

## カブラハバチ *Athalia rosae ruficornis* 遺伝子連鎖地図の作成

西森 善克・畠山 正統・大石 陸生

### Yoshikatsu NISHIMORI<sup>1)</sup>, Masatsugu HATAKEYAMA<sup>2)</sup>, Kugao OISHI<sup>1,2)</sup>: Construction of a linkage map in the turnip sawfly, *Athalia rosae ruficornis* (Hymenoptera)\*

<sup>1)</sup> Division of Bioscience, Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657–8501, Japan

<sup>2)</sup> Department of biology, Faculty of Science, Kobe University, Nada, Kobe, Hyogo 657–8501, Japan

膜翅目昆虫のカブラハバチ *Athalia rosae ruficornis* には発生生物学の実験系としてのさまざまな利点がある。例えば、成熟未受精卵を蒸留水に浸すだけで単為発生を開始させることができる (Naito, 1982; Sawa and Oishi, 1989a)、昆虫で唯一卵内への精子注入により人工授精が可能である (Sawa and Oishi, 1989b)、などである。発生生物学の代表的なモデル生物である昆虫の一つはキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* であり、確立された遺伝学的バックグラウンドを利用して様々な研究が行われてきた。一方、カブラハバチは遺伝学的バックグラウンドに乏しく、マーカーとなる可視突然変異は現在のところ三つ [yellow fat body (*yfb*) (Sawa and Oishi, 1989b); short wing (*sw*); cream eye color (*cec*) (Lee *et al.*, 1998)]のみである。しかし、このように可視突然変異の少ない生物でも、DNA 多型をマーカーに用いれば遺伝子連鎖地図の作成が可能である。

任意の短い塩基配列をプライマーに用い、ゲノム DNA を鋳型にして PCR (Polymerase Chain Reaction) を行い、集団内の DNA 多型を検出する方法、RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)–PCR 法 (Williams *et al.*, 1990) を利用してカブラハバチの遺伝子連鎖地図の作成を試みた。任意の短い塩基配列として Operon 社のランダム 10-mer から 180 種類を用い、可視突然変異 *yfb* に関してヘテロ接合体 (*yfb*/+) の二倍体の雌 1 個体、および同個体の成熟未受精卵を人為的に発生させて得た次代 ( $G_1$ ) の半数体の雄 40 個体 (野生型 20 個体、*yfb* 型 20 個体) のゲノム DNA を鋳型にして PCR を行い、DNA 多型 (RAPD マーカー) を検出した。その結果、用いた 180 種類のうち 61 種類のプライマーで 79 の RAPD マーカーを得た。これらはすべて PCR 増幅断片の有無として検出できる DNA 多型であった。これらの RAPD マーカーと *yfb* をあわせた合計 80 のマーカーを連鎖解析ソフト MAPMAKER Macintosh V 2.0 (Lander *et al.*, 1987) を用いて解析したところ、62 のマーカーで 16 の連鎖群ができ、連鎖地図の長さは 542.2 cM であった。このうち 14 の RAPD マーカーについては、ゲノム中の同定標識として使えるように、クローン化して塩基配列を決定し、特異的なプライマーを設定して配列認識部位 STS (Sequence Tagged Site) (Olson *et al.*, 1989) 化を行った。さらにこれらのうちの三つについては新たに設定したプライマーを用いて厳しい条件で PCR を行い、再現性を確認した。このうちの二つは対立遺伝子で、一方の RAPD マーカーは内部に欠失をもっていた。

これまで RAPD–PCR 法では対立遺伝子様のマーカーは検出できないといわれてきた (Devos and Gale, 1992)。しかし、膜翅目昆虫のように単為生殖を行い、次代の半数体雄に遺伝子型が反映されるような場合には対立遺伝子様のマーカーの検出も可能である。すなわち、膜翅目昆虫での連鎖解析には RAPD–PCR 法が有効であろう。残念ながら現在のところ、得られた連鎖群数は、カブラハバチの染色体数 ( $n=8$ ) に収束はしておらず、今後、マーカーの染色体標本への FISH (Fluorescence *in situ* Hybridization) などにより、連鎖群数と染色体との対応を検討していく予定である。

\* Abstract of paper read at the 35th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, June 4–5, 1999 (Okayama, Okayama).

## 引用文献

- Devos, K.M. and M.D. Gale (1992) *Theor. Appl. Genet.*, **84**, 567–572.
- Lander, E.S., P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M.J. Dary, S.E. Lincoln and L. Newburg (1987) *Genomics*, **1**, 174–181.
- Lee, J.M., Y. Hashino, M. Hatakeyama, K. Oishi and T. Naito (1998) *J. Insect Behav.*, **11**, 419–428.
- Naito, T. (1982) *Kontyû*, **50**, 569–587.
- Olson, M., L. Hood, C. Cantor and D. Botstein (1989) *Science*, **245**, 1434–1435.
- Sawa, M. and K. Oishi (1989a) *Zool. Sci.*, **6**, 549–556.
- Sawa, M. and K. Oishi (1989b) *Zool. Sci.*, **6**, 557–563.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey (1990) *Nucleic Acids Res.*, **18**, 6531–6535.