

臭蚕の遺伝学的研究

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	蜷木, 理 土井, 良宏 吉武, 成美
巻/号	65巻6号
掲載ページ	p. 436-440
発行年月	1996年12月

臭蚕の遺伝学的研究

蜷木 理¹⁾・土井良 宏²⁾・吉武成美³⁾

1) 農林水産省蚕糸・昆虫農業技術研究所

2) 九州大学農学部

3) 元東京大学農学部

(1996年5月7日 受領)

OSAMU NINAGI¹⁾, HIROSHI DOIRA²⁾, NARUMI YOSHITAKE³⁾: Genetical studies of the "skunk" mutant in the silkworm, *Bombyx mori*.

The spontaneous mutation "skunk" (symbol *sku*) gives malodor because of isovaleric acid in the feces and dies after spinning without pupation as a result of metabolic error. Linkage analysis showed that the *sku* gene was linked with the *or* translucent gene (*or*) mapped to the 8.9 position of the 22nd linkage group. A three-point experiment involving *sku*, *or* and *mw* was made in order to determine the position of the *sku* gene. The recombination value between *or* and *sku* was 7.04%, *sku* and *mw* 9.08% and *or* and *mw* 16.12%. Hence the arrangement of these 3 gene loci on the chromosome is in the order of *or-sku-mw*. Taking a correction factor into account, the locus of *sku* was determined to be 16.0 of the 22nd linkage group. 1) National Institute of Sericultural and Entomological Science, Agata, Matsumoto, Nagano 390; 2) Faculty of Agriculture, Kyushu University, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka 812; 3) Faculty of Agriculture, the University of Tokyo, Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113.

Key words: *Bombyx mori*, malodorous mutant, metabolic error, linkage, gene

臭蚕(くさこ)は吉武ら(1978a)により、悪臭のするカイコとして、保存中の日本種系統から発見された自然突然変異である。悪臭の源は排泄物(糞)であり、ホモ幼虫の血液中には脂肪族アミノ酸が異常に蓄積し(井口・吉武, 1978), さらに、糞中の臭のもとになる物質はイソ吉草酸である(吉武, 1978; 吉武ら, 1978b)ことが明らかとなっている。しかし、本形質を支配する遺伝子 *sku* については幼虫末期における劣性の致死遺伝子であることが判

明しているのみであり、その所属連関群並びに座位については不明のままであった。そこで、著者らはこの劣性致死遺伝子 *sku* に関して連関分析を行い、本遺伝子の座位を確定し得たのでここに報告する。本稿の共著者である吉武成美先生は1988年10月24日にご逝去されました。ここにご冥福をお祈りするとともに本論文の発表が遅くなりましたことをお詫び申し上げます。

材料と方法

標識として用いた系統はすべて九州大学農学部遺伝資源研究センター家蚕遺伝子部門に保存されているものである。*sku*はホモ致死であるので、交雑に

1) 〒390 松本市県 1-10-1
2) 〒812 福岡市東区箱崎 6-10-1
3) 〒113 東京都文京区弥生 1-1-1

は+/skuヘテロ個体を用いる以外に方法がない。そこで、標識系統との交雑に際してはsku系統の雄のみを用い、これら雄蛾はsku系統の雌と再交させ、sku系統相互交雑も併せて採種した。まず、再交区であるsku系統相互交雑区をプラスチック容器内に掃立てskuホモ特有の臭い(以下sku臭と記述する)の有無を調査した後、sku臭が確認された区の雄が交配した蛾区のみを交雑F₁として掃立てた。次いで、標識形質が優性の場合はF₁区において優性形質の発現を確認した雌にsku系統の雄を配したBF₁区を、標識形質が劣性の場合は交雑F₂区を各区1蛾別に掃立て、sku臭が確認できたもののみ飼育した。標識が卵色形質の場合、予め標識形質と正常形質とを区別しておき、それらを別々のプラスチック容器に掃立てsku臭を調査した。幼虫形質の場合は標識が判別できるようになった時点で標識個体と正常個体とに分け、別々の容器に入れ30分以上放置後sku臭を調査し連関の有無を判

定した。また、幼虫期に形質が識別できないものは、標識形質別に上簇させ蛹期以後の生存個体についてその分離数を調査し連関関係を判断した。用いた標識遺伝子を連関群別に示せば、Y (2), Ze (3), sk (4), oc (5), b-2 (6), q (7), st (8), I-a (9), w-2 (10), K (11), C (12), ch (13), Di, oa (14), bl (15), cts (16), bts (17), mln (18), nb (19), oh (20), rb (21), or (22), sp (23), Nd (25) および so (26) である。その他、交配形式の詳細についてはそれぞれ必要な個所に記述する。

結果と考察

sku 遺伝子の所属連関群

臭蚕系統の雄と正常系統雌との交雑F₁においてはsku臭のある蛾区は全く出現せず、BF₁区では概ね3蛾区中に1蛾、F₂区では4蛾に1蛾の割合でsku臭を発する蛾区が認められた。また、sku

Table 1. Linkage analysis of sku (examined in F₂ or BF₁ generation).

Genes (linkage groups)	Mating type		Segregation of characters	Remarks
	Female	Male		
Y (2)	(Y/+, +/sku) × (+/+, +/sku)		Y malodor, + malodor	Independent
Ze (3)	(Ze/+, +/sku) × (+/+, +/sku)		Ze malodor, + malodor	"
sk (4)	(sk/+, +/sku) sib		+ malodor, sk malodor	"
oc (5)	(oc/+, +/sku) sib		+ malodor, oc malodor	"
b-2 (6)	(b-2/+, +/sku) sib		+ malodor, b-2 malodor	"
q (7)	(q/+, +/sku) sib		+ malodor, q malodor	"
st (8)	(st/+, +/sku) sib		+ malodor, st malodor	"
I-a (9)	(I-a/+, +/sku) × (+/+, +/sku)		I-a malodor, + malodor	"
w-2 (10)	(w-2/+, +/sku) sib		+ malodor, W-2 malodor	"
K (11)	(K/+, +/sku) × (+/+, +/sku)		K malodor, + malodor	"
C (12)	(C/+, +/sku) × (+/+, +/sku)		C 58, + 61	"
ch (13)	(ch/+, +/sku) sib		+ malodor, ch malodor	"
Di (14)	(Di/+, +/sku) × (+/+, +/sku)		Di malodor, + malodor	"
oa (14)	(oa/+, +/sku) sib		+ malodor, oa malodor	"
bl (15)	(bl/+, +/sku) sib		+ malodor, bl malodor	"
cts (16)	(cts/+, +/sku) sib		+ malodor, cts malodor	"
bts (17)	(bts/+, +/sku) sib		+ malodor, bts malodor	"
mln (18)	(mln/+, +/sku) sib		+ malodor, mln malodor	"
nb (19)	(nb/+, +/sku) sib		+ malodor, nb malodor	"
oh (20)	(oh/+, +/sku) sib		+ malodor, oh malodor	"
rb (21)	(rb/+, +/sku) sib		+ malodor, rb malodor	"
sp (23)	(sp/+, +/sku) sib		+ 167, sp 47	"
Nd (25)	(Nd/+, +/sku) × (+/+, +/sku)		Nd 41, + 31	"
so (26)	(so/+, +/sku) sib		+ 19, so 4	"

臭のあった 蛾区では雌雄いずれにも *sku* 臭が確認され、異常性比となる蛾区は存在しなかった。すなわち、*sku* 遺伝子は性染色体には座乗しないことになる。

次に、*sku* について広く連関検索を行った結果を Table 1 に示す。第2連関群の標識として優性の黄血 (*Y*) 遺伝子を用いた場合、その交雑 BF_1 において、*Y* 個体と + 個体とをそれぞれ別々の容器に入れ臭気を調べたところ *Y* と + ずれにも *sku* 臭が認められた。この結果は *sku* 遺伝子が第2連関群には所属しないことを示すものである。第3連関群の劣性遺伝子枝蚕 (*sk*) との交雑 F_2 においては、5 齢盛食期に至り枝蚕が正常蚕と明瞭に区別できるようになった時点でそれぞれの形質について臭気を調べたが、この場合も +、*sk* ともに *sku* 臭が認められ、*sku* は第4連関群にも属さない。また、幼虫期には標識形質が識別できない第12連関群の金黃繭遺伝子 (*C*) に関しては、上蔭後化蛹した個体について繭色を調査した結果 $C : + = 56 : 61$ であった。すなわち、*sku* と *C* とが連関関係にあれば $C : +$ はおよそ $2 : 1$ となるはずであるが、結果は独立である場合の分離比 $1 : 1$ を示していた。同じく幼虫期では形質が識別できない劣性遺伝子 *sp* (紡錘形卵) との交雑 F_2 においては、その雌が産んだ各蛾区毎の卵形を調査した。結果は $+ : sp = 167 : 47$ となり、値は連関を表す $2 : 1$ ではなく、独立の場合の $3 : 1$ に近いものであったので *sku* 遺伝子は *sp* とも独立であるといえる。さらに、種々の遺伝子についても *sku* との連関の有無を調査したが、Table 1 に示す遺伝子とはすべて独立の結果を得た。

一方、第22連関群の標識遺伝子 *r* 油 (*or*) との結果を Table 2 に示す。*sku* と *or* との交雑 F_2 において、+^{or} 個体には臭蚕特有の臭いが確認されたが、*or* 側では *sku* 臭は全く認められなかった。もし、*sku* が *or* とは独立であれば +、*or* いずれの区にも異臭を放つ *sku* ホモ個体がそれぞれ4分の1ずつ分離するはずである。さらに、+^{or} および *or* 個体をほぼ同数ずつ残し飼育を続け、上蔭後繭を切開して化蛹状態を調査した結果、+^{or} 側では18頭中70頭が未化蛹であったのに対し *or* 側では調査した215頭すべてが化蛹していた。このことから

Table 2. Segregation in the F_2 progeny of the cross; *or* +/+ *sku*.

Phenotype		+	<i>or</i>
Larval stage		Malodor	No malodor
Pupal stage*	Survival	118	215
	Dead	70	0

* Results from the mixed batches of rearing.

も *sku* ホモ個体は *or* 側にも分離したことは確実であり、*or* と *sku* は連関関係にあることになる。したがって、臭蚕遺伝子 *sku* は第22連関群に所属することが明確である

sku 遺伝子の座位

第22連関群に所属することが明らかになっている遺伝子の中で、形質の識別が容易な *or* (*r* 油; 8.9) および *mw* (雛翅; 25.2) 遺伝子 (土井良ら, 1798; 藤井ら, 未発表) を選び、これらを基準として3点実験による *sku* 遺伝子の座位決定を試みた。3重劣性系統の育成は上述の *sku* と *or* との交雑 F_2 の後代から *or sku/or* + を育成し、別に育成済みの *or mw* 二重劣性との間で交雑を進めた。*or sku/or* + 系統の育成過程で、*or* と *sku* との交雑 F_2 における表現型 +^{or} 雌と *or* 雄との交雑を行い、38蛾を別々に掃立てたところ、その中の3蛾区において *sku* 臭が確認され、それら3蛾区中にはともに *or* 個体が半数以上出現していた。これら3蛾区の雄親の遺伝子型は交叉型の *or sku/or* + であるので、この結果から *or-sku* 間の交叉価8.23%が算出される。この *or* +/+ *sku* (♀) × *or* +/*or sku* (♂) の交配によって得られた *or* 個体は *sku* 遺伝子を保持するものとしめないものが $1 : 1$ の比で混在しているので、*or mw* 系統との交配に際しては、*or* の雄を予め育成しておいた *or mw* 雌に交配した後、同一蛾区内の + *or* (*or* +/+ *sku*) 雌と再交させ *sku* 遺伝子の有無を検定し (2蛾に1蛾の割合で *sku* 臭が認められる)、確実に *or* +/*or sku* 雄が交配した蛾区を *or mw* × *or sku* の交雑 F_1 として掃立てた。 F_2 区において有臭区を1蛾区飼育したが、*mw* 個体が22頭しか得られなかったので、この中から交叉型を検出することは困難と判断し、

+*mw* 同志の交雑を行い F₃ を得た。ここで用いた +*mw* の大部分は非交叉型の *sku*, *mw* 相反ヘテロであるので、掃立てた 4 蛾区すべて有臭であった。さらに、F₃ で分離した +*mw* 雌と *mw* 雄との交雑区 (F₄) を 29 蛾区掃立てたところ 3 蛾区に *sku* 臭を認めたので、これらを蛾区別に飼い上げ、化蛹後 *mw* に関して調査したところいずれの区にも *mw* が出現していた。これらの区の交配形式は *sku* + / + *mw* (♀) × *sku mw* / + *mw* (♂) であるので、この世代の *mw* 同志の交雑による F₅ では 4 蛾区に 1 蛾区の割合で *sku* 臭が認められるはずである。この *sku* 臭のあった蛾区の生存個体の遺伝子型は *or sku mw* / *or + mw* と *or + mw* ホモとが 2 : 1 の割合で混在するので、以後 *sku* ホモ個体が分離する蛾区は 9 蛾中 4 蛾の割合となる。

3 点実験は連関検索のための F₁ 作りの場合と同様に、*sku* 遺伝子の有無を検定した後、確実に *or sku mw* / *or + mw* が正常個体 (+*or + sku + mw* ホモ) に交配した蛾区を F₁ として掃立て、その F₂ において *sku* 臭のあった蛾区を飼育し調査に供した。*sku* ホモは幼虫期にも減少する傾向があり、蛹期までには致死するのであるから、蛹以降に形質が識別される *mw* は調査し得ない。そこで、以下の組換実験では *or sku mw* / + + + の相互交雑区においては、予め幼虫期に *or* と + とを区別しておき、それらを別々に上簇させ、化蛹後生存個体 (+*sku*) についてのみ翅型を調査した。

上記の交雑 F₂ 区は 1 ~ 3 齢は 1 蛾育、4 齢以降は +*or* は 1 蛾育、*or* 個体は 3 ~ 4 蛾区の混合育とし、合計 18 蛾区を調査した結果を Table 3 に示す。総数 3,846 頭の中には 2 重交叉型とみられる *or* +

mw 個体が 14 頭出現したが、これらは蛹の表皮が柔らかく、着色も不完全であり、かつ 1 頭も羽化することはなかったことから、これらの遺伝子型が *or + sku* / *or sku mw* であったかは疑問が抱かれる。吉武ら (1978a) は *sku* ホモ個体はエクジステロンの投与によって容易に蛹化が誘導されることを報告しており、さらに、*or + mw* を除外した 3,832 頭から求めた *or - mw* 間の距離 16.12 は、土井良ら (1978) が総数 3,453 頭から求めた *or - mw* 間 16.3 に近似する。よって、表現型 *or + mw* であった 14 頭は非交叉型の *or sku mw* ホモの漏出現象 (leakage) であると判断し、組換価算出の際には除外することとした。本 3 点実験において得られた総数 3,832 頭から干渉を 1 とし組換価を算出すると、*or - sku* 間 7.04%, *sku - mw* 間 9.08%, *or - mw* 間 16.12% となることから、これら 3 遺伝子の配列は *or - sku - mw* の順であることが明確である。

現在、第 22 連関群の地図上、*or* と *mw* との遺伝子間距離は 16.3 とされているので、これを基準として本実験値 *or - sku* 間 7.04 を補正すれば *or - sku* 間組換価は 7.11% となる。したがって、*sku* 遺伝子は *or* 座から右方へ 7.1 となるので、その座位は第 22 連関群の 16.0 と決定される。

家蚕にける生化学的突然変異はさほど珍しいものではないが、臭蚕のように生物にとって生存に関わる基本的代謝系に異常を持ち、蛹化直前に致死するような突然変異は知られていなかった (吉武ら, 1978a, b), 本研究によって *sku* 形質を支配する遺伝子の座位が確定され、本系統を用いた効率よい研究が可能となったことから、今後の遺伝学的研究の進展が期待される。

Table 3. Segregation in the progeny obtained by sib-mating of *or sku mw* / + + +.

Phenotype	+ + +	<i>or</i> + +	+ + <i>mw</i>	<i>or</i> + <i>mw</i>
	-----	-----	-----	-----
	Non	<i>or - sku</i>	<i>sku - mw</i>	Double
	crossovers	crossovers	crossovers	crossovers
Total of 18 batches	3,626	90	116	(14*)

* All of them were excluded from the calculation on account of the death in the pupal stage.

摘 要

臭蚕(くさこ)は吉武らによって発見された自然突然変異で、ホモ個体はアミノ酸代謝異常のため糞中にイソ吉草酸が排泄され、異常な臭気を放つものである。本形質は劣性の致死遺伝子 *sku* によって支配されることが明らかとなっているものの、*sku* 遺伝子の所属連関群並びに座位は不明であったので遺伝子分析を行った。連関分析の結果、*sku* 遺伝子は第22連関群に属していることが判明し、さらに、*or*, *mw* 両遺伝子を基準とした3点実験を行った結果、*sku* 遺伝子の座位を第22連関群16.0と決定した。

文 献

- 土井良 宏・筑紫春生・木原 始 (1978): カイコの新連関群, *or-mw*. 日蚕雑, 47, 27-31.
井口民夫・吉武成美 (1978): 臭蚕のアミノ酸代謝にみられる異常性. 日蚕雑, 47, 154-160.
吉武成美 (1978): くさいカイコの話. 化学と生物, 16, 437-439.
吉武成美・小林正彦・宮下民雄 (1978): 蚕の新しい突然変異臭蚕について. 日蚕雑, 47, 32-34.
吉武成美・小林正彦・小川洋子 (1978): 臭蚕の糞に存在する臭い物質について. 日蚕雑, 47, 161-165.