

カブラハバチの遺伝子連鎖地図の作製

松本 耕平・畠山 正統・大石 陸生

Kouhei MATSUMOTO¹⁾, Masatsugu HATAKEYAMA²⁾ and Kugao OISHI^{1,3)}: Genetic Linkage Map in the Sawfly, *Athalia rosae ruficornis* (Hymenoptera)*

¹⁾ Division of Biology, Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657–8501, Japan

²⁾ Developmental Mechanisms Laboratory, Developmental Biology Department, Institute of Insect and Animal Sciences, National Institute of Agrobiological Sciences, Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305–8634, Japan

³⁾ Department of Biology, Faculty of Science, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657–8501, Japan

E-mail: oishi@biol.sci.kobe-u.ac.jp (KO)

わたしたちは膜翅目昆虫のカブラハバチ *Athalia rosae ruficornis* をモデル実験生物として研究をすすめている。カブラハバチは、成熟未受精卵を蒸留水中に浸すだけで単為発生を開始させることができる、昆虫で唯一卵内に精子を顕微注入することで体外人工授精ができるなどの、ユニークな特長を備えており、発生初期のメカニズムを解明する上で有利なモデル生物となりえると考えている (Oishi *et al.*, 1993, 1995, 1998)。しかし、遺伝学的バックグラウンドに乏しい面があり、それを埋めることは研究課題の一つである。

代表的なモデル生物であるキロシヨウジョウバエ *Drosophila melanogaster* は、唾腺染色体という巨大な多糸染色体をもつために FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) 法を用いて遺伝子の染色体上における位置を簡単に知ることができ、詳細な細胞学的地図が作製されている。しかし、カブラハバチをはじめ、他の多くの昆虫は多糸染色体を持たないために、シヨウジョウバエのような遺伝学的バックグラウンドを得ることは容易ではない。

カブラハバチでは近年 RAPD (Random amplified polymorphic DNA) 法を用いた連鎖解析で 16 本の連鎖群からなる遺伝子連鎖地図が得られ (Nishimori *et al.*, 2000)、FISH 法により単一コピー遺伝子を体細胞分裂中期染色体上に位置づけることにも成功している (松本ら, 2001; Matsumoto *et al.*, 2002)。そこで、AFLP 法 (Amplified fragment length polymorphism) を用いて DNA 多型を検出し、連鎖解析を行うことにより、さらに詳細な遺伝子連鎖地図の作製を試みた。多型の検出には、カブラハバチの可視突然変異である *yellow fat body* (*yfb*), *cream eye color* (*cec*), *short wing* (*sw*) の三つについてヘテロの遺伝子型を持つ雌 1 個体と、その雌から単為発生的に得た半数体雄 47 個体を用いた。これらの個体からそれぞれゲノム DNA を抽出し、2 種類の制限酵素 (*EcoRI*, *MseI*) で消化した。得られた DNA 断片にアダプターを結合させたものを鋳型とし、アダプター部位、制限部位に特異的なプライマーに任意の 3 塩基を加えたプライマーを用いて PCR を行い (Vos *et al.*, 1995)、任意に設定した 3 塩基の部分の塩基置換により生じる DNA 多型を AFLP マーカーとして検出した。

得られた 67 個の AFLP マーカーを、連鎖解析ソフト MAPMAKER ver. 2.0 (Lander *et al.*, 1987) で解析したところ、3 個の可視突然変異マーカーと 59 個の AFLP マーカーが 14 本の連鎖群を構成した (Fig. 1)。

今後はより多くの AFLP マーカーを得ることで、カブラハバチ半数体の染色体数の 8 本に収束した遺伝子連鎖地図を作製したい。また、クローニングし STS 化 (Sequence tagged sites) した AFLP マーカーを、体細胞分裂中期の染色体上に FISH することにより、連鎖群と染色体を 1 対 1 で対応させることを目指している。

* Abstract of paper read at the 37th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, June 1–2, 2001 (Nihonmatsu, Fukushima).

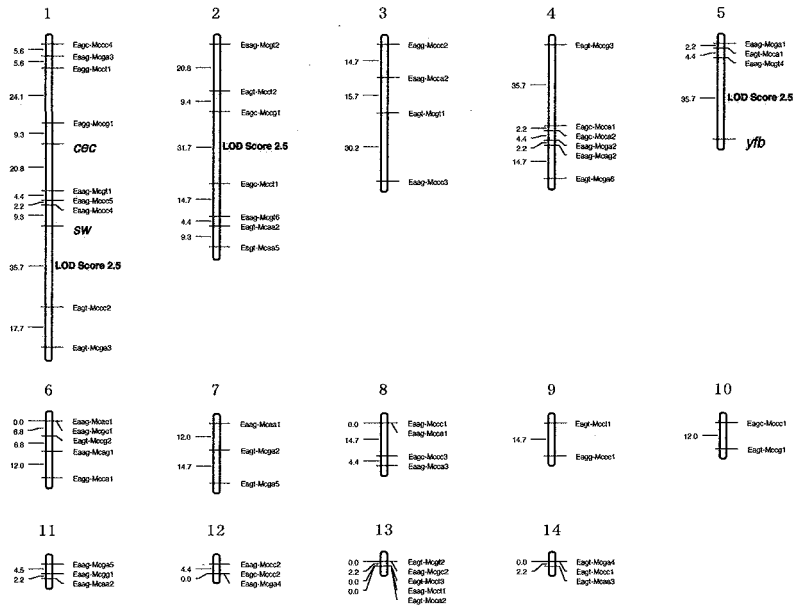


Fig. 1 A linkage map of *Athalia rosae ruficornis* based on 59 AFLP markers and three visible mutation markers, *yellow fat body* (*yfb*), *cream eye color* (*cec*) and *short wing* (*sw*). Markers are each represented by the *Eco*RI primer designation (a letter represented by three selective bases), a dash and the *Mse*I primer designation. Markers were mapped with a minimum LOD score for linkage of 3.0 except for three parts with a minimum LOD score for linkage of 2.5. The numbers on the left are the genetic distances in each interval measured in centimorgans.

引用文献

- Lander, E.S., P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M.J. Dary, S.E. Lincoln, and L. Newburg (1987) *Genomics*, 1, 174–181.
- 松本耕平・李 戴旻・島山正統・大石陸生 (2001) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, 36, 25–26.
- Matsumoto, K., D.S. Yamamoto, M. Sumitani, J.M. Lee, M. Hatakeyama, and K. Oishi (2002) *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 49, 34–40.
- Nishimori, Y., J.M. Lee, M. Sumitani, M. Hatakeyama, and K. Oishi (2000) *Genes Genet. Syst.*, 75, 159–166.
- Oishi, K., M. Sawa, M. Hatakeyama and Y. Kageyama (1993) *Genetica*, 88, 119–127.
- Oishi, K., M. Sawa and M. Hatakeyama (1995) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, 30, 1–8.
- Oishi, K., M. Hatakeyama and M. Sawa (1998) In R.N. Chatterjee and L. Sanchez (eds.), *Genome Analysis in Eukaryotes: Developmental and Evolutionary Aspects*, pp. 51–64. Narosa Publishing House, New Delhi.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau (1995) *Nucleic Acids Res.*, 23, 4407–4414.