

猩々蠅に見られる螢光物質について

前 田 米 太 郎

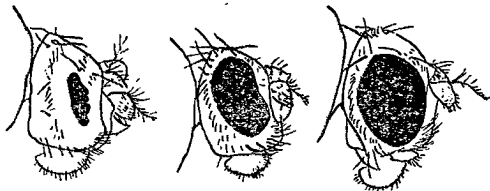
Y. Maeda ; The Fluorescent Substances in *Drosophila melanogaster*

遺伝因子の働きについては、Butenandtによる猩々蠅の小眼色素についての研究や、Beadle等によるパンアカカビの研究をはじめとした最近の遺伝生化学の成果から、いろいろ仮説がたてられているが、発生途上における生体内の化学変化に際して、遺伝因子は種々の酵素に関係しその結果いろいろの形質がつくられるものと考えられている。いわゆる突然変異は、遺伝因子が量的、質的変化をした結果であると考えられるから、突然変異を起した個体は、その発生途上において化学的に正常型と異つた過程を経てきたと思われる。だから突然変異個体は、その特異な形質を表わす成体においては勿論、発生途上においても正常型に比して化学的に何等かの相違、例えば或酵素、或化学物質の有無又は、過不足の様な相違があるのではないかと思われる。こう云う見地から猩々蠅の正常型と小眼数の減少する突然変異との間の化学的な差異、ここでは螢光物質のみの差異について筆者の行つた研究の結果を報告したい。

この研究に終始あたたかい御指導を賜りました、恩師藤井教授・川辺助教授・須田助教授に謹んで茲に深甚の謝意を表します。

材料と方法

猩々蠅の幼虫・蛹・成虫を問わず、これらをすりつぶしてアルコールの浸出液をつくり、これに紫外線を通すと紫がかつた美しい螢光が見られる。この螢光物質はただ1種類のものではなく、螢光の色が異つた数種のものが混りあつたものである事が分析によつて知られる。この研究に用いた猩々蠅は、神戸大学理学部生物学教室の飼育室(25°C ± 1°C)で数年に亘り飼ひ続けてきた、キロシヨウジヨウバエ(*Drosophila melanogaster*)の正常型(Oregonを使用)とBar(棒眼突然変異)その他である。正常型は複眼の小眼数が早では780、合では740であるが、Barは小眼数♀70・♂90であつて左右の眼が棒状に見えるので、この名がある。(第1図)



第1図 左、Bar ホモ 中、Bar ヘテロ 右、

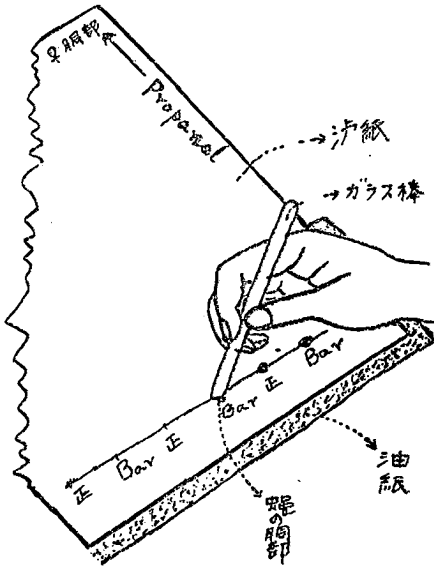
正常型(千野原図)

合には螢光物質の量が多いが、此の論文は早のみについて調べたものの報告である。

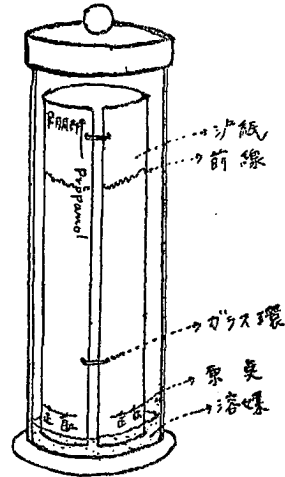
飼育瓶の餌は、糖蜜30g(又は蔗糖20g);小麦粉50g;寒天5g;水350cc.~450cc;乾燥酵母0.5g;KH₂PO₄及びKNO₃痕跡を煮て滅菌した牛乳瓶に入れ、冷却後純粋培養したパン酵母をうえて1昼夜飼育室に放置したものであるが、同じ飼育瓶内でも始めに羽化してくる個体程栄養その他の関係で大きいので、この差をなくするために、この研究には最初に羽化したものから30個体だけをとり分析に用いた。蠅は羽化後24時間以内のまだ体色の淡いものをつつて新しい餌に移し、約4日間飼育して完全に成熟したものを水洗してから熱殺し、頭胸部をとりさつて胴部のみを用いた。眼には赤い色素が多量にあつて、これが分析の妨げになり、又胸部には螢光物質が極めて少いので、胴部のみを用いたものである。成熟した早蠅は餌を充分とつて胴部がはち切れんばかり大きく膨らんでおり、解剖すると見事に成熟した卵巣が胴部の殆んどを占めているのが見られる。処理した正常型とBarの早の胴部をそれぞれ約1ccの80%アルコールに約1時間つけ、これに紫外線(使用フィルターは東芝UV-D1 355μm)を通してみると、螢光は正常型の方が紫色が強く、Barはコバルトがかつた紫であつて明かな差が認められる。前述の様にこの螢光物質は、ただ1種類ではなく数種のものが混りあつているのだから、正常型とBarでは、これら螢光物質の比率が異り、その為此の様な螢光の色の違いを生ずると思われるのでこれをペーパー、クロマトグラフ法(註)によつて分析した。即ち処理した蠅の胴部を一定数(数個体程度)づつ、油紙を下に敷いた濾紙(東洋濾紙No.50及びNo.3を使用)の上でガラス棒によつてすりつぶし(第2図)、約10分間風乾後、Propanol(Norpropanol2部:1%アムモニア水1部)、或はButanol酢酸(Butanol4部:氷酢酸1部:蒸溜水2部)で一次元展開し(第3図)、風乾によつて溶媒を完全に蒸発させて後、紫外線で螢光をしらべた。

(註) Paper Chromatography(一次元法)微量分析の一方法で、灰分の少い濾紙の一端に試料をつけ(原点)、風乾後密閉した器の中で原点の下から溶媒をしみ上げると、試料の内その溶媒に易溶のものほど溶媒の前線と共に上昇し、難溶のものは上昇し難く、全く不溶のものは原点に残るから、一定時間後器よりとり出して調べると、試料が混合物である場合はこの原理から分離が見られる。(原点よりその物質の上昇した距離) / (原点より溶媒のしみ上つた前線までの距離)をRfと云い、物質によつて或溶媒におけるRfは決つているから、Rfから逆にその物質を推定しうる。

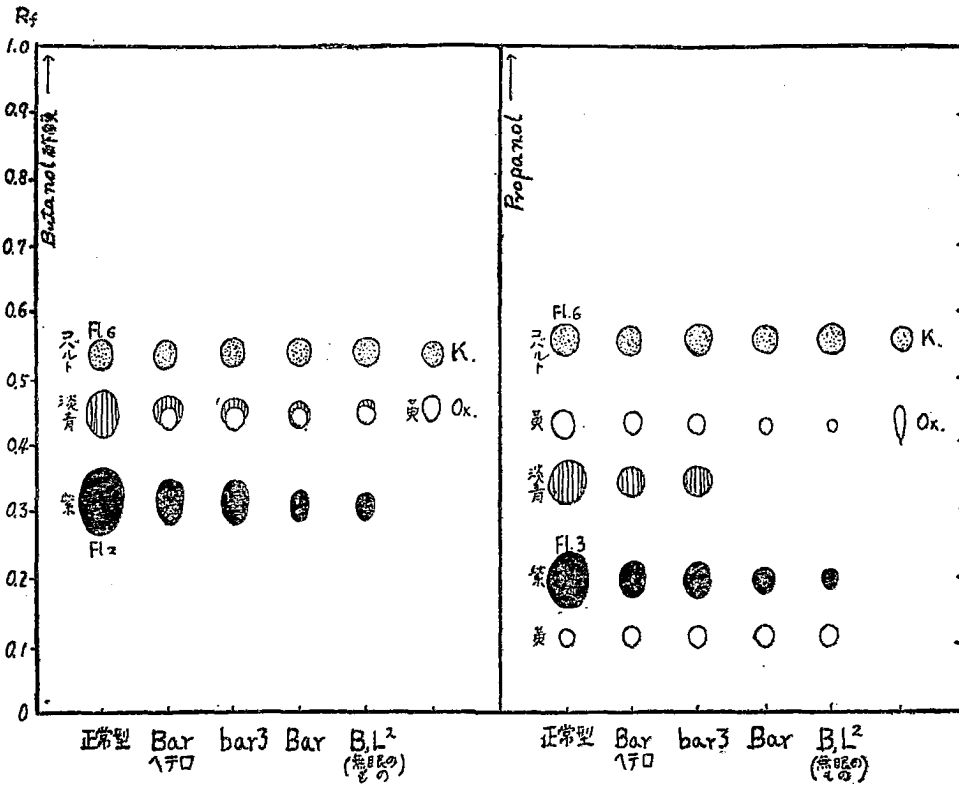
結果 この実験の結果、第4図の様な蛍光物質の斑点を得た。



第2図 足をとり出す



第3図 一次元展開中の濾紙



第4図 正常型及び小眼数減少突然変異の早蛹胸部に見られる蛍光物質のペーパー、クロマトグラム
 正常型：(小眼数780)，Barヘテロ：Barと正常型のヘテロ個体(小眼数360)，bar3：(小眼数ヘテロに似る)，Bar：(小眼数70)，B.L.²(小眼数0)，K：キヌレンン，Ox：3ハイドロオキシキヌレンン，Fl.₃：蛍光物質第3，Fl.₆：蛍光物質第6

第4図の如く正常型とBarでは、Rfの最も大きいFl₆はほぼ同量であるが、他の蛍光物質は正常型の方が多し結果がえられた。Fl₆はコバルト色であり、Fl₃は紫色である。Fl₆の量は正常型もBarも同量であるが、Fl₃は正常型に著しく多い為の先の浸出液の調査の時、蛍光の色に差を生じた訳である。胴部は殆んどが卵巣で占められているからこの結果は卵巣によるものではないかと考えて、卵巣のみをとり出してすりつぶし展開した結果、胴部全体の場合と同様Fl₆は正常型もBarもほぼ同量で、Fl₃は正常型の方が多し事が判つた。正常型とBarに見られた差はBarの小眼数が少ない為を生じたのであるか、或は小眼数とは余り関係のない別個の生化学的な理由による差であるかを調べる為に、Bar以外の小眼数の減少する突然変異の♀の胴部について同様の分析を行った。これに用いた突然変異は、Barヘテロ(Barと正常型のヘテロ、Bar因子はX染色体上にあるのでヘテロは♀にしかなく、その小眼数は360)、bar 3 (Barヘテロに似る)、B, Lobe² (Lobe²はBar同様小眼数が非常に減少する突然変異であるが、Barの眼は棒状になるがLobe²は円盤状に小さくなる。BarとLobe²の2因子をもつたB, L²は、小眼数が更に減り無限の個体をも生じ、淘汰によつて無限個体の頻度を高める事が出来る。神戸大学川辺助教によつてつくられたもので、この研究には無限の個体を用いた)等である。小眼数の多いものから順に並べると、

正常型(♀780), Barヘテロ(360), bar 3 (Barヘテロに似る), Bar(♀70), B, L²(♀0)。

これらの突然変異個体を処理して1定量を濾紙上ですりつぶして展開した結果は、先に掲げた第4図の通りで、この結果から次の事が云える。

① Fl₆以外の蛍光物質は小眼数の減少と共に減っている。この事からBarと正常型にみられたFl₆以外の蛍光物質の量の差は小眼数の減少によるものと思われる。

② コバルト色の蛍光物質Fl₆は、どの突然変異でもほぼ同量であるからこの蛍光物質のみは小眼数に関係ないものと思われる。

③ Fl₆はHadorn and Mitchell (1951) が蠅の卵巣と卵にのみ存在すると報告している物質であつて、同じ濾紙に同時に展開したキヌレニン(大阪大学医学部吉川研究室より戴いた)のRf及び蛍光の色と等しく、又このキヌレニンとFl₆を混ぜて濾紙につけても分離しない事、キヌレニンを多くもつているcn(辰砂色眼突然変異)の蠅のFl₆と全く同じRfと蛍光の色である事等から考えて、このFl₆はキヌレニンであると思われる。

④ コイ・フナの鱗・皮膚、トノサマガエルの皮膚(波磨・後藤・榎引 1952)、モンシロチョウの翅、カイコの皮膚(梅鉢・中村 1954)その他動物界に広く紫色の蛍光物質の見られる事が多くの人々によつて調べられており、これがIchthyopterin (2-Amino-6,9-Dihydroxypteridine-8-Acetic Acid)である事が報告されている。蠅に見られた紫色の蛍光物質Fl₆もIchthyopterinであると思われる。

⑤ Rfの高い黄色の蛍光物質は、同時に展開した3-ハイドロオキシキヌレニンのRfと似ているが、このものが3-ハイドロオキシキヌレニンであるか否かは確認していない。

考 察

Hadorn・Mitchell (1951) は、キロシヨウシヨウバエの眼色の突然変異——y (黄体色眼正常); cn (辰砂色眼); v (朱色眼); st (鮮紅色眼); car (暗紅玉色眼); ca (ブドー酒色眼); pP (桔淡黄ピンク眼); lt (淡帯赤色眼); w^a (淡黄赤透明色眼); w^b (w^aに似る); bw (淡褐色眼); cn, bw (白色眼); w (白色眼)等——の蛍光物質をペーパー、クロマトグラフ法によつて分析し、次の様な結果を報告している。眼の赤い色素の最も多い正常型やyの様な群から、全く赤い色素をもたないw, cn, bwの群まで7群に分け、それぞれの蛍光物質を定量して正常な赤い色素を多くもつ群ほど蛍光物質の濃度が高く、色素の減少と共に蛍光物質が減る事から蠅に見られる数種の蛍光物質が、眼の赤い色素と関係ある事を暗示している。併し卵と卵巣のみにあるコバルト色のFl₆だけは、wやcn, bwの様な赤い色素を全くつくりださない白眼群のものでも正常型とほぼ同量持つと記載している。筆者が小眼数の減少する突然変異を用いて調べた結果は、Hadorn・Mitchellが眼色の突然変異について報告した結果、即ちFl₆は赤い色素と関係なく、それ以外の蛍光物質は色素に比例して増減するという事と同じであつた。Hadorn・Mitchellの云う蛍光物質は眼の赤い色素と関係ありと云う示唆は、筆者の研究結果も亦これを支持している。合田はメラニン生成の過程において、メラニンの中間物質のメラニン化又はその前駆体への変化は、蛍光物質の協力による光化学的酸化作用によつておこるのでないかと云つているが、蠅の蛍光物質が眼の赤い色素に関係あるらしい事から考えて、蠅においても眼の色素形成の過程において、蛍光物質が協力して働いているのではないかとと思われる。

此の研究は昭和29年度文部省科学研究助成補助金によつて行つたもので、同年10月、日本遺伝学会第26回大会において発表したものであります。(110ページへ)

(146ページより)

要 約

1. キイロシヨウシヨウバエの小眼数の減少する突然変異の早胸部の螢光物質をペーパー、クロマトグラフ法により分析した。

2. 卵と卵巣にみられる Fl₆ と称するコバルト色の螢光物質は、どの突然変異にもほぼ同量あり、このものはキヌレニンと思われる。

3. Fl₆ 以外の螢光物質は小眼数の少ないものほど少かった。この事は Hadorn・Mitchell (1951) が眼色の突然変異について行つた研究の結果と同じで、螢光物質が眼の赤い色素と関係があると云う Hadorn・Mitchell の示唆を支持するものである。

4. 正常型に多い Fl₁₁ と称する紫色の螢光物質は Ichthyopterin と思われる。

文 献

合田 (1942) : 光と動物

波磨・牧・有賀 (1949) : 家蚕におけるプテリンの存在とその遺伝生化学的考察。

動物学雑誌 vol. 58 No. 12

Hadorn and Mitchell (1951) :

Properties of Mutants of *Drosophila melanogaster* and Changes during Development as Revealed by Paper Chromatography.

Proc. N. A. S. vol. 37

波磨・後藤・榎引 (1952) :

コイ・フナの皮膚及び鱗の紫色螢光物質。

科学 vol. 22 No. 9

駒井卓編 (1952) :

シヨウシヨウバエの遺伝と実験。

培風館

梅林・中村 (1954) :

蝶の翅におけるキヌレニンの存在。

動物学雑誌 vol. 63 No. 2

藤井・川辺・木本・金久・前田 (1954) :

猩々蠅の棒眼の発生遺伝学的研究Ⅶ 成虫における螢光物質。

遺伝学雑誌 vol. 29 No. 4