

## カイコの大卵突然変異遺伝子による形質発現(1):

誌名	日本応用動物昆虫学会誌
ISSN	00214914
著者	河口, 豊 紫藤, 光一 藤井, 博
巻/号	31巻4号
掲載ページ	p. 344-349
発行年月	1987年11月

## カイコの大卵突然変異遺伝子による形質発現<sup>1)</sup>

### 1. 大卵形質の特徴

河口 豊・紫藤光一・藤井 博・土井良 宏

九州大学農学部

Manifestation of Characters in the “Giant Egg” Mutant of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) 1. Characteristics of the *Ge* Egg. Yutaka KAWAGUCHI, Koichi SHIRO, Hiroshi FUJII and Hiroshi DOIRA (Faculty of Agriculture, Kyushu University, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan). *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* **31**: 344–349 (1987)

Detailed characterization of the “Giant egg” (*Ge*, 1–14.0) mutant in *Bombyx mori* was performed using the female progeny of the cross T (W; 3) *Ze/os+sch* ♀ × *Ge+jos+sch* ♂ as materials. Females in this mating line are characterized by the female-limited larval marking of “Zebra”, and the *os sch* larvae are normal-egg formers while the ++ are giant-egg formers with rare, less than 1%, exceptional forms which were introduced through double crossing over phenomenon. The main characteristics of *Ge* were as follows. 1) Size of *Ge* egg based on measurements of the major and minor axis was larger than that of a normal egg by 1.18 and 1.12 times, respectively. 2) Weight of *Ge* egg was 1.44 times heavier than that of a normal egg. 3) Number of eggs produced by a *Ge* female was 33 percent lower than that of a normal female. 4) Giant egg contained 1.53 times more yolk protein than a normal egg, with no qualitative differences. 5) Weight of the body and of the ovary during pupal development showed no difference between *Ge* and normal. It may be inferred that, in *Bombyx mori*, some regulatory mechanism acts in the oogenesis to keep the total amount of egg materials produced by a female at a definite level through the control of the size and number of eggs.

### 緒 言

カイコにおいては、腎臓形卵 (*ki*), 紡錘形卵 (*sp*), 長形卵 (*elp*) あるいは大卵 (*Ge*), 小形卵 (*sm*) などのように卵形態や大小に関する遺伝的変異が豊富である (DOIRA, 1983)。これらの卵形成に関する変異はいずれも蛹期における卵形成過程の異常に基づくものであって、偽母性遺伝の様式に従って発現する。このなかでも大卵遺伝子 *Ge* は、卵形を異常に大きくするきわめて特異的な形質であり、偽母性的に伴性遺伝をする (有賀, 1943)。この大卵の形質的特徴については、有賀 (1943) をはじめとし高崎ら (1956), 渡部 (1960) などにより調査されているものの依然として未知の部分が多く残されたままである。

著者らはカイコの卵形成過程での遺伝子作用発現機構を明らかにするための一環として大卵 *Ge* に着目し、まずその形質的特徴および卵形成過程における卵巣の発育

状況、卵巣タンパク質の経時的変動について調査し、正常と比較しつつ解析した。

本文に入るに先立ち、著者らの研究に対して有益な助言をいただいた九州大学農学部坂口文吾教授に対しお礼申し上げる。また、飼育全般にわたり援助を与えられた九州大学農学部家蚕遺伝子実験施設の木原 始氏に感謝する。

### 材料および方法

#### 1. 供試材料

供試系統は九州大学農学部家蚕遺伝子実験施設保存の d202, k151 および r03 である。d202 系統は大卵遺伝子 *Ge* (1–14.0) をもち、k151 系統は伴性油蚕遺伝子 *os* (1–0.0) と伴性赤蟻遺伝子 *sch* (1–21.5) とをもつ。r03 系統は虎蚕遺伝子 *Ze* (3–20.8) が W 染色体に転座した限性系統である。大卵遺伝子 *Ge* は Z 染色体上に占位する遺伝子で、*Ge* を有する雌個体は卵形の大きい卵を造成す

1) 本研究の一部は文部省科学研究費一般研究 (C) No. 59560057 によって行った。  
1987年3月25日受領 (Received March 25, 1987)

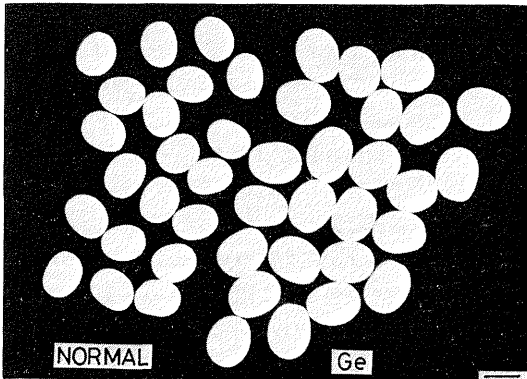


Fig. 1. Photograph of the normal and the giant eggs.  
Scale bar: 1 mm.

る (Fig. 1)。交尾、産卵、受精ならびに胚子形成は行われ、孵化にも異常はない。*Ge* と同じ第 1 連関群に属する劣性の油蚕遺伝子 *os* と劣性の赤蟻遺伝子 *sch* を標識として、大卵系統 (d202) の雌に *os*, *sch* をホモにもつ k151 系統の雄を交配して得られた  $F_1$  の雄 ( $Z^{Ge} Z^{os sch}$ ) と限性系統 r03 の雌 T (W; 3) *Ze* とを交配した。次代の同一蛾区内で得られる *os*, *sch*, *Ze* 個体は赤蟻油性で虎蚕斑紋を有する。この幼虫形質を現わす個体は雌であり、正常卵を造成する。この個体を正常雌と略記する。一方、 $+os$ ,  $+sch$ , *Ze* 個体は正常体色、皮膚不透明で虎蚕斑紋を有する。この個体は大卵を造成する雌であり、これを *Ge* 雌と略記する。これらの卵巣および卵巣卵を供試した。

上記の交配系は同一の雌蛾が産下する卵から孵化した幼虫について、将来大卵を造成する雌個体と正常卵を造成する雌個体とを可視形質により容易に区別できる利点を有するが、*os-sch* 間非交叉型個体の中には干渉をゼロとして計算した場合、それぞれに 2 重交叉による例外個体を 1% ずつ含むこととなる。カイコでは一般に併発率は低いのでほぼ無視しうる低率となるが、実験に際してはこの点にも十分配慮した。

## 2. 卵形調査

成虫の卵管から取り出した卵を写真撮影し、卵殻の長径 (長幅) と短径 (短幅) とを測定して、拡大倍率よりそれぞれの長さを求めた。

## 3. 卵巣のタンパク質と卵巣卵中の卵黄タンパク質の調製と定量

卵巣については一定量の冷 0.75% NaCl 溶液中で十分に磨砕し、等量の冷 10% トリクロロ酢酸を加え、30 分間氷冷した後遠心して酸不溶性画分を得た。卵巣卵お

よび卵管から取り出した卵中の卵黄タンパク質については乳鉢中で冷 0.75% NaCl 溶液とともに軽く磨砕し、ガーゼで濾過して卵殻を除去した。濾液に等量の冷 10% トリクロロ酢酸を加えて酸不溶性画分を得た。おのおのの画分についてさらに冷 5% トリクロロ酢酸で 2 回洗浄した。エタノール：エーテル (1:1) 混液により脂質を除去した後、沈澱画分に 0.1 N NaOH を加えて溶解し、Lowry の方法に準じて比色定量した。

## 4. 電気泳動

6.5% アクリルアミドゲルを支持体に pH 8.6 トリスグリシンを泳動用緩衝液として用いたディスク電気泳動である。泳動終了後、0.1% クマージブルー-R250 溶液 (エタノール：氷酢酸：水 = 4:1:5) でタンパク質を固定・染色し、7% 酢酸で脱色した。Toyo デジタルデンシトロール DMU-33C を用いてタンパク質成分の濃度測定を行った。

## 結 果

### 1. 正常卵と *Ge* 卵における卵形、造卵数および卵重

正常卵と *Ge* 卵の卵形を比較するために、任意に 50~70 個の卵をとり卵殻の長径と短径を測定した (Fig. 2)。正常卵の長径は 1.35 mm から 1.24 mm の範囲にあり、短径は 1.11 mm から 1.01 mm の範囲であった。これに対し *Ge* 卵では長径が 1.57 mm から 1.44 mm、短径は 1.24 mm から 1.12 mm の範囲であった。これらの平均値を求めると、正常卵の長径と短径は  $1.29 \pm 0.03$  mm、

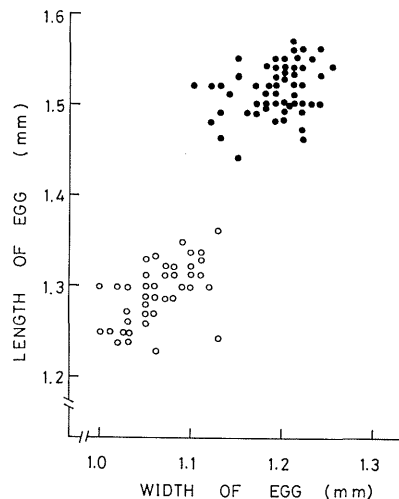


Fig. 2. Range of the egg size. ○: normal, ●: *Ge*.

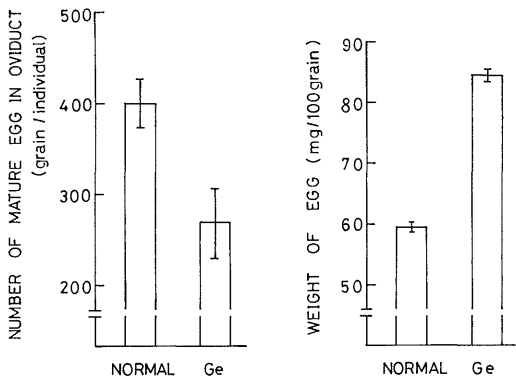


Fig. 3. Number and weight of mature eggs taken from oviducts of the normal and the *Ge* female moths. Vertical bar shows standard deviation.

1.06±0.03 mm となるのに対し、*Ge* 卵においては長径 1.52±0.03 mm, 短径 1.19±0.03 mm であった。長径ならびに短径のいずれについても正常卵よりも *Ge* 卵のほうが大であった。

次に成虫を解剖して造卵数を調べる一方、卵管から取り出した卵を蒸留水で数回洗浄し、風乾後卵重を測定した (Fig. 3)。正常雌の造卵数は1頭当り 401±26 粒であるのに対し、*Ge* 雌においては 271±37 粒であり正常より *Ge* 雌成虫の造卵数は約 33% 少なかった。

卵重については正常卵 100 粒当り 59.50±0.85 mg であるのに対し、*Ge* 卵では 84.58±0.67 mg であり、卵重は正常卵に比べ約 44% 重かった。

2. 正常卵と *Ge* 卵とにおける卵黄タンパク質の含量と組成

正常卵の卵黄タンパク質含量は卵1粒当り 58.4 μg で

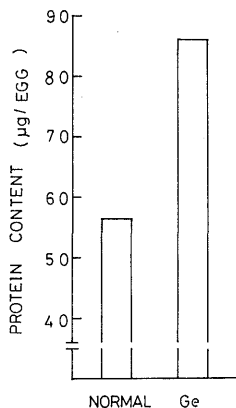


Fig. 4. Amount of yolk protein in the normal and the *Ge* eggs.

あるのに対し、*Ge* 卵においては 86.2 μg と卵1粒中のタンパク質含量が正常より約 53% 高かった (Fig. 4)。

次に組成についてみると、正常卵では9種類 (a, c, e, f, g, i, V, j, k) の主要成分と3種類 (b, d, h) の微量成分の計12種類が検出された (Fig. 5)。一方、*Ge* 卵においても正常卵のそれと同じ易動度をもつ成分が認められ、両者の間には差異は認められなかった (Fig. 5)。しかしながら正常卵の各タンパク質の成分に対応する *Ge* 卵の成分のほうが濃く染色される傾向が認められた。そこで、各成分の含量を比較してみると (Fig. 6)、正常卵の

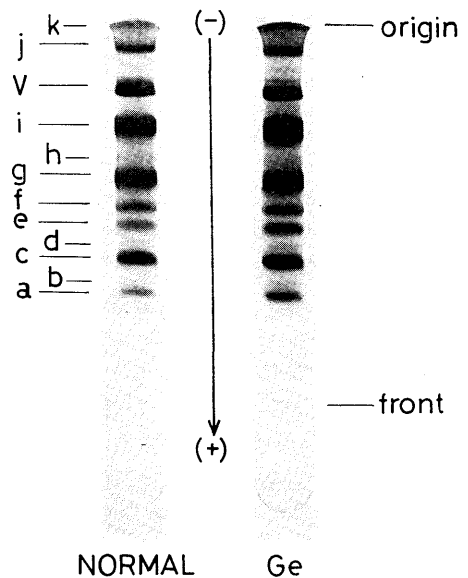


Fig. 5. Electrophoretic patterns of yolk protein in the normal and the *Ge* eggs.

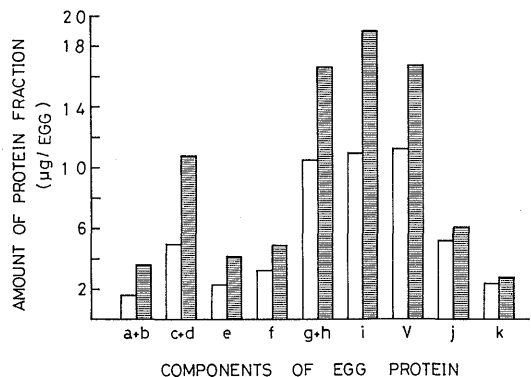


Fig. 6. Amount of yolk protein components separated by electrophoresis. Components a to k and V are the same as in Fig. 5. □: normal, ≡: *Ge*.

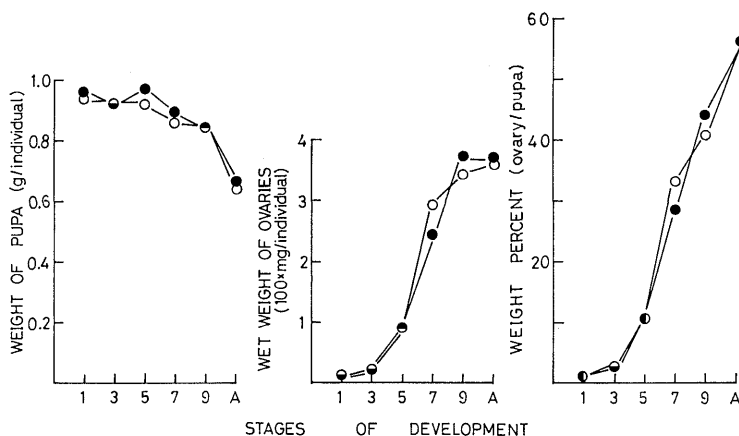


Fig. 7. Changes of the body weight, ovary weight and the ratio of the ovary to body during pupal development. ○: normal, ●: *Ge*.

各成分濃度に対して *Ge* 卵のほうが、増加割合の多少はあるものの、主要成分含量はもとよりすべての成分が増加していた。

3. 発育に伴う卵巣生重と卵巣(卵)タンパク質の経時的変動

化蛹後の発育経過に伴う雌蛹体重、卵巣生重および蛹体重に対する卵巣生重割合の経時的変動を Fig. 7 に示す。

雌蛹の体重は化蛹1日において正常で0.95 g/頭、*Ge* 蛹で0.96 g/頭とほとんど差はなかった。その後、発育経過の進行に伴い両者ともわずかに減少してゆくものの、化蛹9日において正常0.85 g/頭、*Ge* 蛹は0.85 g/頭であった。すなわち、化蛹後から羽化前日まで大きな変動はなく、かつ両者間にも大差は認められなかった。しかしながら、成虫化に伴い体重は大きく減少した。卵巣生重についてみると、化蛹1日では正常8.6 mg/頭、*Ge* 7.6 mg/頭であったが、化蛹3日から両者とも急速に増加して化蛹9日においてほぼ最高に達し、羽化直後において正常では353.8 mg/頭、*Ge* では369.4 mg/頭となった。これらの測定結果を用いて、蛹体重に対する卵巣生重の割合を算出してみると化蛹1日では正常で約0.9%、*Ge* では約0.8%であったものが、化蛹3日以降成虫期にかけて卵巣の占める割合が急激に増加した。最終的には体重に対する卵巣生重の占める割合は正常においても *Ge* においてもともに約56%となり、両者間においてほとんど差異は認められなかった。

次に発育経過に伴う卵巣(卵)タンパク質含量の経時の変化をみると (Fig. 8), 化蛹1日におけるタンパク質

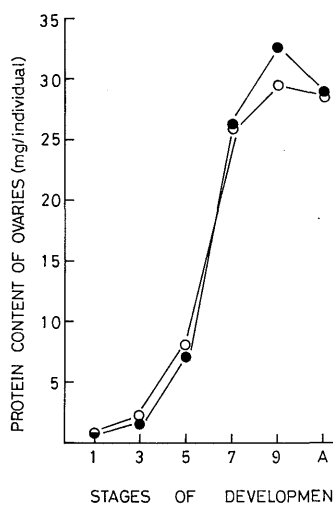


Fig. 8. Changes of the ovarian protein content during pupal development. 1 to 9: pupal age in days, A: adult, ○: normal, ●: *Ge*.

含量は正常では0.6 mg/頭、*Ge* においても0.6 mg/頭とともに低く、差異は認められなかった。しかし化蛹3日以降、とくに5日から7日にかけて両者とも急速にタンパク質含量が増加し、化蛹9日において最高に達した。成虫化に伴いやや減少はするものの、正常では28.8 mg/頭、*Ge* では29.0 mg/頭となり卵巣(卵)のタンパク質含量においても両者間でほとんど差異は認められなかった。

## 考 察

カイコ卵の大きさは品種や系統によって大小の違いがある。一般にヨーロッパ種では日本種や中国種に比べやや大形である。また、4倍体の雌は大形卵を作るが(KAWAMURA, 1979; KAWAMURA and NAKADA, 1981), 一方、自然突然変異として生じた大卵の系統もある。この大卵変異体は有賀(1943)により中国種2化性油蚕の保存系統から発見されたものであって、大卵遺伝子 *Ge* はZ染色体上14.0の位置に座位することが明らかにされている。著者らは *Ge* 遺伝子による形質発現の機構究明の手始めとして、大卵形質の特徴を正常卵との比較において正確に把握することを試みた。

まず卵の大きさを卵殻の長径と短径の長さでもって比較してみると、*Ge* 卵は正常より長径において約18%、短径においては約12%長かった。これに伴って卵重でも *Ge* 卵は正常より約40%も重く、卵殻が大きくなるに伴いその内容物も増す結果となっていた。卵内容物中には将来胚子を形成するために必要な素材がすべて具備されているのであるが、なかでも卵黄タンパク質についてまず含量をみると、正常に比べ *Ge* 卵においては約53%多くなっていた。その組成をみると正常卵と *Ge* 卵との間に易動度からみた質的な差異はまったく認められなかった。これらの事象から大卵においては卵殻が大きくなるに伴い内容積が増大し、それによって卵重が増加した。卵重の増加は主として卵内容物の増加を反映するものであって、その主要成分である卵黄タンパク質の含量も増加した。しかしながらこの卵黄タンパク質含量の増加は、正常では認められない新生タンパク質成分の出現によるものではなく、増加割合に多少はあるものの、正常卵のもつ卵黄タンパク質構成成分のそれぞれの増加によるものであった。

カイコにおいては実質的な卵形成は蛹期に行われる(町田, 1940; 大槻, 1965; 河口・藤井, 1983, 1984)。そこで蛹期間における蛹体重をみると正常雌蛹と *Ge* 雌蛹とでほとんど差はなく、発育経過に伴う両者の経時的変化にも違いは認められなかった。すなわち、*Ge* 遺伝子は卵形質のみに働くものであって蛹の大きさには何ら作用を及ぼさないのである。次に卵巣についてみると卵形成の進行に伴う発育量、卵巣(卵)タンパク質含量の経時的変化のいずれにおいても正常と *Ge* との間には相違は認められなかった。したがって、蛹体重に対する卵巣生重の割合にも差異はないことになる。しかしながら成虫化後の造卵数をみると1頭当たり正常では  $401 \pm 26$

粒に対して *Ge* では  $271 \pm 37$  粒と、*Ge* のほうが著しく少なかった。ではなにゆえに *Ge* において造卵数が減少したのであろうか。蛹期間は呼吸によるガス交換などを除けば外部からの栄養補給のない閉鎖系であるがゆえに、一定量の素材のもとで卵形が大きく内容物の多い卵を造成するには、必然的に造卵数を少なくして調節しなければならぬはずであり、*Ge* ではその機構が作動しているものと推察される。カイコでは一般に無効卵(戸谷, 1984)と呼ばれる未熟な卵の存在が知られているが、産卵を終了した *Ge* 雌成虫の体内にはそれ以外に卵殻は有するものの非常に小さな卵が残留しているのが観察された。このことからしても卵形成過程には数と量を調節する機構が本来的に存在するものと思われる。

上述のごとく *Ge* においては、卵形が大形化するために卵1個当りの卵黄タンパク質を中心とする構成物質量が増加する。それに伴って卵形成に用いる素材材料は正常と差異がないという制約の下に調節機構が作動して造卵数の減少を導くものと考えられる。

## 摘 要

カイコ大卵突然変異(*Ge*)の卵に関する性状ならびに卵形成過程における蛹体重と卵巣の発育状況、卵巣(卵)タンパク質含量の経時的変化について正常との比較分析を行った。

1) *Ge* 卵は正常に比べ卵形(卵殻の長径と短径)、卵重、卵黄タンパク質含量のいずれも大であるが、卵黄タンパク質成分組成には差異は認められなかった。*Ge* 雌成虫の造卵数は少なかった。

2) *Ge* における卵巣生重、卵巣(卵)タンパク質含量ならびに蛹体重に対する卵巣生重割合の経時的変化はいずれも正常のそれと同じであった。

3) *Ge* における卵形の大形化と卵内容物の増加は卵形成のための素材材料が一定であるという制約下において、必然的に造卵数の減少をもたらすと考えられた。すなわち、個々の卵構成物質量と卵数を調節する機構が強く作動しているものと判断された。

## 引 用 文 献

- 有賀久雄(1943) 家蚕に於ける伴性遺伝をなす一突然変異。蚕試報 11: 499—507。  
 DOIRA, H. (1983) Linkage maps of *Bombyx mori*—Status quo in 1983. Sericologia 23: 245—269。  
 河口 豊・藤井 博(1983) カイコの退化型小形卵卵巣におけるRNAの合成と蓄積。日蚕雑 52: 233—241。

- 河口 豊・藤井 博 (1984) カイコの退化型小形卵における卵巣タンパク質. 日蚕雑 53: 448—455.
- KAWAMURA, N. (1979) Polyploidy and size of serosa nuclei and cells in eggs of the silkworm, *Bombyx mori*. J. Seric. Sci. Jpn. 48: 77—85.
- KAWAMURA, N. and T. NAKADA (1981) Studies on the increase in egg size in tetraploid silkworm induced from a normal and a giant-egg strains. Jpn. J. Genet. 56: 249—256.
- 町田次郎 (1940) 家蚕卵の卵形成について, 附, 卵膜の形成. 蚕試報 10: 26—76.
- 大槻良樹 (1965) 家蚕の卵形成に関する研究, 特に異常形卵との比較による卵黄形成機構の解析. 京工織大繊維学報 4: 314—344.
- 高崎恒雄・高瀬正三・西崎泰博 (1956) 胚子発達期における栄養量の差異とその後の発育. 日蚕九支 pp. 17—19 [講要].
- 戸谷和夫 (1984) 家蚕における退化卵発現に関する研究. 蚕試報 29: 285—369.
- 渡部 仁 (1960) 家蚕の正反交雑における体重差と体重のヘテロシスについて. 日蚕雑 28: 352—357.