

## カイコの絹蛋白質フィブロインH鎖に関する遺伝学的研究

中山, 光育  
香蘭女子短期大学

土井良, 宏  
九州大学農学部遺伝子資源研究センター

渡辺, 忠雄

<https://doi.org/10.15017/22248>

---

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 42 (1/2), pp.27-35, 1987-12. 九州大学農学部  
バージョン：  
権利関係：



## カイコの絹蛋白質フィブロイン H 鎖に関する遺伝学的研究

中山 光育<sup>1)</sup>・土井良 宏・渡辺 忠雄<sup>2)</sup>

九州大学農学部遺伝子資源研究センター  
(1987年6月10日 受理)

### Linkage Studies of the Fibroin Heavy Chain Gene in *Bombyx mori*

MITSUIKU NAKAYAMA, HIROSHI DOIRA and TADAO WATANABE  
Institute of Genetic Resources, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University 46-15, Fukuoka 812

#### 緒 言

カイコは幼虫最終齢期,特にその後半の2~3日の間に多量の絹蛋白質を合成し,吐糸して繭を作る。繭層を構成する繭糸は主としてフィブロインとセリシンの2種類の蛋白質からなり,その割合はフィブロインが約75%,セリシンが約25%である。絹蛋白質の合成器官である絹糸腺は1対の長い管状組織が前部の吐糸管部で相合して吐糸口に開口するものであるが,形態的にも機能的にもさらに前部,中部,後部の3区に分れている。絹蛋白質の主成分であるフィブロインは後部絹糸腺で特異的に合成され腺腔内に分泌されるのに対し,セリシンは中部絹糸腺において合成,分泌される。このうちセリシンは製織前後の精練過程において除去され,絹繊維として供せられるのはフィブロインのみである。

近年,真核細胞における遺伝情報の発現をめぐる研究のモデル系としてカイコのフィブロインが関心を集めているが,詳細な構造研究の結果,フィブロインは分子量約350,000の大サブユニット(H鎖)と分子量約25,000の小サブユニット(L鎖)とが,1:1のモル比をもつて結合したものであることが明らかにされた(Shimura *et al.*, 1982)。一方, Sprague (1975) は交雑種の絹糸腺からフィブロインを抽出して電気泳動分析を行い,易動度が僅かに異なる2本のフィブロイン(H鎖)バンドを検出した。これを契機としてフィブロインH鎖の系統間比較が行われた結果,分子量的に

変異に富んでおり, SDS アクリルアミドゲル電気泳動における易動度の遅速によつて Fast, Moderate, Slow (Hyodo and Shimura, 1980), 或いは Small, Median, Large (Sprague *et al.*, 1979) の3群に大別されることが明らかにされた。著者らもフィブロインH鎖の系統間多型を調べ,その構造遺伝子 *Fib-H* の連関分析を実施し,裸蛹遺伝子 *Nd* と連関することを認めたが(渡辺ら, 1980),その後 *Nd* 遺伝子に関して混乱を生じたため,取纏めを見送つていた。幸いその混乱は非相同染色体間の附着に起因することが判明し, *Fib-H* 遺伝子の所属連関群を最終的に確定することができたのでここに報告する。

#### 材料と方法

##### 1. 供試系統と標識遺伝子

九州大学農学部家蚕遺伝子実験施設(現在,遺伝子資源研究センター)において系統内交配により維持保存されてきたカイコ約450系統の中から,来歴,保有形質などを考慮して選んだ58系統について,まずフィブロインH鎖の電気泳動における易動度の遅速を調べた。その結果に基づいて交配実験を行つたが,実際にフィブロインH鎖遺伝子の連関検索に用いた標識遺伝子は *p(2)*, *oc(5)*, *q(7)*, *ch(13)*, *bl(15)*, *Gl(19)*, *tub(23)*, *oy(25)*, *Ym(26)*, *so(27)*, 及びフィブロインをほとんど分泌しない *Nd(25)* と *Nd-t* である( ( ) 内は所属連関群)。これらのうち,本報の結果に直接関係する主要なものについて,以下に性状を簡略に記述する。

裸蛹 (*Nd*): フィブロインをほとんど合成せず,セリシンのみからなる薄い繭を作る優性の自然突然変異

1) 香蘭女子短期大学  
2) 九州大学名誉教授, 前食品衛生化学講座教授

である。繭を全く作らないものも多い(仲野, 1951)。豊油 *oy* と共に第 25 連関群に所属する(土井良ら, 1985)。

*t* 裸蛹 (*Nd-t*): 仲野系 *Nd* に延 4 系統を交雑して連関検索用に育成した裸蛹系統に由来する。この交雑系統の裸蛹遺伝子と *tub* との間に連関を見出し、第 23 連関群の基点として *Nd* と記載した(土井良ら, 1980)。しかし、その後 *Nd* とは独立とされていた *sp* が *tub* と連関することを見出し、再調査を行つた結果、仲野原系統の *Nd* は *sp* のみならず *tub* とも独立であることを確認し、交雑系の裸蛹型遺伝子を *Nd-t* と改訂したものである(土井良ら, 1984)。さらに *Nd-oy* 連関群の発見に伴い成因分析を行つた結果、*Nd-t* と改めたものは遺伝子突然変異ではなく、染色体異常 T(23; 25)*Nd* であることが判明したが(土井良ら, 1987)、本報においては便宜上、従来通り *Nd-t* と表示する。

樽蚕 (*tub*): 幼虫の胸部環節が短く、体の中央部が膨満するため、全体として紡錘形を呈する。遺伝的には劣性で第 23 連関群に所属する(土井良ら, 1980)。

豊油 (*oy*): 受精期の卵をメチルニトロソウレア溶液に浸漬して誘発された油蚕で、皮膚の透明性は低～中庸度に属する。第 25 連関群所属の劣性突然変異である(河口ら, 1985)。

## 2. 電気泳動分析

まず前記の諸系統についてフィブロイン H 鎖の型を調査した。各系統 10 頭を用いて熟蚕期に個体別に後部絹糸腺を採取し、細切して 1% SDS, 1%メルカプトエタノール, 8M 尿素, 20%グリセリンを含む 0.01 M ト

リスー塩酸緩衝液 (pH 6.8) でフィブロインを抽出した。組織片を除去した後、等量の 10% SDS と混合し、90°C 5 分間加熱したものを泳動用試料とした。スラブ電気泳動は Laemmli (1970) の方法に準じて、アクリルアミドの 4~12% のグラジェントゲルを作成し、0.1% SDS 含有トリスーグリシン緩衝液 (pH 8.8) を用いて 25 mA の定電流で 24 時間泳動した。蛋白質の染色は 0.04% コマシーブリリアントブルー R 250 液によつた。なお、ゲル作成器は SJ-1060 (アトー KK) を使用した。

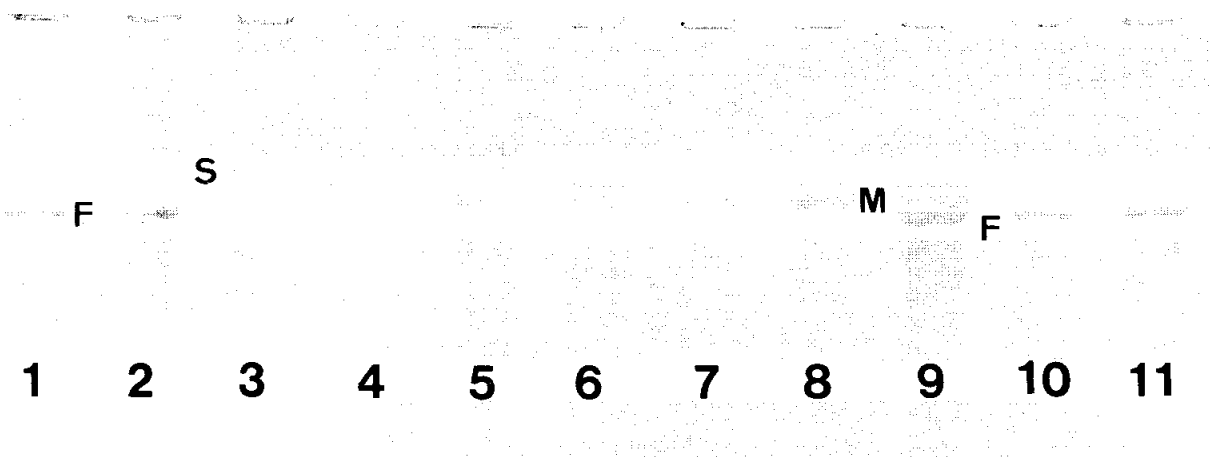
## 3. 連関検索

フィブロイン H 鎖遺伝子 *Fib-H* が座乗する染色体を検索するに際しては、標識形質系統と H 鎖の易動度を異にする正常系統との間で交雑を行い、標識形質が劣性の場合には交雑  $F_1$  雌に標識形質系統雄を、優性の場合には正常系統雄を、それぞれ戻し交雑して  $BF_1$  に分離する正常形質個体と標識形質個体各 6 頭をとり、上記の方法により個体別に泳動用試料液を調製して、1 枚のゲル上で同時に泳動した。*Nd* 及び *Nd-t* と *Fib-H* 遺伝子との関係を検定するには、裸蛹系ではほとんどフィブロインが分泌されないため、H 鎖の易動度が速い k25 及び易動度の遅い e34 の両正常系統を裸蛹系統に交雑し、前例と同様にして  $BF_1$  における正常個体 10 頭について H 鎖の型を調べた。

## 結 果

### 1. フィブロイン H 鎖の系統間多型

保存飼育中のカイコ 58 系統についてフィブロイン H 鎖の SDS グラジェントゲル電気泳動を行つた。そ



**Fig. 1.** Gel electrophoretic profiles of fibroin heavy chain extracted from the posterior silk glands. Sample solution was applied into the slit on the top of each lane and the direction of run was from the cathode to the anode. The fibroin heavy chain was classified into three classes; F: fast mobility, M: moderate mobility, S: slow mobility. 1: p 31, 2: mixture of p 31 and u 21, 3: u 21, 4: e 34, 5: mixture of e 34 and e 02, 6: e 02, 7: u 31, 8: p 22, 9: mixture of p 22 and k 25, 10: k 25, 11: p 31.

**Table 1.** Polymorphism of the fibroin heavy chain on SDS-polyacrylamide gel electrophoresis among inbred strains of silkworm.

Mobility (allele)	Strain						
Fast ( <i>Fib-H<sup>F</sup></i> )	c 10	d 14	e 04	f 03	k 01	k 25	k 42
	n 11	o 21	p 31	P 60			
Moderate ( <i>Fib-H<sup>M</sup></i> )	b 22	b 84	c 13	c 41	c 42	c 50	c 60
	e 02	e 11	e 21	f 36	g 01	g 33	k 04
	k 12	l 21	l 23	o 30	o 31	o 51	o 56
	o 66	o 80	p 22	p 24	u 31	w 46	
Slow ( <i>Fib-H<sup>S</sup></i> )	c 11	e 15	e 25	e 34	i 21	l 90	o 32
	p 44	t 15	u 21	w 32			

の一部を Fig. 1 に示す。フィブロインH鎖の易動度は系統間での変異が豊富であり、かなり連続的ではあるが、易動度が速いF型 (*Fib-H<sup>F</sup>*, lane 1, 10, 11), 中庸のM型 (*Fib-H<sup>M</sup>*, lane 6, 7, 8), 遅いS型 (*Fib-H<sup>S</sup>*, lane 3, 4) の3群に一応大別することができる。その分類のために泳動直前に異型系統の試料液を等量混合して確認した。Fig. 1 中, lane 2 はF型+S型, lane 5 はM型+S型, lane 9 はM型+F型である。また、交雑後の世代数が比較的短い育成系統を中心として、同一系統内でも個体間で易動度が異なり、2本の泳動帯を有するものがみられる場合もあつた。例えばM, Sの2本型個体とM型及びS型個体の3種が検出されるなどであるが、2本型は試料液混合の場合と同じであつた。このようなヘテロな系統を除いて、フィブロインH鎖の易動度により各供試系統を分類すれば Table 1 の如くである。

## 2. フィブロインH鎖遺伝子の連関検索

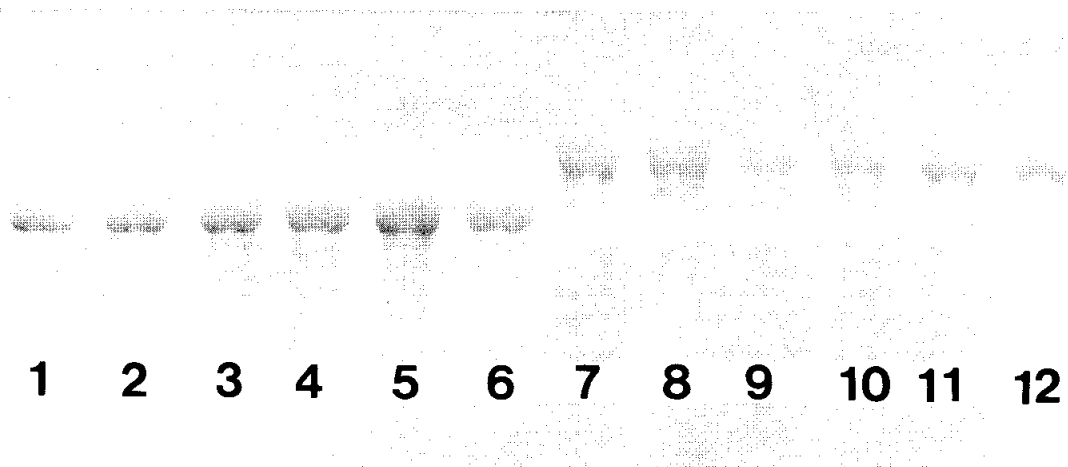
正常形質系統の中からフィブロインH鎖の易動度が速い *Fib-H<sup>F</sup>* をもつ k25 系統と、易動度の遅い *Fib-H<sup>S</sup>* の e34 系統を選び、標識形質系統のH鎖の型により適宜交雑に供した。H鎖の易動度が異なる2系統間での交雑  $F_1$  のヘテロ個体では、雌雄いずれも両親系統と同じ易動度の2成分を有していた。交雑  $F_1$  雌に標識形質に関し劣性の親系統雄を戻し交雑した  $BF_1$  では、 $F_1$  と同じ2成分を有するヘテロ型個体と、劣性形質系統と同じ易動度の1成分のみを有するホモ型個体とがほぼ同数ずつ分離した。したがって *Fib-H* 遺伝子は常染色体に座乗し、共優性的に発現されることが明らかである。さらに *p*, *oc*, *q*, *ch*, *bl*, *Gl*, *Ym*, *so* の諸遺伝子を標識に用いた  $BF_1$  においては、正常形質個体と標識形質個体の双方に *Fib-H* に関してヘテロ型とホモ型とを生じた。それ故、*Fib-H* 遺伝子はこれら諸遺伝子に対しては独立であることが確実

である。

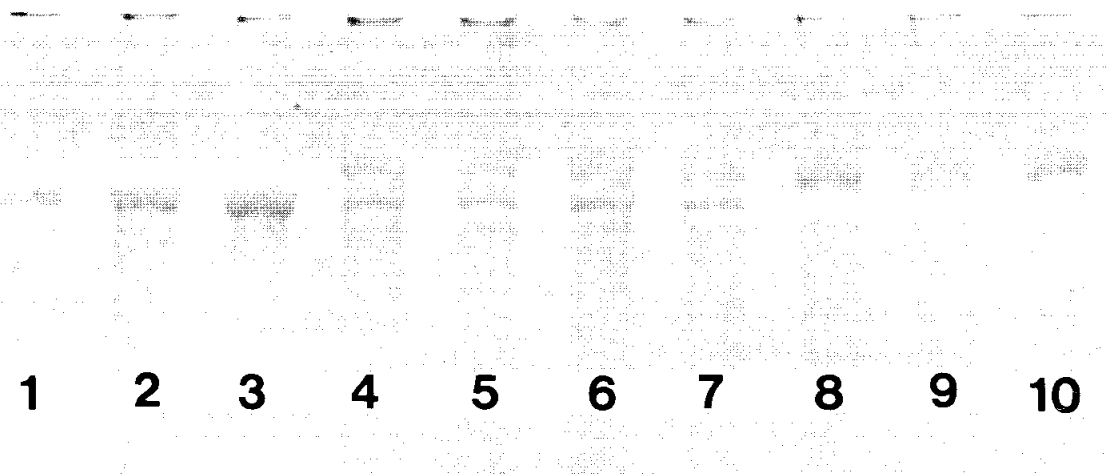
裸蛹 *Nd* においてはフィブロインがほとんど分泌されない。そこで *Nd* と *Fib-H* との関係を検定するには仲野系 *Nd* の保存系統 b41 と、正常形質系統の k25 (*Fib-H<sup>F</sup>*) 及び e34 (*Fib-H<sup>S</sup>*) との交雑  $F_1$  を作成し、それぞれの  $F_1$  雌に k25 或いは e34 系統の雄を戻し交雑して、両交雑区に分離する +<sup>*Nd*</sup> 個体のフィブロインH鎖の型を調べた。その結果は Fig. 2 に示すように、 $BF_1$  区に分離した +<sup>*Nd*</sup> 個体のフィブロインH鎖は *Fib-H<sup>F</sup>* 交雑区ではすべてF型であり、一方の *Fib-H<sup>S</sup>* との交雑区では例外なくS型であつた。したがって *Fib-H* 遺伝子と *Nd* とは連関関係にあると判断される。

これをさらに確認するため、*Nd* と共に第23連関群を構成するとされていた樽蚕 *tub* と *Fib-H* との検定交雑を行つた。Fig. 3 に示すように w23 系統の *tub* (lane 1~3) は *Fib-H<sup>M</sup>* を有していたので、これに *Fib-H<sup>S</sup>* の e34 系統 (lane 8~10) を交雑したところ、その  $F_1$  (lane 4~7) はすべてF, M両成分を有するヘテロ型であつた。この  $F_1$  雌に *Fib-H<sup>M</sup>* の *tub* 雄を戻し交雑した  $BF_1$  区において、幼虫体型別にH鎖の型を調べた結果の一部を Fig. 4 に掲げる。*tub* 幼虫 (lane 2~6), 正常幼虫 (lane 7~11) の双方にMS型とM型とが分離したが、調査総数22頭のうち+幼虫ではMS型5頭:M型6頭, *tub* 幼虫ではMS型7頭:M型4頭であつた。すなわち、*Fib-H* 遺伝子と *tub* とは独立であることに疑問の余地はない。ここに *Fib-H* を介して *Nd*, *tub* の3遺伝子間に連関関係の矛盾があることになつた。

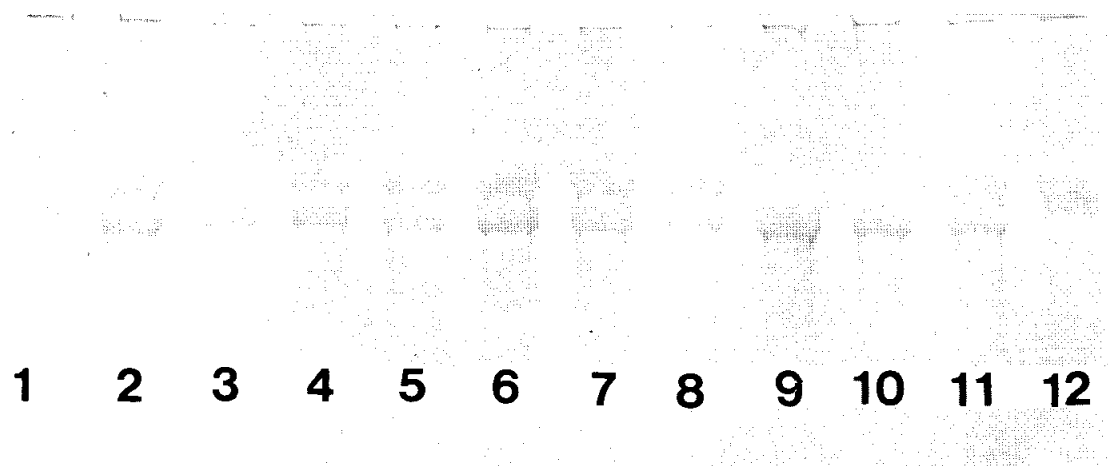
そこで次に *tub* との連関発見後、w23系統として *Nd/tub* ♀ × *tub* ♂ の戻し交雑により維持してきた系の裸蛹遺伝子と *Fib-H* 遺伝子との関係を調べた。後に b41 系統の *Nd* は *tub* と独立であり、本系の裸蛹型遺



**Fig. 2.** Fibroin heavy chain phenotypes in the +<sup>Nd</sup> progeny of the cross (*Nd/k25*)♀ × *k25*♂ and (*Nd/e34*)♀ × *e34*♂. 1-5: F<sub>1</sub> × *k25*, 6: parental strain *k25(Fib-H<sup>f</sup>)*, 7: parental strain *e34(Fib-H<sup>s</sup>)*, 8-12: F<sub>1</sub> × *e34*.



**Fig. 3.** Gel electrophoretic profiles of fibroin heavy chain. 1-3: *w23 tub(Fib-H<sup>M</sup>)*, 4-7: *w23* × *e34*, 8-10: *e34(Fib-H<sup>s</sup>)*.



**Fig. 4.** Fibroin heavy chain phenotypes in the BF<sub>1</sub> progeny of the cross +*Fib-H<sup>s</sup>/tub Fib-H<sup>M</sup>*♀ × *tub Fib-H<sup>M</sup>*♂. 1: parental *tub* strain, 2-6: *tub* larva in BF<sub>1</sub>, 7-11: +larva in BF<sub>1</sub>, 12: parental +strain.

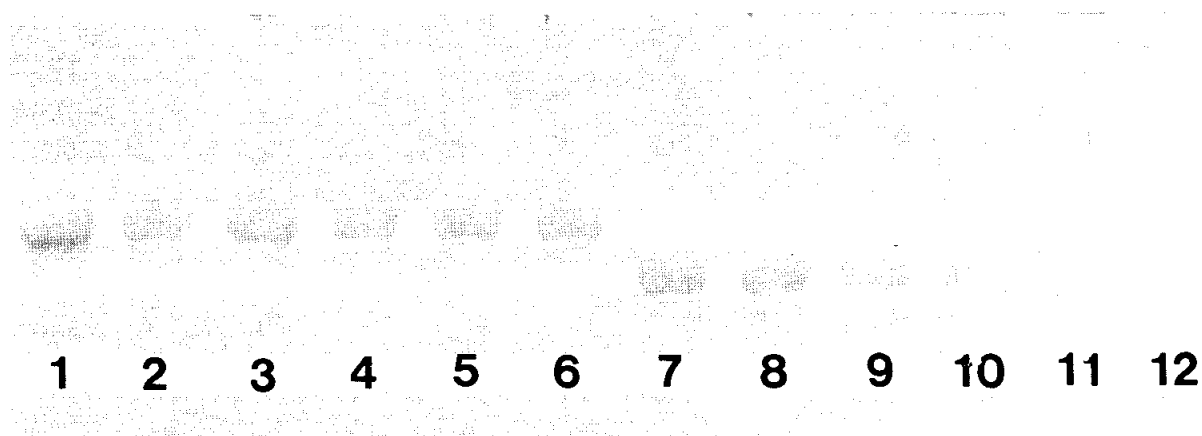


Fig. 5. Fibroin heavy chain phenotypes in the  $+^{Nd-t}$  progeny of the cross  $(Nd-t/e34)♀ \times e34♂$  and  $(Nd-t/k25)♀ \times k25♂$ . 1: parental strain e34(*Fib-H<sup>S</sup>*), 2-6:  $F_1 \times e34$ , 7-11:  $F_1 \times k25$ , 12: parental strain k25(*Fib-H<sup>F</sup>*).

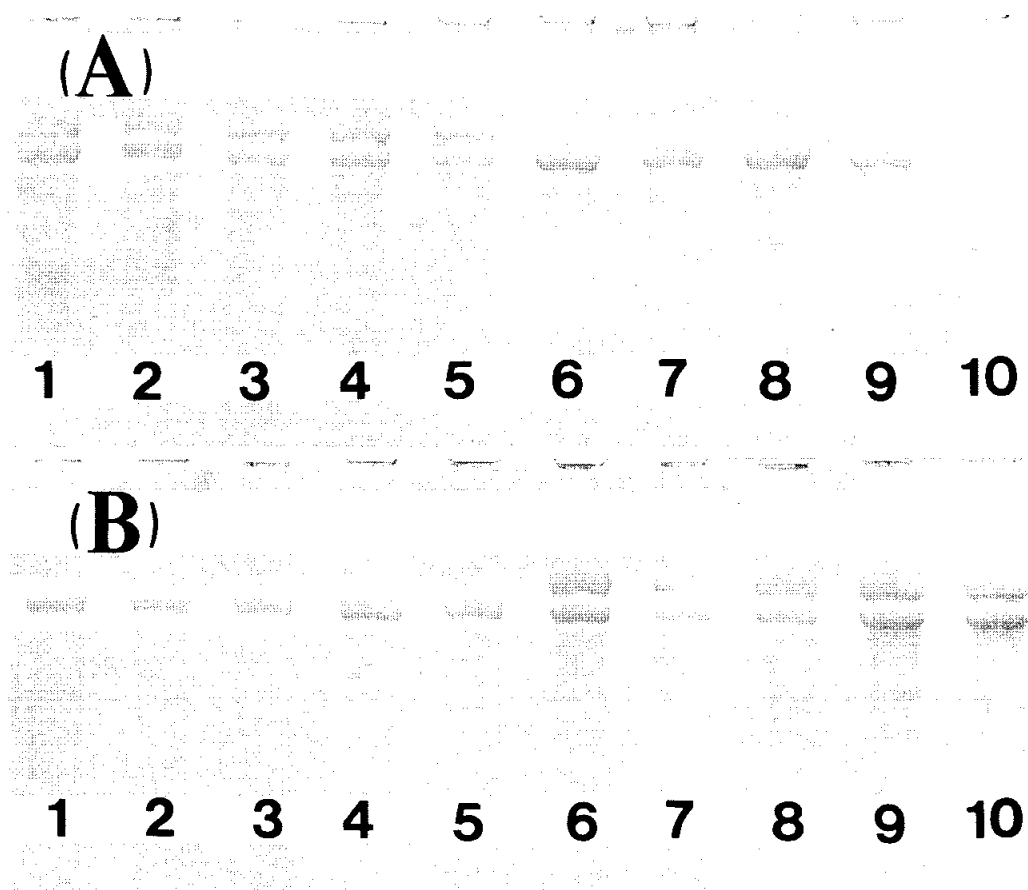


Fig. 6. Fibroin heavy chain phenotypes in the  $BF_1$  progeny of the cross  $++ Fib-H^S/tub oy Fib-H^M♀ \times tub oy Fib-H^M♂$ . (A) 1-5: ++, (A) 6-10: *tub oy*, (B) 1-5: +*oy*, (B) 6-10: *tub +*.

伝子のみが *tub* と関連していることが判明し、これを *t* 裸蛹  $Nd-t$  と改めたので、ここにも  $Nd-t$  と表記する。 $Nd$  との場合と同様にして  $Nd-t/Fib-H^S♀ \times Fib-H^S♂$  及び  $Nd-t/Fib-H^F♀ \times Fib-H^F♂$  の戻し交雑を行つたが、両  $BF_1$  区に分離した  $+^{Nd-t}$  個体のフィブロイン H 鎖の電気泳動像を Fig. 5 に示す。 $Fib-H^S$  との  $BF_1$  (lane 2~6) においては例外なく S

型の H 鎖であり、 $Fib-H^F$  との  $BF_1$  (lane 7~11) ではすべて F 型 H 鎖を有していた。すなわち、*Fib-H* 遺伝子は同じ第 23 連関群に所属する遺伝子のうち、*tub* とは独立であつたが  $Nd-t$  とは関連しているということになる。

その後、豊油 *oy* が仲野系 b41 の  $Nd$  と関連することが見出されたので、 $Nd$  の所属する第 25 連関群を *oy*

で、*Nd-t*の所属する第23連関群を *tub* で、それぞれ標識する二重劣性突然変異系 *tub; oy* を育成し、これを用いて上記の混乱した関係の解決を計った。*tub; oy* 系統のフィブロインH鎖はM型であり、e34のS型との識別が容易であつたので同系統との交雑を行つた。その  $F_1$  の遺伝子型  $++\text{Fib-H}^s/\text{tub oy Fib-H}^M$  の雌に *tub oy Fib-H}^M* 雄を戻し交雑して、次代に分離する4種の幼虫形質個体群の各5頭についてH鎖の型を調べた。その結果を Fig. 6 に示す。++ 個体(A, lane 1~5)は5頭の全部がMSのヘテロ型であつたのに対し、*tub oy* (A, lane 5~10)の5頭はすべてMホモ型であつた。次に +*oy* (B, lane 1~5) 個体のH鎖をみるとM型、*tub+* (B, lane 6~10) ではMS型であつた。さらにこれら4種の表現型個体各6頭を用いてフィブロインH鎖の電気泳動調査を行つたが、結果は同様であつた。したがつて *Fib-H* 遺伝子は *tub* が属する第23連関群とは独立であり、*oy* と同じ第25連関群に所属していることが明確である。第23連関群所属の *Nd-t* との関係については後述する。

## 考 察

フィブロインH鎖の易動度を異にする系統間での交雑  $F_1$  個体では、両親系統の試料液を混合した場合と同様に、それぞれの易動度をもつH鎖が共に検出される。この *Fib-H* 遺伝子の共優性的発現に基づき、 $F_1$  雌×劣性形質系統雄の戻し交雑により連関検索を行つた。その結果、*Fib-H* 遺伝子は第1, 2, 5, 7, 13, 15, 19 連関群及び連関未知の染色体第26, 27を代表する *Ym, so* に対しては独立であることを認めた。連関関係の判定に供したのはそれぞれ  $BF_1$  に分離した正常形質個体6頭、標識形質個体6頭の計12頭と少数ではあるが、カイコにおいては雌では交叉による組換えを生じないので、交雑  $F_1$  を雌にとつて戻し交雑を行つた場合では十分な頭数である。仮に優性の標識遺伝子を *A*、その劣性対立遺伝子を *a* として、(*A Fib-H}^s × a Fib-H}^f*) ♀ × *a Fib-H}^f* ♂ の戻し交雑を行えば、表現型 *A* 個体と *a* 個体とが1:1の比に分離する。この交雑区において、*A* 遺伝子と *Fib-H* 遺伝子とが連関している場合には、*A* 個体のすべてがFS型になるのに対し、*a* 個体は例外なくF型になるのである。一方、両遺伝子が独立の関係であれば、*A, a* のいずれにおいてもH鎖に関してはFSのヘテロ型とFホモ型とがほぼ同数づつ生じることになる。この場合、表現型 *A* の任意の1個体がFS型である確率は1/2、同様に *a* 個体がF型である確率も1/2である。したがつて *A, a*

各6頭を用いた本研究において、*A* と *Fib-H* とが独立であるのに上記  $BF_1$  での表現型 *A* の6個体全部がFS型になる確率は  $(1/2)^6$ 、表現型 *a* の6頭全部がF型になる確率も  $(1/2)^6$  であるから、計12頭を用いた連関検索の結果の判定を誤る確率は  $(1/2)^{12} = 1/4096$  にしか過ぎない。

一方、仲野(1951)により発見された *Nd* 変異体においては、フィブロイン合成の場である後部絹糸腺の発達が著しく不良であり、繭質物の99%までがセリシンで占められている(渡辺, 1959)。*Nd* の後部絹糸腺の細胞内にはフィブロイン様の染色反応を呈する蛋白性物質が貯留しているが(待田, 1970)、絹糸腺腺腔からとり出した蛋白質或いは吐糸された繭層を溶解させ電気泳動を行つても、検出されるのはセリシンのみであり、フィブロインの存在は認めることができない。それ故、*Nd* 遺伝子と *Fib-H* 遺伝子との関係を判定するには、通常の形質遺伝子の場合とは違つた配慮が必要になる。フィブロインH鎖の構造遺伝子である *Fib-H* と、フィブロインをほとんど合成、分泌しない *Nd* 遺伝子とを、一応、別遺伝子と考えれば、*Nd* 系統にも何らかの形の *Fib-H* 遺伝子を保有しているはずである。したがつて (*Nd × + Fib-H}^f*) ♀ × *+ Fib-H}^f* ♂、及び (*Nd × + Fib-H}^s*) ♀ × *+ Fib-H}^s* ♂ の交配を行い、それぞれに分離する  $+^{Nd}$  個体のフィブロインH鎖の構成を比較すればよいことになる。*Nd* 遺伝子と *Fib-H* 遺伝子とが同じ染色体上にある場合、或いはさらに同一遺伝子である場合には、 $+^{Nd}$  個体のH鎖はF型系統との  $BF_1$  においてはすべてF型であり、S型系統との  $BF_1$  ではS型のみになると期待される。これに対して、*Nd* がフィブロインの腺腔への分泌過程に関与するものであつて *Fib-H* は別の染色体に座乗するものであれば、いずれの戻し交雑区においても  $+^{Nd}$  個体の半数は交配に用いた+系統由来の *Fib-H* をホモに持ち、残る半数の個体は *Nd* 系統由来の *Fib-H* と+系統由来の *Fib-H* との双方を持つはずである。後者のヘテロ型個体の場合には少なくともF型、S型いずれかの  $BF_1$  区において、泳動ゲル上、2本のH鎖を有することになると期待される。仲野原系 b41 系統の *Nd* を用いた交雑実験の結果は、*Fib-H}^f* の k25 系統との  $BF_1$  区ではすべてF型、*Fib-H}^s* の e34 系統との  $BF_1$  区ではS型の個体のみであつた。それ故、*Fib-H* 遺伝子は *Nd* と同じ連関群に属すると判断される。しかし、b41 系統のもつ *Fib-H* 遺伝子が k25 或いは e34 のいずれかのものと同じF、或いはS型であつたとも考えられる。そうであれば両系統との  $BF_1$  に

分離した  $+^{Nd}$  個体の各 5 頭を調査した Fig. 3 の結果のみでは、偶然、ホモ型個体だけが電気泳動分析に用いられた危険性が  $(1/2)^5 = 3\%$  残っていることになる。

そこで次に *Fib-H* 遺伝子と *Nd* との連関を確認するため、当時 *Nd* と共に第 23 連関群を構成するとされていた樽蚕 *tub* (土井良ら, 1980) と *Fib-H* との関係性を調査した。ところが  $(tub\ Fib-H^M \times +Fig-H^S) \text{♀} \times tub\ Fib-H^M \text{♂}$  の  $BF_1$  における分離は、予期に反して *tub* と *Fib-H* とが独立であることを示すものであつた。本交雑に用いた *tub* は連関発見後  $Nd/tub \text{♀} \times tub \text{♂}$  の交配で維持され、両遺伝子間の連関が毎世代確認されている w23 系統に分離した個体である。また、上述のように 3% の危険率はあるものの、*Nd* と *Fib-H* とが独立であるとは考え難い。そうすると *Fib-H* は *tub* とも連関していなければならないはずである。

この 3 遺伝子間の矛盾する関係を解明するために、著者らは既報のように第 23 連関群の再検討を行つた。その結果、系統の起源並びに形質的特徴の同一性から *Nd* とみなしていた *tub* と連関する裸蛹型遺伝子は、保存系統 b41 の *Nd* を用いた交雑系に生じた新変異であることが判明し、これを *t* 裸蛹 *Nd-t* と改めた(土井良ら, 1984)。すなわち、*Nd* と同様に連関未知群の 1 代表遺伝子とされていた紡錘形卵 *sp* が *tub* と連関し、この両遺伝子は w23 系統の裸蛹とは連関しているが、原系統 b41 の *Nd* とは独立であつたのである。*Nd* と *tub* とが独立であれば、*Nd* と連関する *Fib-H* が *tub* と独立であるのは当然のこと故、3 遺伝子間での連関関係の矛盾は一応解決できたことになる。

引続き *Fib-H* と *Nd* との連関を確認する次の方策として、*Fib-H* と *Nd-t* との関係如何を調べた。ところが、 $Nd-t$  と  $+^{Nd-t}Fib-H^F$  及び  $+^{Nd-t}Fib-H^S$  との戻し交雑区に分離した  $+^{Nd-t}$  個体のフィブロイン H 鎖の構成は、いずれにおいても単一成分からなり、前者では F 型ホモ、後者では S 型ホモであつた。著者らはさらに両  $BF_1$  区に  $+^{Nd-t}$  個体各 12 頭についても調査したが、結果は同じであつた。それ故、*Fib-H* と *Nd-t* とは連関していると思ふべきであつて、ここに再び“*Nd-t-tub*: 連関”, “*tub-Fib-H*: 独立”の関係とは相容れない結果となり、ひいては *Fib-H* と *Nd* との連関も疑問視されなければならないことになつた。

幸いにして著者らは新発見の突然変異、豊油 *oy* が *Nd* と連関することを見出し得て、これを第 25 連関群として記載した(土井良ら, 1985)。そこで *Fib-H* 遺伝子の所属連関群をフィブロイン合成が可能な系統間

での交配により確定するため、次の実験を行つた。まず *Nd-t* が所属する第 23 連関群と *Nd* の属する第 25 連関群を、それぞれ *tub*, *oy* で標識する二重劣性変異系統を育成した。そのフィブロイン H 鎖は M 型であつたので、これと *Fib-H^S* の e34 系統との間で交雑を行つた。交雑  $F_1$  の雌に *tub oy* 雄を戻し交雑した区に分離した幼虫形質 ++ の個体ではフィブロイン H 鎖は例外なく M, S の両成分を有するヘテロ型であつたのに対し、*tub oy* 個体はすべて M ホモ型の H 鎖を有していた。したがつて *Fib-H* 遺伝子は *tub*, *oy* のいずれかと連関していることになる。そのいずれであるかは同じ区に分離した *tub+* 及び *+oy* 個体の H 鎖を調べれば確定することができる。結果は *tub+* 個体では MS のヘテロ型、*+oy* では M 単一のホモ型であつた。すなわち、*Fib-H* 遺伝子は *oy*、したがつて *Nd* と同じ第 25 連関群に所属するものであることが確認されたことになる。

前述のように *tub* と独立である *Fib-H* は、*tub* と同じ第 23 連関群所属の *Nd-t* に対しては連関遺伝の分離をする。この奇異な関係を如何に解釈すべきかが残る問題である。*Fib-H* 遺伝子と裸蛹型遺伝子との関係判定の根拠が誤っているならば何ら異とされるものではないが、この判定基準は理論的に正しいはずである。事実、当初の *Nd-Fib-H* の連関が *oy* を介して確認されたことに徴してみても間違っているとは考えられない。これに対して今一つの可能性は *Nd-t* が新生の遺伝子突然変異ではないことによるとするものである。*Nd-t* は b41 *Nd* 系統の交雑系に由来し、形質的には *Nd* と識別できない変異体であるところから、著者らが既にその可能性を指摘したように、*Nd* 遺伝子そのものを含む第 25 染色体部分の第 23 染色体への転座、もしくは第 25、第 23 染色体間の附着、 $T(23; 25)Nd$  であると仮定すれば、*Nd-t-tub*: 連関, *tub-Fib-H*: 独立, *Fib-H-Nd-t*: 連関, という一見矛盾する分離現象は自明の帰結として理解され得る。すなわち、*Nd-t* は遺伝子的には *Nd* そのものであつて、継代したヘテロ個体の減数分裂に際し、[第 23+第 25]の *Nd-t* 染色体に対して自由な第 23 染色体と第 25 染色体の両者が対合する。その結果として一方の極には *Nd-t* [=  $T(23; 25)Nd$ ] 染色体、他方の極に自由な第 23 染色体と第 25 染色体とが入る。こう考えれば“*Fib-H* と *Nd-t* との連関”は、本来的な第 25 染色体(部分)による“*Fib-H-Nd*”の連関そのものであり、既報の“*Nd-t* と *tub* との連関”が  $T(23; 25)Nd$  の染色体異常に伴つて生起する第 23 染色体上の *tub*

と第25染色体上の *Nd* との間でのみかけの連関的分離現象であることになる。この染色体異常を持たない系統間の交配においては、第25連関群所属の *Fib-H* と第23連関群の *tub* とが独立遺伝の分離をするのは当然である。

著者らは本研究と並行して *oy* と *tub* とを用いて *Nd-t* の性状及び成因に関する遺伝学的並びに細胞遺伝学的解析を行い、*Nd-t* は *Nd* 遺伝子をもつた第25染色体と第23染色体とがほぼ完全な形で附着した染色体突然変異  $T(23; 25)Nd$  であることを立証し得た(土井良ら, 1987)。これにより混迷を極めた *Fib-H* 遺伝子の連関検索の結果のすべてが、上記の原因によるものとして明快に理解されるに至ったのである。

この間、長年にわたつてカイコのフィブロインに関する化学的並びに分子生物学的研究に従事してきた東北大学農学部志村憲助教授(現在、同大学名誉教授)のグループによつて、*Nd* の後部絹糸腺細胞内にその存在が認められていたフィブロイン様物質が正しくフィブロインであることが確認され、さらに *Fib-H* 遺伝子と *Nd* 遺伝子とが連関しており、両遺伝子の間には調査した約1,000個体の範囲では交叉が生じなかつたことが報じられている(Hyodo *et al.*, 1980; 志村ら, 1982)。

## 要 約

カイコの保存系統58種を用いてフィブロインH鎖の電気泳動分析を行い、易動度的にF, M, Sの3型に大別されることを認めた。また、易動度を異にする系統間の交雑Fiでは両親型の成分を共に有していた。すなわち、フィブロインH鎖遺伝子 *Fib-H* は共優性的に発現されるものである。この関係に立脚して *Fib-H* の連関検索を行つた。その結果、*Fib-H* 遺伝子は第23連関群所属とされていたフィブロインをほとんど合成し得ない突然変異、裸蛹 *Nd* と連関することを認めた。ところが同連関群所属の *tub* と *Fib-H* との戻し交雑においては独立遺伝の分離がみられた。この矛盾は *Nd* が第23連関群ではなく第25群に属していることが判明し解消されたが、さらに *tub* と連関する *Nd* 系統由来の *t* 裸蛹 *Nd-t* と *Fib-H* とが連関する結果が得られた。そこで次に、第23, 第25の両連関群をそれぞれフィブロイン合成が可能な突然変異、*tub* と *oy* で標識して交雑実験を行つた。この二重劣性変異系統との検定交雑により *Fib-H* は *oy*、したがつて *Nd* と同じ第25連関群に所属することが確定された。*Fib-H* と *Nd-t* との間にもみられる連関現象は、

*Nd-t* が遺伝子突然変異ではなくて、*Nd* 遺伝子自体を有する第25染色体が第23染色体に附着、或いは転座した染色体突然変異、 $T(23; 25)Nd$  であると仮定すれば、すべて合理的に説明することができる(注、本研究と並行して行つた遺伝学的並びに細胞遺伝学的解析により、第23連関群所属遺伝子とされてきた *Nd-t* は  $T(23; 25)Nd$  の染色体附着であることが実証された)。

## 文 献

- 土井良宏・河口 豊・中山光育 1984 カイコにおける紡錘形卵遺伝子の連関分析、特に裸蛹系遺伝子との関係。日蚕雑, 53: 513-518
- 土井良宏・木原 始・永井長利 1980 カイコの新連関群, *Nd-tub*。日蚕雑, 49: 521-524
- 土井良宏・中山光育・伴野 豊・河口 豊 1987 カイコの *t* 裸蛹突然変異の成因に関する遺伝学的解析。日蚕雑, 56: 220-225
- 土井良宏・中山光育・河口 豊・木原 始 1985 カイコの第25連関群, 裸蛹-豊油。日蚕雑, 54: 222-226
- Hyodo, A. and K. Shimura 1980 The occurrence of hereditary variants of fibroin in the silkworm, *Bombyx mori*. *Jpn. J. Genet.*, 55: 203-209
- Hyodo, A., T. Gamo and K. Shimura 1980 Linkage analysis of the fibroin gene in the silkworm, *Bombyx mori*. *Jpn. J. Genet.*, 55: 297-300
- 河口 豊・土井良宏・伴野 豊・藤井 博 1985 卵浸漬法によるN-メチル-N-ニトロソウレアのカイコの発生に及ぼす影響と突然変異誘発。日蚕雑, 54: 213-221
- Laemmli, U. K. 1970 Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 980-988
- 待田行雄 1970 家蚕の絹糸腺に関する研究II. *Nd* 蚕絹糸腺の特異性(1)。福女短大研究紀要, 3: 1-21
- 仲野良男 1951 裸蛹の生理, 解剖並びに遺伝。日蚕雑, 20: 232-248
- 志村憲助・片方陽太郎・兵頭昭夫・大町鉄雄 1982 絹糸フィブロイン研究の現状と将来。蛋白質・核酸・酵素, 27: 1827-1839
- Shimura, K., A. Kikuchi, Y. Kataoka and K. Ohtomo 1982 The occurrence of small component protein in the cocoon fibroin of *Bombyx mori*. *J. Seric. Sci. Jpn.*, 51: 20-26
- Sprague, K. U. 1975 The *Bombyx mori* silk proteins: Characterization of large polypeptides. *Biochemistry*, 14: 925-931
- Sprague, K. U., M. B. Roth, R. F. Manning and L. P. Gage 1979 Alleles of the fibroin gene coding for proteins of different length. *Cell*, 17: 407-413
- 渡辺忠雄 1959 セリシン繭に関する研究(1) セリシ

ン蚕の化学的特異性. 日蚕雑, 28: 251-256  
渡辺忠雄・中山光育・筒井亮毅・土井良宏 1980 フィ

ブロイン遺伝子の連関について (予報). 日蚕講  
要, 第50回: 83

### Summary

The fibroin heavy chain of an inbred strain of *Bombyx mori* was shown to give a single band on SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. From the mobility of the band characteristic to the strain, the fibroin heavy chain was classified into three groups, F, M and S. Linkage experiments of the fibroin heavy chain gene, *Fib-H*, was performed using various silkworm stocks carrying genetic markers on each chromosome. Inconsistent relationship was obtained after observation of the relevant phenotypes, the *Fib-H* gene segregated in linked fashion with the *Nd* on the 25th chromosome and with the *Nd-t* on the 23rd chromosome. This confusion which prevailed for several years was resolved through another series of experiments, made in parallel with present studies, to analyze genetic nature of the *Nd-t*. Morphological mutants *tub* and *oy* were used as the marker gene for the chromosome 23 and the 25, respectively. The mutant *Nd-t* was not a gene mutation but a chromosomal aberration that can be designated as T(23 ; 25)*Nd*. The chromosome on which *Fib-H* gene is located was determined to be the 25th by observing the fibroin heavy chain phenotype in the pedigree of the cross *tub oy Fib-H*<sup>n</sup>/++ *Fib-H*<sup>S</sup>♀ × *tub oy Fib-H*<sup>M</sup>♂.