

キイロショウジョウバエ第2染色体のbalancerに 隠されている劣性致死遺伝子, *l-Cy*

小須田 和彦

はじめに

SM5[In(2(LR)SM5)]Cy 染色体はキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の第2染色体のbalancerとして、第2染色体ホモザイゴート homozygote を得るために多くの実験研究に用いられてきた。SM5[In(2(LR)SM5)]Cy は動原体(紡錘糸付着点)によって二分される左腕と右腕にまたがる複合逆位 complicated inversion を持っている。そのため、Cy ヘテロザイゴート heterozygote においては、染色体交叉が阻止され第2染色体全域の組み換え recombination がほとんど完全に抑制される。したがって、特定の第2染色体をそのままの状態に維持することができる。なお、SM5[In(2(LR)SM5)]Cy には *cn* をはじめとするいくつかの劣性可視遺伝子とともに、翅を上方に曲げる優性遺伝子, Cy (curly) が含まれている。

Cy/Pm 法, Cy 法はキイロショウジョウバエ第2染色体の生存力 viability を測定するためにそれぞれ Ives (1945), Wallace (1956) により開発され、自然集団における遺伝的変異の研究などに応用されてきた(Hiraizumi and Crow 1960; Greenberg and Crow 1960, Crow and Temin 1960, Band and Ives 1963, Mukai, 1964, Kosuda *et al.* 1969)。

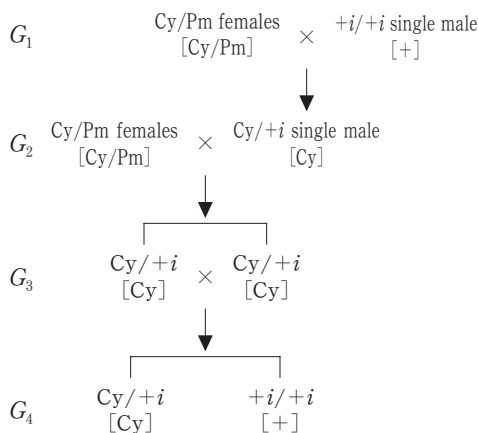


図1 Cy法

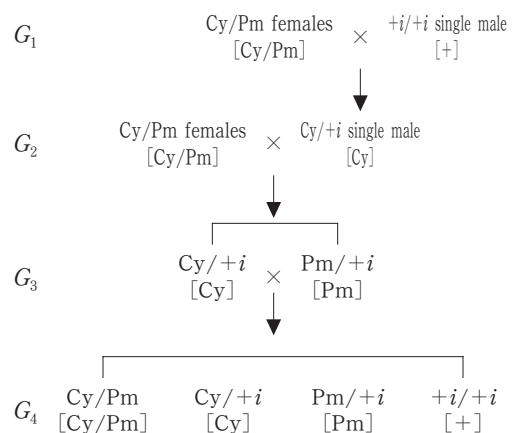


図2 Cy/Pm法

また、SM5[In(2(LR)SM5)]Cy はホモザイゴートでは致死 lethal となることが知られている。この理由として、SM5 に含まれる Cy そのものがホモザイゴートで致死効果を生じるという説、複合逆位をホモサイガスにするために致死となるという説、SM5 に劣性致死遺伝子 recessive lethal gene が含まれるという説などが考えられる。しかしながら、Cy の表現が逆位 In(2 LR) と切っても切れない関係にあること、Cy ホモザイゴートが容易に得られないこと、複合逆位が突然変異によりいろいろな箇所で切断と再結合繰り返し、さまざまな形態をとることなどにより明確な理由は判然としていない。

今回、SM5 に劣性致死遺伝子が含まれるなら、その致死遺伝子を捕捉しようとする試みがなされた (Kosuda, in press)。その結果、ハンガリー、ブダペスト近郊のセンテンドレ Szentendre の自然集団由来の染色体のひとつにこれと同一な allelic 劣性致死遺伝子が見出されたのでここに報告する。この劣性致死遺伝子は、著者により *l*-Cy (lethal-Curly) と仮に命名された。この実験結果より、SM5[In(2(LR)SM5)]Cy がホモザイゴートで致死となるのは、劣性致死遺伝子、*l*-Cy、が含まれるためであることが明らかとなった。

実験材料と方法

図1と図2に示されているように、Cy 法並びに Cy/Pm 法は、キイロショウジョウバエの第2染色体における遺伝子組み換えを抑制し第2染色体をホモザイゴートにすると同時に、第2染色体の生存力 viability を測定する方法である。Cy 法では第1世代で、自然集団あるいは実験集団より選ばれたオスが1匹ずつ Cy/Pm 標準系統の処女メスと交配される。Cy 染色体は翅を上方に曲げる優性遺伝子 Cy を持ち、Pm 染色体は眼の色をアンズ色にする優性標識遺伝子 Pm を持つ。両染色体には、逆位が含まれ染色体交叉が妨げられるために、遺伝子の組み換えが抑制される。特に Cy バランサーには左腕並びに右腕にかけて複雑な染色体逆位が含まれているために第2染色体全域にわたりほぼ完全に組み換えが抑制される。第2世代では、第1世代で生まれた Pm/+i オス1匹が再び Cy/Pm 系統の処女メスと交配される。第3世代では、同じ第2染色体をヘテロに持つ雌雄同志が交配される。第4世代で、羽化してくる全ての個体を表現型別に数えることにより生存力が測定される。第2染色体が普通の生存力を持つときは、第4世代における Cy/+i と +i/+i の割合は2:1となることが期待される。通常、生存力は+i/+i ホモザイゴートの相対頻度で示される。+i/+i ホモザイゴートが得られず、すべての個体が Cy/+i ヘテロザイゴートのとき、その染色体が劣性致死遺伝子を持っていることがわかる。

山梨県甲府勝沼一宮およびハンガリー、ブダペスト近郊の Szentendre センテンドレにおけるキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* 自然集団ならびにこれから作られた実験集団より、Cy/Pm 法並びに Cy 法を用いて多くの第2染色体ホモザイゴート系統が得られた。同時

に、多数の劣性致死遺伝子が系統として確立された。

これらの劣性致死遺伝子ならびに非致死染色体を用い、実験 I (Mating I) を行った (図 3)。すなわち、Mating I では、世代 1 (G1) で翅が曲がって且つ眼色がアンズ色の *Cy/Pm* 系統の処女メスに野生のオス 1 匹を交配させる。つぎに、この結果得られる眼色がアンズ色で翅が曲がっていない *Pm/+* オス 1 匹を再び、*Cy/Pm* 処女メスに交配させる。このオスが持つ第 2 染色体 +i に致死遺伝子 *l-Cy* が含まれていない場合には、*Pm/Pm* ホモサイゴートが致死となるために、*Cy/Pm*, *Cy/+i*, *Pm/+i* がそれぞれ同数生まれることが期待される。もし、このオスが持つ第 2 染色体 +i に致死遺伝子 *l-Cy* が含まれている場合には、*Cy/Pm*, *Cy/+i*, *Pm/+i* の期待比は 1 : 0 : 1 となることが期待される。その結果、多くの致死遺伝子系統から *l-Cy* を持つと考えられる系統を一つだけ見出すことができた。実験 I は用いられた *Cy/Pm* により実験 I a と実験 I b に分けられた。実験 I a では系統として確立されている *Cy/Pm* 標準系統が用いられた。実験 I b では実験 I a で得られた *Cy/Pm* が用いられた。

さらには、実験 II (Mating II) を行うことによりこの系統が *l-Cy* を持つことが確認された。Mating II では Mating I の世代 3 (G3) で得られた *Pm/+i* の雌雄を交配させる。第 2 染色体 +i が致死遺伝子を持つ場合には、この交配から眼の色がアンズ色の *Pm/+i* だけが得られることが期待される。もし、第 2 染色体 +i が致死遺伝子 *l-Cy* を持たないときは、この交配からは眼がアンズ色の *Pm/+i* と眼が普通に赤色の *+i/+i* が 2 : 1 の割合で生じることが期待される。

また、*Pm/l-Cy* と野生系統 (Canton-Special) との正逆交配 (実験 III, Mating III) 及び実験 I a で得られた例外的な *Cy/l-Cy* オスと *Cy/Pm* メスとの交配も行われた (実験 IV, Mating IV)。

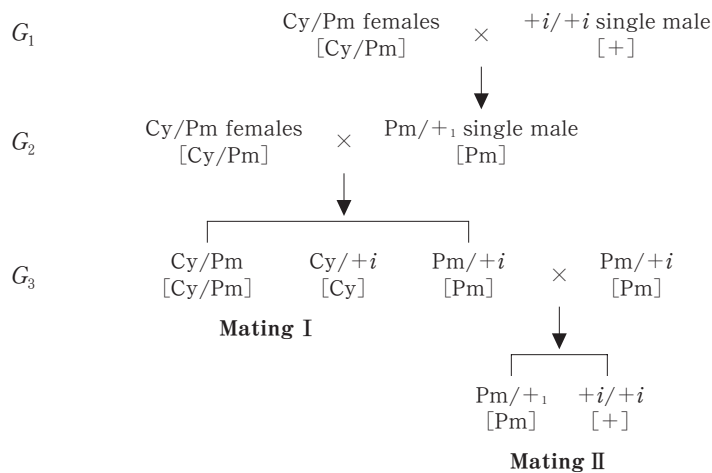


図 3 Mating scheme

If +i chromosome is bearing a recessive lethal, *l-Cy*, all the progenies in the generation G_3 are only *Cy/Pm*, and *Pm*, since *Cy/+i* is dead.

結果と論議

ハンガリーのブタペスト近郊のセンテンドレにおけるキイロシヨウジョウバエ自然集団より多数の第2染色体が抽出された。そのうちの劣性致死染色体の1本で、Mating Iの世代3 (G3)において殆どすべての個体が Cy/Pm , $Pm/+i$ で $Cy/+i$ がほとんど生じない系統が見出された (実験 I a, 表 1)。この劣性致死遺伝子は $l-Cy$ (lethal-Cy) と命名された。ほかの劣性致死遺伝子では, Cy/Pm , $Cy/+i$, $Pm/+i$ の割合はすべて 1:1:1 であった。この結果は, SM 5[In 2 (LR)SM 5]Cy に $l-Cy$ (lethal-Cy) と同じ allelic 致死遺伝子が含まれることを示している。表 1 は例外的に翅が上方に曲がり眼の色が赤い Cy 個体が生じることもあることを示しているが, その頻度は $Pm/l-Cy$ の 0.005 で, 完全とは言えないがほぼ完全に劣性な致死遺伝子であることがわかる (表 1)。

Mating 1a (実験 1a) で得られた Cy/Pm を用いて同様な交配をした実験 I b の結果が表 2 に示されている。実験 I b でも Cy 個体が例外的に生じること, その頻度が $Pm/+$ のわずか 0.004 で, ほぼ完全に劣性な致死遺伝子であることを示している (表 2)。実験 I a と実験 I b の結果に違いがないことは統計処理をするまでもなく明らかである。なお, Mating I a で用いられた Cy/Pm は実験室で系統維持されてきたもので, Mating I b で用いられた Cy/Pm は, Mating I a で得られたものである。

Mating 1 で例外的に生じた表現型 [Cy] をもつ遺伝子型が $Cy/l-Cy$ と考えられるオスを Cy/Pm メスに交配させた。 Cy/Pm と Pm が 1:1 で生じてくると期待されるが, 結果は, 0.81:1 であった (表 3)。この事は Cy/Pm の生存力が $Pm/l-Cy$ より 2 割程度低いことを示している。

表 1 Progeny from Mating-I, $Cy/Pm \times Pm/l-Cy$

	Cy/Pm	Pm	Cy
	86	106	
	40	41	
	22	40	1
	113	129	1
	82	84	
	112	112	
	125	126	
	104	109	
	67	87	1
	153	143	2
	142	150	
	116	125	
	132	136	
	71	83	2
	101	115	1
Total	1466	1586	8

表 2 Progeny from Mating-I, $Cy/Pm \times Pm/l-Cy$

	Cy/Pm	Pm	Cy
	73	73	
	83	118	
	169	208	
	150	180	4
	104	114	
	34	60	
	87	105	
	94	98	
	150	191	1
Total	944	1147	5

* Cy/Pm used in the Exp. I b come from progenies in Exp. I a.

表3 *Cy/Pm* × *Cy/l-Cy-ex*

	<i>Cy/Pm</i>	<i>Pm</i>	—
	36	52	1
	70	86	
	81	93	
Total	187	231	1
Ratio	0.810	1.000	0.004

Cy/l-Cy males used in th this mating are exceptional *Cy* in Exp. I a and I b.

メンデルイズムにおける期待値は、すべての遺伝子型が同じ適応度を持つという前提に立っている。しかしながら、多くのケースでこの仮定が必ずしも成り立たないことに注意が払われなければならない。

Mating I の世代3 (G3) において得られる *Pm/l-Cy* の雌雄を交配させたところ (Mating II), 翅が真っ直ぐで目が赤色の *l-Cy/l-Cy* が例外的に生じることが判った。そのホモザイゴートの生存力 homozygous viability は, *Pm/l-Cy* の生存力を1とすると約0.01であり, *l-Cy* の表現が完全ではないことを示している (表4)。

Pm/l-Cy のヘテロにおける生存力 hetrozygous viability を調べるため, 得られた *Pm/l-Cy* の雌雄をそれぞれ野生系統 Canton-Special と交配させた。その結果は, 表5, 6に見られるように, *Pm/CS* の生存力を1としたとき, *CS/l-Cy* の生存力が1.33 および1.13であった (表5, 表6)。加重平均 (weighted mean) は1.17であった。

以上の結果は, SM5[In(2(LR)SM5)]*Cy* バランスに劣性致死遺伝子が含まれていることを明白に示している。

表4 Progeny from Mating II, *Pm/l-Cy* × *Pm/l-Cy*

	<i>Pm</i>	+
	59	2
	60	
	52	1
	70	
	71	
	72	1
	134	
	141	1
	111	3
	100	3
	155	
	138	1
	146	
	163	2
Total	1472	14

表5 Progeny from *CS* × *Pm/l-Cy*

	<i>Pm</i>	+
	135	158
	238	262
	170	188
	76	76
	88	113
	64	82
	167	181
	66	77
Total	1004	1137

表6 Progeny from *Pm/l-Cy* × *CS*

	<i>Pm</i>	+
	141	180
	59	86
Total	200	266

なお、甲府勝沼の自然集団由来の染色体からは、多くの染色体が調べられたが、*l-Cy* は見出されていない。

Lindley and Grell (1968) によれば Hinton が SM 5[In(2LR)SM 5]Cy の 58 F に欠失 deficiency がある事を見ているという。生命活動を維持する上で重要な役割を果たしている遺伝子が欠失していれば、その遺伝子は結果として劣性致死遺伝子と認識されることになる。そのため、多くの劣性遺伝子はひとつの遺伝子に相当する小さな欠失であろうと考えられている。

Aulard (1986) は *Cy* の表現を持たない逆位 In(2L)*Cy* を高頻度でチュニジアにおける自然集団で見出している。このことは、非常に困難ではあるが *Cy* 遺伝子を In(2L)*Cy* と切り離すことができるとの Tinderholt (1961) の報告を支持している。In(2L)*Cy* は自然集団に普遍的に見つかる In(2L)t と切断箇所が非常に似ており、しばしば混同される。In(2L)*Cy* は 1918 年 9 月ミシガン州 Ann Arbor で採集されたキロショウジョウバエから作られた系統で最初に見出された (Ward 1923)。*Cy* ヘテロザイゴートより表現が強く、かつサイズの小さい不妊の *Cy/Cy* ホモザイゴートがまれに得られることがある (Tinderholt 1961, Lindley and Zimm 1990) が、*l-Cy* の存在を考えれば特別のことではない。

今までに多くの研究者が *Cy* 法あるいは *Cy/Pm* 法を用いて多数の第 2 染色体を抽出し、その生存力を測定し、致死遺伝子の頻度等を調査してきた。にもかかわらず、*l-Cy* の存在が報告されなかった理由は、第 2 世代で *Cy/Pm* メスと交配されるオスとして *Pm/+i* でなく *Cy/+i* が用いられることが多かったことが大きいと考えられる。すなわち、多くの子孫から 1 匹のオスを麻酔することなく短時間で採取するのに、翅が曲がり飛行能力の劣った *Cy/+i* の方が翅の真っ直ぐな十分な飛行能力を持った *Pm/+i* より容易であるという技術的な問題と関係する。更には、*Pm/+i* を採取すると、まれではあるが、世代 1 の野生型のオスを再び選ぶ可能性があるため、これを避けるために *Pm/+i* ではなく *Cy/+i* が選ばれることが多いと思われる。ここで注意しなければならないことは、第 2 世代で *Cy/+i* オス 1 匹が選ばれる限り、*l-Cy* が見出されることは無いということである。

今回の実験結果により、SM 5[In(2LR)SM 5]*Cy* がホモザイゴートで致死となるのは、劣性致死遺伝子、*l-Cy*、が含まれるためであることが明白となった。

要 旨

ハンガリーのブダペスト近郊のセンテンドレ Szentendre の自然集団由来のケージ集団より抽出された黄色ショウジョウバエ第 2 染色体の 1 本の劣性致死染色体で、SM 5[In(2LR)SM 5]*Cy* とヘテロザイゴートにすると致死となる劣性致死遺伝子が見出された。この遺伝子は *l-Cy* (lethal *Cy*) と命名された。この結果、SM 5[In(2LR)SM 5]*Cy* に *l-Cy* が含まれることが確認

された。山梨県勝沼一宮などの自然集団におけるこれまでの多くの調査研究からは *l-Cy* が発見されることはなかった。これまで見出されてこなかった理由が論議された。

参考文献

- Aulard, S. 1986 Chromosomal inversion polymorphism in a Tunisian natural population of *Drosophila melanogaster*. Jap. J. Genet. 61 : 217-223.
- Band, H. T. and P. T. Ives 1963 Comparison of lethal+semilethal frequencies in second and third chromosomes from a natural population of *Drosophila melanogaster*. Can. J. Genet. Cytol. 14 : 351-357.
- Crow, J. F. and R. G. Temin 1964 Evidence for the partial dominance of recessive lethal genes in natural populations of *Drosophila*. Am. Nat. 98 : 21-23
- Greenberg, R. and J. F. Crow 1960 A comparison the effects of lethal and detrimental chromosomes of *Drosophila melanogaster*. Genetics 45 : 1153-1168.
- Hiraizumi, Y. and J. F. Crow 1960 Heterozygous effects on viability, fertility, rate of development, and longevity of *Drosophila melanogaster*. Genetics 45 : 1071-1083.
- Ives, P. T. 1945 The genetic structure of American populations of *Drosophila melanogaster*. Genetics 30 : 167-196.
- Kosuda, K. 2010 A recessive lethal gene, *l-Cy*, found in a natural population of *Drosophila melanogaster*. D. I. S. (in press).
- Kosuda, K, O. Kitagawa and D. Moriwaki 1969 A seasonal survey of the genetic structure in natural populations of *Drosophila melanogaster*. Jap. J. Genet. 44 : 247-258.
- Lindsley, D. L. and K. H. Grell 1968 Genetic Variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Inst. Washington Pub.
- Lindsley, D. L. and G. G. Zimm 1990 Genetic Variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Inst. Washington Pub.
- Mukai, T. 1964 The genetic structure of natural populations of *Drosophila melanogaster*. I. Spontaneous mutation rate of polygenes controlling viability. Genetics 50 : 1-19.
- Tinderholt, 1960 D. I. S. 35 : 47.
- Wallace, B. 1956 Studies of irradiated populations of *Drosophila melanogaster*. J. Genetics 54 : 280-293.
- Ward, L., 1923 The genetics of Curly wing in *Drosophila*. Another case of balanced lethal factors. Genetics 8 : 276-300.

A recessive lethal gene, *l-Cy*, concealed in the second chromosome balancer of *Drosophila melanogaster*

Kazuhiko KOSUDA

Abstract

The second chromosome balancer, SM 5[In(2(LR)SM 5)]Cy, has been used as a most useful tool to study the genetic variations in natural populations of *Drosophila melanogaster*. The balancer suppresses recombination in almost whole region of the second chromosome since it has complicated inversions both in the right and left arms. It is lethal in the homozygous condition and it also has a dominant mutant, Cy, and several recessive mutations. Homozygous lethality has been explained by the presence of In(2 LR) or Cy itself. However, the cause of lethality is not necessarily clear. Recently, the author has found a recessive lethal gene in a natural population, which is allelic to these balancer chromosomes. In this short communication the author reports that the lethality of SM 5 chromosome in the homozygous condition is due to a recessive lethal gene, *l-Cy* (lethal Cy).