

学位論文題名

低温処理により誘起した家蚕倍数体の諸性状に関する研究

学位論文内容の要旨

本論文は、総頁数126頁、表24、図26からなる和文論文で、他に参考論文12編が添えられている。

動物の倍数体研究において、家蚕は最も研究の進んだ実験材料であり、様々な人為的倍数体誘起法によって誘起され得る。中でも低温処理(-10℃、24hr)は容易に倍数体蚕を誘起する。家蚕の性染色体は雄がZZ、雌がZWで構成される。倍数体になると3倍体、4倍体ともにそれぞれの倍数体雌について異なる性染色体構成を示す。

本研究においては、家蚕3倍体と4倍体について性染色体構成の違いにより引き起こされる形態的ならびに細胞遺伝的变化を調査した。以下、3倍体、4倍体の家蚕において新しく明らかになったそれぞれの性状4項目について概要を述べる。

1. 家蚕4倍体雌における性染色体対合の選択性の解明

低温処理によって誘起した4倍体雌(ZZWW)に伴性劣性遺伝子を持つ4種類の2倍体雄を交配して得た3倍体にはZZZ雄ならびにZZWとZWWの2種類の性染色体構成を持った雌が存在した。伴性劣性形質により判別が可能であったZWWについては1蛾区内の個体数が非常に少なく1.5%前後にとどまった。

3種類の性染色体構成の3倍体は2倍体雄から必ずZ配偶子を受け取っているのので、4倍体雌の配偶子はZZ、ZWおよびWWが形成されたと考えられる。3種類の正常系統および4種類の限性系統4倍体雌に伴性赤蟻系統を交配して得られた3倍体の性染色体構成の分離比から、4倍体雌における性染色体の対合割合を算出した。その結果、いずれの場合にもZとZおよびWとWの間での対合割合がZとW間での割合よりも多く、ランダムな対合は行われていなかった。性染色体の対合選択性は正常系統よりも限性系統において著しく、転座染色体の長さとの関係が示唆された。

限性系統の「ほまれ」を用いた実験において低温処理によって誘起された4倍体雌(ZZWW)の性染色体の対合選択性は、同品種内交配由来の4倍体(Homotype)よりも異品種間交配由来の4倍体(Heterotype)において顕著であった。この事実を細胞学的に確認するために、限性黄繭系統(Sy)の卵母細胞の性染色体対の割合(ZZ+WW):(ZW+ZW)を調査したところ、Homotypeで2.1:3.4であったのに対して、Heterotypeでは1:8と約4.9倍もの選択性の増加が認められた。

2. 3倍体蚕における卵サイズ決定機構ならびに大卵(Ge)系統を用いた卵サイズと卵数との関係の解明

低温処理によって誘起された4倍体雌に2倍体雄を交配して得られた次代3倍体の卵サイズを調査したところ、ZZW雌では異常形卵を混在する正常サイズ卵を産下したのに対してZWW雌では大型卵が形成されたことから、W染色体上に卵サイズを決定する遺伝子(*Esd*: Egg size determining gene)が存在することを確認した。*Esd*遺伝子の発現を調査するためにZWW卵巣をZZW個体に移植すると同時に*Esd*遺伝子と同一遺伝子と考えられるGe系統と正常系統間における相互の卵巣移植を行った。その結果、移植卵巣には本来と同じサイズの卵が形成され、*Esd*遺伝子は卵巣内の遺伝的要因以外の体内環境に影響されることなく発現することが明らかとなった。

Ge系統と正常系統を用いた片側卵巣摘出による卵サイズと卵数の関係の調査を行ったところ、双方の系統ともに卵サイズが10~20%増加したが、卵数の増加が認められたのはGe系統に限られた。また、Ge系統における卵数の増加は化蛹3日までであったのに対して、卵サイズの増加は化蛹4日まで続いた。これらの事実は、家蚕の卵形成において、栄養条件の限られた環境下では*Esd*遺伝子とその発現を抑制されて、卵数を優先して卵質の決定を行っていることを示した。

3. 卵殻紋様の大きさを決定する遺伝子の発見と解析

家蚕の卵殻表面に認められる網目状構造の面積を様々な性染色体構成を有する4倍体、3倍体について2倍体との比較を行った。網目状構造の面積は倍数性に関わらず $ZW(2n)=ZWW(3n)<ZZW(3n)=ZZWW(4n)<ZZZW(4n)$ の順であったことから、Z染色体上に*Esd*に続く2番目の数量因子の存在を提唱し、卵殻網目サイズ決定遺伝子(*Pgd*: Polygonal pattern size determining gene)と命名した。この遺伝子と*Esd*との発現に関する関係を調査するためにGe系統(TG)と正常系統(rw)の倍数体を誘起し、卵サイズと網目面積を比較したところ、前者には $rw2n<rw4n=TG2n<TG4n$ の関係が、後者には $rw2n=TG2n<rw4n<TG4n$ の関係が存在したことから、*Esd*遺伝子と*Pgd*遺伝子はそれぞれ独立して発現していることが明らか

になった。さらに、2種類の性染色体構成を持つ4倍体雌(ZZZWとZZWW)における同様の調査においても、卵サイズは $ZW=ZZZW<ZZWW$ 、網目サイズは $ZW<ZZWW<ZZZW$ の関係が存在したことから、両者の独立性が確認された。

4. 4倍体雄における人為的処理による妊性獲得法の確立と次世代4倍体蚕の性状調査

家蚕4倍体雄(ZZZZ)の不妊性の要因を調査する目的で、4倍体雄の妊性獲得法を検討した結果、5齢期におけるアラタ体片側除去、高温-多湿処理および絶食処理が有効であることが示された。特に、5齢期の絶食処理が効果的であったことから、4倍体雄の妊性獲得に関する絶食処理の最適条件を調査して、5齢60時間からの30時間ならびに48時間前後の絶食処理が適当であることが明らかとなった。家蚕4倍体雄の不妊は有核精子の形成異常に起因するが、4眼と精母細胞の減数分裂時期がずれることがその原因となることが示唆された。

5齢期におけるアラタ体片側除去、高温-多湿処理および絶食処理を施して、妊性を獲得させた4倍体雄と低温処理によって誘起した4倍体雌との交配によって、F₁4倍体を得られた。F₁4倍体の生存率を性染色体構成ごとに調査したところ、ZZZZ雄とZZWW雌に比べてZZZW雌が著しく高い死亡率を示した。ZZZW雌の死亡時期は、孵化、吐糸、化蛹および羽化時期に著しく向上することから、体内環境の変化に関与する遺伝子の発現は性染色体構成のバランスと何らかの関連があることが示唆された。

以上のように、本研究は3倍体、4倍体蚕の卵形質の比較からW染色体上に卵サイズ決定遺伝子(*Esd*)、ならびに2倍体、3倍体、4倍体の卵殻における網目サイズを比較検討することから卵殻網目サイズ決定遺伝子(*Pgd*)の2つの新規遺伝子を発見するとともに、4倍体蚕におけるいくつかの新しい性状を明らかにした。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 飯 塚 敏 彦
副 査 教 授 諏 訪 正 明
副 査 教 授 三 上 哲 夫
副 査 助 教 授 伴 戸 久 徳

学 位 論 文 題 名

低温処理により誘起した家蚕倍数体の諸性状に関する研究

本論文は、総頁数126頁、表24、図26からなる和文論文で、他に参考論文12編が添えられている。

動物の倍数体研究において、家蚕は最も研究の進んだ実験材料であり、様々な人為的倍数体誘起法によって誘起され得る。中でも低温処理(-10℃、24hr)は容易に倍数体蚕を誘起する。家蚕の性染色体は雄がZZ、雌がZWで構成される。倍数体になると3倍体、4倍体ともにそれぞれの倍数体雌について異なる性染色体構成を示す。

本研究においては、家蚕3倍体と4倍体について性染色体構成の違いにより引き起こされる形態的ならびに細胞遺伝的変化を調査した。以下、3倍体、4倍体の家蚕において新しく明らかになったそれぞれの性状4項目について概要を述べる。

1. 家蚕4倍体雌における性染色体対合の選択性の解明

低温処理によって誘起した4倍体雌(ZZWW)に伴性劣性遺伝子を持つ4種類の2倍体雄を交配して得た3倍体にはZZZ雄ならびにZZWとZWWの2種類の性染色体構成を持った雌が存在した。この中、ZWWでは1蛾区内の個体数が非常に少なく1.5%前後にとどまった。

3種類の性染色体構成の3倍体は2倍体雄から必ずZ配偶子を受け取っているのので、4倍体雌の配偶子はZZ、ZWおよびWWが形成されたと考えられる。各種系統4倍体雌に伴性赤蟻系統を交配して得られた3倍体の性染色体構成の分離比から、4倍体雌における性染色体の対合割合を算出した。その結果、いずれの場合にもZとZおよびWとWの間での対合割合がZとW間での割合よりも多く、ランダムな対合は行われていなかった。

限性系統の「ほまれ」を用いた実験において低温処理によって誘起された4倍

体雌(ZZWW)の性染色体の対合選択性は、同品種内交配由来の4倍体(Homotype)よりも異品種間交配由来の4倍体(Heterotype)において顕著であった。

2. 3倍体蚕における卵サイズ決定機構ならびに大卵(Ge)系統を用いた卵サイズと卵数との関係の解明

低温処理によって誘起された4倍体雌に2倍体雄を交配して得られた次代3倍体の卵サイズを調査したところ、ZZW雌では異常形卵を混在する正常サイズ卵を産下したのに対してZWW雌では大型卵が形成されたことから、W染色体上に卵サイズを決定する遺伝子(*Esd*: Egg size determinig gene)が存在することを確認した。また、卵サイズが遺伝的に異なる個体間の卵巣移植により、*Esd* 遺伝子の発現と宿主環境との関係を明らかにした。

3. 卵殻紋様の大きさを決定する遺伝子の発見と解析

家蚕の卵殻表面に認められる網目状構造の面積を様々な性染色体構成を有する4倍体、3倍体について2倍体との比較を行った。網目状構造の面積は倍数性に関わらずZ染色体の多い順であったことから、Z染色体上に*Esd*に続く2番目の数量因子の存在を提唱し、卵殻網目サイズ決定遺伝子(*Pgd*: Polygonal pattern size determining gene)と命名した。

4. 4倍体雄における人為的処理による妊性獲得法の確立と次世代4倍体蚕の性状調査

家蚕4倍体雄(ZZZZ)の不妊性の要因を調査する目的で、4倍体雄の妊性獲得法を検討した結果、5齢期におけるアラタ体片側除去、高温-多湿処理および絶食処理が有効であることが示された。特に、5齢期の絶食処理が効果的であったことから、4倍体雄の妊性獲得に関する絶食処理の最適条件を調査して、5齢60時間からの30時間ならびに48時間前後の絶食処理が適当であることが明らかとなった。家蚕4倍体雄の不妊は有核精子の形成異常に起因するが、4眠時期と精母細胞の減数分裂時期がずれることがその原因となることが示唆された。

以上のように、本研究は3倍体、4倍体蚕の卵形質の比較からW染色体上に卵サイズ決定遺伝子(*Esd*)、ならびに2倍体、3倍体、4倍体の卵殻における網目サイズを比較検討することから卵殻網目サイズ決定遺伝子(*Pgd*)の2つの新規遺伝子を発見するとともに、4倍体蚕におけるいくつかの新しい性状を明らかにした。得られた知見は、学術的な新発見を含み高く評価できる。

よって審査員一同は、別に行った学力確認試験の結果と合わせて本論文の提出者、佐原健は博士(農学)の学位を受けるに十分な資格あるものと認定した。