nm-d$ が所属することが判明した第9連関群には $I-a$ のほか6遺伝子が知られているが、形質の特性による都合上、 I , $I-a$ 両遺伝子を基準に用いて3点実験を行うこととした。すなわち $+^P Y$ を導入した $I I-a/nm-d$ の相互交配区における形質分離を調査したのである。 $nm-d$ 遺伝子の座位が I 遺伝子の近傍であることは少数区での分離から容易に推定されたが、 I の左右いずれにあるかを確実にするためには都合43蛾区 10,895頭を要した。その分離結果から算出される組換え価は $I-nm-d$ 間 0.13% , $nm-d-I-a$ 間 6.60% , $I-I-a$ 間 6.74% である。なお、これだけの頭数を用いても $++$ の二重交叉型は1頭も分離しなかった。仮に干渉を0として求めても期待併発率は 0.009% にすぎず、検出可能な $++$ はさらにその $1/3$ の 0.003% であり、本実験の調査数約 10,000 においては計算上 0.3 頭になる。実際には干渉もあるのでこの調査個体数の範囲では検出されなかったのも当然であると言える。 $I-I-a$ 間の距離は最初橋本 (1948) によって 3.4 とされたが、後

に佐々木 (1959) により 5.9 に訂正された。本実験における I , $I-a$ 間組換価 6.74% は佐々木の値, さらには中島 (1971) の I , $I-a$ 間 6.7% の実験値とよく合致するものである。

現在, 標準地図上, I 遺伝子が基点で $I-a$ との遺伝子間距離は 5.9 と決定されているので, これを基準として本実験値を補正すれば, $I-nm-d$ 間 0.11%, $nm-d-I-a$ 間 5.78% を得る。したがって $nm-d$ 遺伝子は第 9 連鎖群に所属し, I に極く近接した 0.1 の位置に占座することになる。

文 献

- DOIRA, H. (1978): In "The Silkworm: an Important Laboratory Tool" (TAZIMA, Y., ed.), pp. 53-81, Kodansha, Tokyo.
- 土井良 宏・木原 始・河口 豊 (1983): 九州蚕糸, 14, 68.
- 橋本春雄 (1971): 日蚕雑, 16, 60-61.
- 中島 誠 (1971): 日蚕雑, 40, 107-110.
- 佐々木 静 (1959): 蚕試報, 15, 293-336.
- 清水久仁光 (1983): 日蚕第53回講要, 64.
- 清水久仁光・田中教夫・松野道雄 (1980): 日蚕雑, 49, 7-12.
- 清水久仁光・榎島守利・藤巻忠彦・藤森胡友・松野道雄 (1983): 日蚕雑, 52, 348-353.
- 梅谷与七郎・唐沢侑衛 (1930): 遺雑, 6, 188-194.
- 横山忠雄 (1936): 日蚕雑, 7, 96-106.