

# 黒猩猩に於ける出目( $t^2$ )因子の發現機構 (第7報)

坂 本 義 彦

Mechanism of Revelation of Telescoped<sup>2</sup> Gene in *Drosophila virilis* (7th Report)

Yoshihiko SAKAOTO

猩猩に於ては、突然変異体の形質発現が飼料、温度其の他の条件に影響されることが知られている。即ち *Drosophila melanogaster* の Bar では高温飼育で其の発現著しく、即ち個眼数 (facet number) が減少するに反し、低温では逆に facet number が増加する。<sup>(7)</sup> 更に此の現象には感応期 (sensitive period) が明らかになつていて、孵化後70時間前後の蛆期と見られている。<sup>(2,3)</sup> 最近 *D. melanogaster* の野生 Oregon 系を nitrogen mustard で処理して多数の Bar 様の表型模写 (phenocopy) を得ているがその場合も感応期は蛆期の70時間前後に存している。<sup>(5)</sup> 然し *D. melanogaster* の Bar を薬品処理により、野生型の複眼形成を行わせる場合は感応期が早いと言われている。<sup>(6)</sup> *D. melanogaster* の sensitive period は vestigial については Stanley<sup>(15)</sup> が mottled eye では Surrarer<sup>(16)</sup> の報告がある。

飼料の影響については *D. hydei* の eyeless で知られている。即ち餌の乾燥は eyeless の発現を良くし、低温、多湿は其の発現を抑制する。<sup>(4)</sup> 有名な例は *D. melanogaster* の腹部異常 (abnormal abdomen) で餌の新鮮と湿潤は其の発現を良くし、乾燥では発現を抑制する。<sup>(1)</sup> 大山、森鷗<sup>(13)</sup> によれば *D. ananasae* の gap, Shaven は古い飼料で発現が抑制されることを報告している。

Margolis<sup>(9)</sup> は *D. melanogaster* の Bar を 1/2 気圧下に飼育して、facet number の減少すること、純粹の酸素ガス中に飼育して facet number の増加するのを見た。低気圧下飼育の場合の sensitive period は温度のそれより早期に存するとのべている。又 Bar 類似の infra-

bar では 95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> のガス中に飼育するとやはり facet number が増加することを Luce<sup>(8)</sup> が見ている。

筆者は *Drosophila virilis* の  $t^2$  因子の發現の問題を追究して来たが、此の度パン酵母が出目( $t^2$ )の發現を殆んど完全に抑制すること及び感応期の存することが明らかになつたので、こゝに報告する。

本研究は東北大学理学部生物学教室に於て、東北大学教授元村勲博士の御指導のもとに行われた。ここに深甚の謝意を表したい。

## 材料及び方法

材料は *Drosophila virilis* の b,  $t^2$ , cd, es に岩手県下閉伊郡菅代村産の野生種と交配して telescoped<sup>2</sup> のみに分離して二十数代飼育したものを使用した。telescoped<sup>2</sup> は皿57.5に位置して複眼の小形、剛毛 supra alars の欠除、胸背短く田味ある正方形に近い等の形質を有す。本研究に於ては複眼の大小を対象としている。飼育瓶は内径約 1.2cm 高さ 15cm の管瓶、内径 3.5cm 高さ 10cm の管瓶及び 150cc の広口瓶の三種を使用した。実験に使用した酵母はパン酵母を pearl's medium に 25 ± 2°C で培養した。表型正常と出目の判定は第一報<sup>(12)</sup> の方法によつた。即ち複眼の長径、短径の個眼数を計算して其の和が40以下のものを出目となした。

## 実験結果

Pearl's medium を入れた小管瓶に約 100 個の卵を入れたもの10本、同様の管瓶に孵化後24時間以内の蛆を各 100匹入れたもの10本をつつた。対照として *D. 4* 飼料のものは卵及び蛆の

ものを用意し又トウモロコシ粉飼料の卵のみのものも準備した。

卵及び蛆の羽化した結果は蛆の方より卵の方が出目の出現は少なかった。然し両者の間に大差が認められなかつたので合計して第一表に示した。

第 1 表

medium	number of false normal	number of telescoped <sup>2</sup> eye	value of $\chi^2$
Pearls medium	169	21	} $\chi^2 = 38.4$ $P < 0.001$
D4 medium	204	116	
Corn-meal medium	31	42	} $\chi^2 = 10.9$ $P < 0.001$

即ち pearl's medium は著しく出目の発現を抑制したことを示している。D4 medium は普通の実験例より出目の出現が多い結果ではあつたが pearl's medium に比して出目の抑制効果が少かつた。又 corn-meal medium は卵使用のみの結果で出目の出現は少い方であるが D4 medium との間には大きい差が生じている。

Pearl's medium が出目の発現を著しく抑制したということは、全く意外であつたので、其の抑制原因の想定が出来なかつたために、次の実験が試みられた。Pearl's medium は元來数種の塩類と寒天及び砂糖が成分であるから、各塩類単独の出目抑制効果を知るために corn-meal と砂糖を基質にして D4 medium の大豆粉の割合に各塩類を加えた飼料を作り、小管瓶を用いて 100匹宛の蛆を各瓶に移入した。対

第 2 表

medium	number of false normal	number of telescoped <sup>2</sup> eye	value of $\chi^2$
1 Cornmeal + NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub>	59	54	} $\chi^2 = 13.9$ $n=5$ $P < 0.01$
2 " + KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	9	16	
3 " + MgSO <sub>4</sub>	9	19	} $\chi^2 = 3.01$ $n=4$ $P > 0.05$
4 " + CaCl <sub>2</sub>	4	9	
5 " + KNaC <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	17	23	
6 Cornmeal	16	47	

照の corn-meal medium も合せて6組とし、各組10本宛の飼育瓶を用いた。其の結果は第二表に示した通りである。各組100匹の蛆を使用したにかゝらず、羽化数は1を除き100匹以下の發育の悪さであつた。表に明らかな如く対照を含めて6種の飼料間には有意の差が認められた。然し第一の corn-meal + NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> + を除くと差は認められない。corn-meal 単独の場合と同質ということになり塩類の効果は認められない。従つて出目抑制効果が認められるのは NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> のみとなる。NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> にしても其の数の示す如く著しい効果とは言えない。

次に第三表に示す諸種の薬品を corn-meal の基質に D4 medium の大豆粉の割合に加えた飼料に蛆を入れた場合と卵を産ませて發育させた場合の実験を行つた。前者は小管瓶を後者は大きい管瓶を用いた。両者の場合に大差が認められなかつたので合計した結果を第三表に示した。表の第三行まで即ちコレステリン、レシ

第 3 表

medium	number of false normal	number of telescoped <sup>2</sup> eye	value of $\chi^2$
Cornmeal + コレステリン	13	11	$\chi^2 = 0.369$
" + レシチン	3	4	$n=2$ $p > 0.05$
Corn-meal	7	5	
" + カゼインソーダ	528	2	$\chi^2 = 2.638$
" + ペプトン	277	0	$n=2$ $p > 0.05$
D4 medium	300	5	
Corn-meal + ヘモグロビン	178	43	$\chi^2 = 54.78$
" + アルブミン	486	15	$p > 0.001$

チン、corn-meal を含む飼料では蛆の發育悪く、少数の羽化蠅を見るのみであつた。然し此の三者は差が認められないところから corn meal と同質でコレステリン及びレシチンは出目抑制効果がないと言える。次にカゼインソー

ダ及びペプトンの出目抑制効果は著しいものがある。前者は第五報<sup>(14)</sup>に明らかにしたものであるが、後者のペプトンに強い効果があつたのは興味のある点である。又ヘモグロビン及びアルブミンの効果も存するが何れも此の実験の組では異質的で、両者の間にも差がある。只アルブミンの効果が相当大きいのは注目される。

出目の抑制効果は今までの実験結果を通覧すると高温及び飼料の影響が著しい。飼料の場合も抑制効果ある物質は屢質ではなかつた。更に第四報<sup>(13)</sup>に報じた如く白米粉飼料にアンモニア水を少量加えると高い羽化曲線を示すこと、ペプトン、 $\text{NH}_4\text{SO}_4$ 、アルブミンの抑制効果の高いこと、大豆粉の抑制効果は水に溶けなくてはならぬこと、<sup>(14)</sup>等を考慮すると抑制効果は間接的で恐らく medium に生ずる酵母ではないかと想定されたので次の実験が試みられた。即ち市売のパン酵母を Pearl's medium にて $25^\circ\text{C}$ に培養して、約一週間後遠心分離し酵母を集めて飼育瓶に入れた。飼育瓶はあらかじめ corn-meal+agar, agar のみ、を入れたものと全く基質を置かない小管瓶とを用いた。各瓶には孵化後24時間以内の蛆を移入したのであるが三者共に出目の抑制効果は著しい。只羽化個体数は少なかつた。三種の飼育瓶の結果は殆ど差が無かつたので一括して第四表に示した。

第4表

medium	number of false normal	number of telescoped <sup>2</sup> eye	value of $\chi^2$
パン酵母	777	4	$\chi^2=173$
D4medium	181	58	$p>0.001$

パン酵母の出目抑制効果は実に著しく D4 medium との間にも大きい差を示した。此の結果からパン酵母が出目の発現を抑制することは明瞭であるが、果して酵母が発生しなければ如何なる結果を示すかを知るために次の実験が行われた。即ちカゼインソーダ及びペプトンを寒天のみに加えた飼料を小管瓶に入れ、各瓶に蛆を100匹宛移して飼育した。両者共10本づきの瓶を使用したので各1000匹の蛆を用いたことに

なる。此等の蛆の状態を観察するに、大半の蛆は数日にして死滅した。蛹まで達するものも殆んどなく、カゼインソーダの場合は羽化したものなく、ペプトンの場合一頭のみ羽化した。これは表型正常ではあつたが、多数の蛆の死体が分解して酵母の発生養分となる可能性が考えられるので、重要な意味を一頭の蠅にかけられぬから酵母なしでは蛆の発育も出目の抑制も出来得ないことになる。

次に150cc.の広口瓶を用いて corn-meal+砂糖のみの飼料を入れ其の中で親蠅に24時間産卵せしめた。6日間此の方法をつゞけ8日目になると蛆の期間は5—6日, 4—5日, 3—4日, 2—3日, 1—2日, 0—1日となる。産卵後孵化までの時間は約36—48時間であるから、2日後蛆になると計算した結果である。此の六段階に準備した飼育瓶にあらかじめ培養しておいたパン酵母を多量に加えた。結果は蛆の体は急に大きさを増して来て corn-meal 飼育の場合と異り蛆体は D4 medium の発育と頭似して来る。羽化した蠅の出目出現状態を調査して作つたのが第五表である。表にも明らかであるが

第5表

stages of larvae when added the yeast	number of false normal	number of telescoped <sup>2</sup> eye	value of $\chi^2$
5—6日	289	58	} $\chi^2=347$ $p>0.001$
4—5日	251	149	
3—4日	616	24	
2—3日	187	24	
1—2日	474	2	
0—1日	365	5	

4—5日と3—4日の間で出目の出現が明瞭に区別される。勿論両者を境として二群となして見ると著しい有意の差がみとめられた。此のことは各段階の蛆の時期は卵の孵化時間が一定でないから相当のふれが予想されるけれども4—5日を限界として酵母を多量にあたえてもすでに複眼形成には間に合わぬことを示している。後謂 sensitive period が存在することを物語る。

更に上記の実験を確めるために小管瓶を用いて蛆数を一瓶 100匹にして調査した。各飼育瓶 10本宛の計算の結果は第六表に示した。此の実験

第 6 表

stages of larvae when added the yeast	number of false normal	number of telescoped <sup>2</sup> eye	value of $\chi^2$
5 ~ 6 日	113	28	} $\chi^2=20.51$ } $p>0.001$
4 ~ 5 日	73	22	
3 ~ 4 日	137	12	
2 ~ 3 日	178	12	

験に於ては始め corn-meal + 砂糖の飼料で大口瓶に飼育し各時期に、多量に酵母を加えた小管瓶に蛆を移したのである。明らかに 4 ~ 5 日以後と 3 ~ 4 日以前に大差が生じたので先の実験を裏づける結果が得られた。更に 5 - 6 日と 4 - 5 日は差がなく又 3 - 4 日と 2 - 3 日との間にも差が認められなかつた。是は 4 - 5 日のところに sensitive period が存在していることを示している。

考 察

*D. virilis* の出目の発現に及ぼす飼料の影響は飼料成分が直接であるか、間接であるか疑問であつた。大豆粉、乾燥酵母を含む餌は出目を抑制し、反対に白米粉、玉蜀黍粉を含むものは出目の発現を助長した。(12) 第四報に示したアンモニア水を少量加えた場合の蛆の発育、 $\text{NH}_4\text{SO}_4$  の問題、大豆粉の有効成分は水溶性のものである等のことから間接的に飼料成分が出目を抑制すると想定された。此の考えを決定的にしたものはパン酵母であつた、又パン酵母のみならず純粹の *Hansenula anomala* なる酵母でも全くパン酵母同様の抑制効果を示した。(未発表) 玉蜀黍粉飼料で出目の発現が著しいのは飼料内に酵母の発生が徐々に行われ、其の絶対量も少いためによると考えられる。D4 飼料の如き出目抑制効果が大きいのは酵母の発生著しく且つ長期にわたつて発生をつづけるものと思われる。第五報に示したように一瓶内の個体数の多い時は D4 飼料でさえ出目が相当出現

することがある。此の現象も飼料内の酵母発生量から考えて見ると当然のことである。カゼインソーダが出目の抑制効果大であるのにカゼインにはなく、只カゼインをアルカリ溶液にとかずと抑制効果が著しくなつたことも説明がつけられる。又大豆粉の水溶部分が出目抑制効果を持つことも酵母の栄養分吸収から考えるとうなづける。狸々蠅属は酵母を主食としていることは明かになつてはいたが、それが形質発現に著しく作用することは筆者の知る限りでは未だ知らない。只餌の乾燥、多湿等の影響は相当知られてはいたが酵母の問題まで掘り下げてはいない。以上のことから酵母の多量は出目を抑制し酵母が少量で且つ蠅が成育出来る場合は出目を生じ、酵母が発生しないような飼料では蛆も死滅してしまうことがわかる。従つて成育可能の酵母量、或意味では飢餓に陥つている蛆が羽化すると出目となる。Bodenstein<sup>(1)</sup> は *D. melanogaster* の Bar の場合、蛆を飢餓に陥れて蛆期と長くすると facet number が増すと見ているが、出目は此の場合と反対で蛆期が長いと一般に出目を多く生ずる。(12)

温度に関する sensitive period は *D. melanogaster* の Bar, vestigial, infra bar 等に多数知られている。特に Bar の研究は明らかになつている。Bar については温度以外の場合即ち酸素ガス内飼育及び Bar を野生型の複眼に薬品作用でもどす場合の sensitive period は温度の作用の場合より早期であるとされている。然し出目の場合飢餓期が長いと酵母の添加によつても回復させ得ない時期を一応 sensitive period とした。筆者使用の telescoped<sup>2</sup> は産卵が悪く 24 時間より短い時間で多数の卵を得ることが困難であるために明瞭な時間的決定が出来ないのは残念である。然し telescoped<sup>2</sup> を玉蜀黍粉飼料に飼育した場合一定期をすぎてしまえば如何に酵母をあたえても無効で出目が生ずると言いうると思われる。表に示した如く他の実験例よりも本実験に於ては出目の出現が少くなつているのは、蛆の時期が相当長い期間に渡つているためと考えられる。

此の点は将来の研究にまちたい。第五表に於ては4—5日以上の日数を経過したものがそれ以下に比して著しく出目出現率が高い。即ち両区に分けて見ると大きい差を示している。又第六表に於ては4—5日以上経過せる蛆の区とそれ以下の区とでは差が存することは勿論、各区内では差が認められない。故に sensitive period が存することは明瞭である。只此の場合は玉蜀黍粉飼料で飼育していること、蛆の時期が不揃であることから此の sensitive period は時間的に厳密であるとは言えない。従つて本報告では sensitive period の存在することを述べるにとどめたい。

### 要 約

1. 本報告は出目( $t^2$ )因子の発現はパン酵母で殆んど完全に抑制され、且つ出目の抑制には一定の sensitive period の存することについてである。
2. 乾燥酵母、大豆粉、カゼインソーダ、ペプトンを含む飼料の出目抑制効果は酵母の多量発生という二次的効果であると考えられた。又玉蜀黍粉、白米粉含有飼料の出目発現助長は酵母の発生が少いために想定される。
3. 飼料中の酵母の多量は出目発現を抑制し、酵母の少量は出目の発現を助長する。若し酵母の発生を阻止すれば蛆は死滅する。
4. corn-meal 飼料飼育の場合は sensitive period が蛆期の4—5日頃に存在する。

### 引用文献

- (1) Bodenstein, C. Investigation on the problem of metamorphosis v. Some factors determining the facet number in the *Drosophila* mutant Bar. *Genetics* 24: 494—508 (1939)
- (2) Driver, E. C. The temperature effective period the key to eye facet number in *Drosophila*.

- J. Exp. Zool* 46: 317—332 (1926)
- (3) Driver, E. C. Temperature and gene expression in *Drosophila*. *J. Exp. Zool.* 59: 1—23
- (4) Hyde, R. R. An eyeless mutant in *Drosophila hydei*. *Genetics* 7: 319—334 (1922)
- (5) 加地, 大垣 nitrogen mustard によるショウジョウバエの phenocopy の誘発について. 動物学の雑誌. 60: 254—257 (1951)
- (6) 加地, 大垣, 田中 ショウジョウバエのB+物質IV Bar の眼原器の感應期. 第二十三回日本動物學會大會講演(1952)
- (7) Krafka, J. Jr The effect of temperature upon facet number in Bar-eyed *Drosophila*. *J. Gen. physiol.* 2. 409—464 (1920)
- (8) Luce, W. M. The effect of a 95 percent oxygen 5 percent carbon dioxide mixture upon facet number in iufra-bar in *Drosophila melanogaster*. *Genetics.* 24: 79
- (9) Margolis, O. S. Studies on the Bar series of *Drosophila* V. The effects of reduced atmospheric pressure and oxygen on facet number in Bar eyed *Drosophila*. *Genetics* 24: 15—21 (1939)
- (10) Morgan, T. The theory of the gene (1926)
- (11) 大山, 森脇 アナナス狸々蠅に於ける形質發見. [羽化期日と其の影響. 遺傳學雜誌別卷 1: 51—58 (1948)]
- (12) 坂本義彦. 黒狸々蠅に於ける出目( $t^2$ )因子の発現機構第一報. 生態學研究. 10: 74—76 (1948)
- (13) 坂本義彦. 黒狸々蠅に於ける出目( $t^2$ )因子の発現機構第4報. 岩手大學學藝學部研究年報 1: 61—69 (1949)
- (14) 坂本義彦. 黒狸々蠅に於ける出目( $t^2$ )因子の発現機構第5報. 岩手大學學藝學部研究年報 3: 36—41 (1952)
- (15) Stanley, W. F. The effect of temperature upon wing size in *Drosophila*. *J. Exp. zool.* 69: 459—495 (1935)
- (16) Surarren, T.C. The effect of temperature on a mottled eye stock of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 20: 357—362 (1938)