

2013

ニュースレター

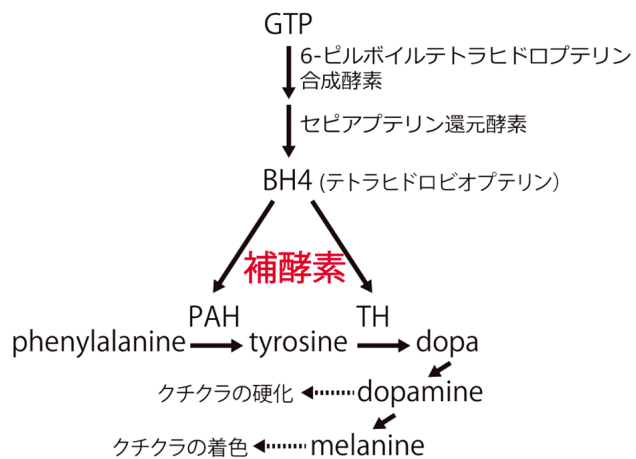
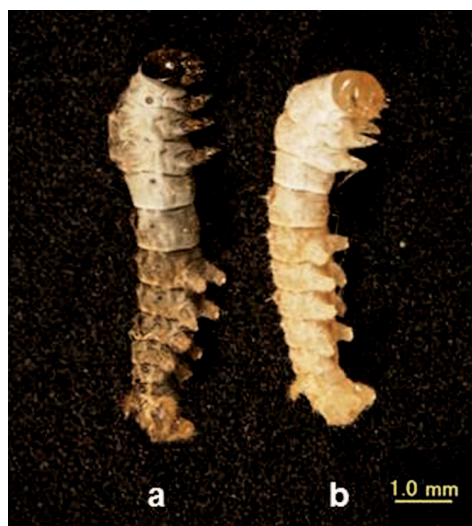
“おかいこさま”

No.24

National Bio-Resources Project "Silkworm"

ナショナルバイオリソースプロジェクト「カイコ」情報誌
平成 25 年 4 月 30 日発行 第 24 号
<http://www.nbrp.jp/index.jsp>

ヒトの遺伝疾患モデルとしてのカイコバイオリソースの可能性



アルビノ致死変異体とその発現メカニズム (詳細は本文)

- a、正常な2齢幼虫 (頭部は黒色で皮膚は硬化する)
- b、アルビノ致死変異体
アルビノと正常個体は同じ親から産まれた兄妹であるが、アルビノ個体は致死する。
- c、脱皮後の皮膚の着色、硬化に関する代謝系

●カイコにおける致死遺伝子の研究意義と保存方法について

九州大学大学院農学研究院 遺伝子資源開発研究センター 家蚕遺伝子開発分野 藤井 告

致死遺伝子の研究上の有用性

致死遺伝子は、発生の途中で個体を致死させる作用を持つ遺伝子である。優性の致死遺伝子が発生した場合はその個体が致死し、後代に伝わることは不完全優性等の場合に限られる。したがって、通常我々が扱う致死遺伝子は劣性遺伝子によるものである。致死遺伝子は広く生物に認められ、原因遺伝子がヘテロ個体の場合は正常な発生を行ない、ホモ個体の場合のみ致死作用あるいは半致死作用が現れる。ヒトでは遺伝疾患の原因としても医療上の課題として取上げられる事が少なくない。致死遺伝子の研究は生物の様々な発生・分化過程における生命現象の解明、ひいては難病の克服にも寄与し得る可能性を持っている。カイコでは古くから致死遺伝子が多数報告されている。2008年に詳細なカイコのゲノム情報が公開されて以降、カイコの形質突然変異をDNAレベルで解析する研究が盛んになり、致死遺伝子についても塩基配列レベルでの異常が特定されてきている。それらの中には他生物と比較してユニークな遺伝子や、予想通りヒトの疾患モデルの候補となるような遺伝子も見つかっている（表1）。今回はそれらの中から2齢初期に発現する致死遺伝子であるアルビノ (*al*) と黄体色致死 (*lem^l*) に関する最新の知見を紹介する。

表1 カイコの致死遺伝子の研究例

遺伝子記号	遺伝子名	形質の特徴	染色体・遺伝子構造、タンパク質等の情報
<i>al</i>	アルビノ	1齢期は正常だが、2齢起蚕時にクチクラの着色と硬化が不完全な状態で致死する。	6-ピルボイルテトラヒドロプテリン合成酵素をコードする遺伝子に3.9 kbのトランスポゾンが挿入されている。
<i>lem^l</i>	黄体色致死	<i>lem</i> のアレル。1齢期は正常だが、2齢起蚕以降、摂食しないまま数日以内で致死する。	セピアプテリン還元酵素をコードする遺伝子に27 bpの挿入がある。
<i>Md</i>	間接飛翔筋断裂	ヘテロ型の雄蛾は間接飛翔筋が断裂し羽ばたくことができない。ヘミ型の雌は初期発生の途中で致死する。	<i>Md</i> を持つZ染色体は、少なくとも末端部の6 Mbを欠失している。
<i>Nl</i>	無半月紋	ホモ型は、発生の初期に致死する。ヘテロ型では、幼虫の半月紋と星状紋が消失する。	<i>Nl</i> を持つ第14染色体は、少なくとも末端部の4.1 Mbを欠失している。
<i>nm-g</i>	光沢不眠蚕	2齢に到達できずに致死するものが多い。	エクジステロイドの生合成を支配する遺伝子にトランスポゾンが挿入されている。
<i>sch^l</i>	伴性劣性赤蟻致死	<i>sch</i> のアレル。1齢幼虫が卵から孵化できずに卵内で致死する。	トランスポゾンの挿入によって、チロシン水酸化酵素をコードする遺伝子の転写が抑制されている。
<i>sku</i>	臭蚕	イソ吉草酸による特有の臭気を発し、蛹期に致死する。	イソバレリルCoA脱水素酵素をコードする遺伝子にミスセンス変異がある。
<i>Vg</i>	痕跡翅	ヘテロ型の雄は翅が痕跡的になり、ヘミ型の雌は初期発生の途中で致死する。	Z染色体に1.8 Mbの欠失が有ることが原因で、通常は1.8 Mb離れている二つの遺伝子から融合転写産物が生じる。

アルビノ (*al*) と黄体色致死 (*lem^l*)

カイコは幼虫時代、脱皮を繰り返して成長する。脱皮したばかりの皮膚や頭部は白く柔らかいが、数時間の間に固い皮膚に、また頭部は黒色になる。この変化にはドーパミンが関与し、新しく出来た皮膚や頭部にメラニンが蓄積することで黒く着色されると共に硬化する。ところが、アルビノ、黄体色致死変異体では、1齢幼虫の間は正常に発育するが、最初の脱皮後、頭部や皮膚の着色と硬化が不完全な状態となり致死する（表紙）。少々複雑な説明になるが、ドーパミンの前駆体であるドーパは、フェニルアラニン水酸化酵素（PAH）とチロシン水酸化酵素（TH）の働きで、フェニルアラニンから合成される（表紙）。二つの酵素は、補酵素として、グアノシン三リン酸から合成されるテトラヒドロピオプテリン（BH4）を必要とする。ところがアルビノと黄体色致死では、それぞれ、BH4の合成に必須である6-ピルボイルテトラヒドロプテリン合成酵素をコードする遺伝子と、セピアプテリン還元酵素をコードする遺伝子に異常がある（1、2）。すなわちこれらの変異体では、BH4の不足が原因で、PAHやTHが機能せず、その結果、ドーパミンやメラニンが合成されず、クチクラの着色・硬化が不十分になると考えられる。ではアルビノや黄体色致死は、何故1齢の間は正常なのだろうか？ おそらく、卵の中に、雌親由来する6-ピルボイルテトラヒドロプテリン合成酵素やセピアプテリン還元酵素が含まれており、1齢幼虫の間は、その酵素が機能を保持しているのだろう。なお、ドーパミンは、神経伝達物質としての機能を有する。ヒトでは、ドーパミンの不足は、脳神経疾患の一つであるパーキンソン病の原因となる。興味深いことに、アルビノや黄体色致死は、2齢起時にさかんに頭部を振って運動するが、桑を摂食しないという行動異常を示す。*al*や*lem^l*には、パーキンソン病のカイコモデルとしての可能性が秘められている（2）。

- (1) Fujii T. et al., 2013. Albino (*al*) is a tetrahydrobiopterin (BH4)-deficient mutant of the silkworm *Bombyx mori*. IBMB. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibmb.2013.03.009> In press.
- (2) Meng Y. et al., 2009. The silkworm mutant *lemon* (*lemon lethal*) is a potential insect model for human sepiapterin reductase deficiency. J Biol Chem. 284, 11698-11705.

致死遺伝子は通常どのように保存するのか

致死遺伝子をホモで持った個体は致死してしまう。致死遺伝子を保存するには、致死遺伝子をヘテロで持った見かけ上は正常の個体間での交配が必要となる。しかし、致死遺伝子を全く持たない正常との区別が外見では出来ないため、致死遺伝子を維持するためには一蛾育を行う必要がある。一蛾育（いちがいく）とはカイコでの特殊な専門用語で、1頭=1匹（カイコや蝶は1頭、2頭と数えることが多い）の雌個体が産卵した卵（兄妹）を、別の雌が産卵した卵（兄妹）と混合せずに別々に飼育することである（解説1）。カイコでは1頭の雌が300から500の卵を産むので兄妹も相当な数に上る。実はこの兄妹数の多さが実験材料として優れている点でもある。致死個体が分離した区において生き残った雌雄間（すなわち兄妹）で交配を行い、得られた卵を再度、一蛾育すると4/9の確率で再び致死個体が分離する。一蛾育→アタリ区の特定→一蛾育を繰り返すことで致死遺伝子は維持されている。

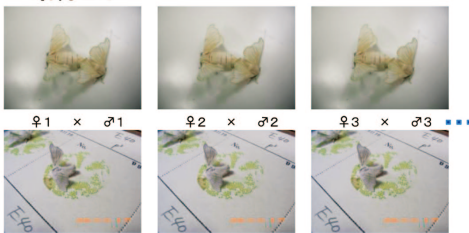
ところで、アタリ区の特定には致死遺伝子が発現される時期までの飼育が必要である。致死作用の現れる時期が早い場合は比較的労力は少ない（解説2）。しかし、発育ステージの後期にならないと致死しないものの維持には、大変な労力が必要である。その最たる例が、石亀蚕（*gap*）である（写真1）。その名称は、翅がまったく形成されないために、蛹の形態が首を伸ばした亀のように見えることに由来する。幼虫期には外部形態上の異常が認められないことから、アタリ区を特定するには、蛹期まで飼育を続けなければいけない。確率的には一蛾育を9区行うと4区では石亀蚕が分離するはずなのであるが（解説3）、実際にはどの区にも石亀蚕を確認できないことも多い。そのような場合には、半化蛹が多い区をアタリ区とみなして交配を行い、次の蚕期にも一蛾育を行い、石亀蚕を求めて飼育が継続される。通常の系統の維持には1区を年に1回飼育すれば良いのであるが、石亀蚕の場合、2007年には23区の一蛾育が行われた。換言すると、通常の系統維持の23倍もの労力と経費がかかったのである。

致死遺伝子の安全かつ効率的な保存方法の開発

系統維持の現場では、増える一方の系統に対応するため、効率的な飼育が求められる。致死遺伝子の実体がDNAレベルで明らかにされたものについては、一蛾育を行なうことなく、致死遺伝子を維持することが可能である。上述した石亀蚕（*gap*）はまだ原因遺伝子が特定されていないので、ここではアルビノでの効率的な保存法の事例を述べる。アルビノ（*al*）では、6-ピルボイルテトラヒドロプテリン合成酵素をコードしている遺伝子に3.9 kbのトランスポゾンが挿入されている。その特徴を利用して、飼育を行う前に個々の蛾区の一部の卵からDNAを抽出してPCRを行い、当該遺伝子におけるトランスポゾンの挿入の有無を調査すれば良い。

トランスポゾンの挿入を持った当該遺伝子をホモで保有している卵があれば、その卵を含む蛾区がアタリ区である。致死遺伝子の原因遺伝子が判明すれば、このようなDNA診断を行うことで、安全かつ効率的に維持することが可能になる。

一蛾育とは・・・



目標の数まで上記のように♂♀を交尾させ早に産卵させる（上の♀♂は都合で全て同じ写真を使っていますが異なる親と見なして下さい。）

♀は交尾後、一晩で300から500の卵を産む

一蛾育の様子(解説1)

上記の様にして得た異なる雌雄の産んだ一腹の卵を別々に飼育している様子



アタリ区はどの区(解説2)

一蛾育は1齢期は弁当箱で行ない、1齢2日頃に致死する遺伝子の場合にはそれまで飼育して調査する。その後はアタリ区だけを1区に混合しての飼育になる。しかし、5齢後半や蛹で発現する致死遺伝子の場合、すべての区の飼育を続けることになる。

致死遺伝子の実際の維持 ※アタリ区の確率を考慮して行なう

(+ は正常遺伝子、/ は致死遺伝子)

親	+//	×	+//
	↓		
子	+/+	+//	///
	1	2	1 (分離比)
	生存	生存	致死

アタリ区の親を飼育すると、子の世代ではホモ個体は致死してしまうので、交配に用いる事は出来ない。生存個体には遺伝的に2種類がある。その2種は外見では不明なので、+/+相互の交配、+//+//間の交配、+//相互の交配ができる。目的(アタリ区)の+//相互の交配の確率は 2/3 × 2/3 であるので、次代に9蛾を1蛾育すると、4区ではアタリ区を維持出来る事になる。(解説3)



写真1 石亀蚕(*gap*)
左は背面、右は腹面から撮影

終わりに

九州大学で保存されている致死遺伝子の中には、石亀蚕（*gap*）の他にも、孵化直後に摂食することなく死んでしまう死蟻蚕（*l-nl*、本誌11号参照）、孵化後摂食するものの成長出来ず、斃死する不眠蚕（10数種類）、5齢の後期に健全な状態から突然致死する終齢致死（*l-li*）など、研究者の探究心を喚起するものが多数未解析のまま残されている。

分譲可能なリソースの紹介

●九州大学（代表機関）

NEW！ 2013年度の飼育スケジュール

表を目安に連絡を頂ければ分譲します。時期が合わない場合には中核機関九州大学までご連絡下さい。

時期	孵化日	幼虫時期	蛹時期
1期	5月10日	5月10～30日	5月30～6月9日
2期	6月28日	6月28～7月18日	7月18～28日
3期	8月16日	8月16～9月5日	9月5～15日
4期	10月3日	10月3～23日	10月23～11月2日
5期	11月20日	11月20～12月10日	12月10～20日

リソース情報はSilkwormBaseをご利用下さい。

カイコリソースの総合データベースとして、SilkwormBaseを遺伝学研究所と共同で作成して公表しています。系統の持つ特性情報や遺伝子記号、文献に関する情報が検索できます。

<http://www.shigen.nig.ac.jp/silkwormbase/index.jsp>
SilkwormBaseのご不明な点はいつでもお問い合わせください。

●農業生物資源研究所（分担機関）

ゲノム改変カイコ

新しい遺伝資源を作出して利用を図るために、外来遺伝子をカイコに導入したゲノム改変カイコの収集と保存を行っています。NBRPでは主に遺伝子機能解析のためのGAL4 / UAS系統などのトランスジェニックカイコや新規突然変異系統の収集・評価・保存を実施しています。種々のゲノム改変カイコを保有しており、希望者には必要な手続きの上、分譲が可能です。

〈問い合わせ先〉瀬筒秀樹 hsezutsu@affrc.go.jp

●東京大学（分担機関）

カイコのcDNA34万クローン、同Fosmid15万クローン、エリサンのcDNA2万クローン、クワコのFosmid15万クローンを分譲しています。カイコとエリサンのcDNAについては、以下のウェブサイトですBLASTなどにより検索することができます。

<http://silkbases.ab.a.u-tokyo.ac.jp/nbrp/> ほかに未整理の情報もあるので、不明な点は下記へお問い合わせください。

〈問い合わせ先〉嶋田 透 toru@ss.ab.a.u-tokyo.ac.jp

●信州大学（分担機関）（野蚕関係）

日本に生息するヤマムガ科ガ類を扱っています。ホームページをご覧ください。

URL:<http://rcshigen2.lab.nig.ac.jp/wildmoth/index.jsp>
大量にご希望の場合はご使用予定より1か月以上

前、または私どもが飼育を始める前の4月上旬までにご連絡くださいますようお願い申し上げます。管理、質の向上に一層の努力を重ねたい思いを強くしております。

種名	ステージ	時期	提供
ヤマムガ	卵（休眠状態）	9月～翌年6月	～100粒
	幼虫	6月	～20頭
	蛹	7月～8月	～20頭
サクサン	成虫	8月	～5頭
	卵（非休眠）	4月～8月	～100粒
	幼虫	6月～8月	～20頭
	蛹（休眠）	9月～翌年4月	～20頭
	成虫	4月～8月	～5頭

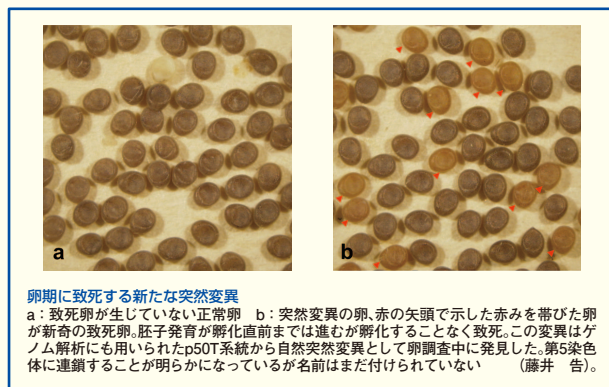
他にオオミズアオ、ウスタビガ、ヒメヤマムユ、シンジュサン、エゾヨツメなどを扱っています。不明な点は下記にお問い合わせ下さい。

〈問い合わせ先〉梶浦善太 zkajiur@shinshu-u.ac.jp

ニュースレター“おかいこさま”について

日本では蚕（かいこ）は国の財政を支える重要な農業生物でした。農家で大切に飼育される蚕は家のお座敷で養われる程で、いつの頃からか、一介の昆虫に過ぎないカイコは「おかいこさま」「お蚕（こ）様」と呼ばれ今日に至っています。カイコは日本人にとって特別な昆虫です。皇居内のご養蚕所では皇后様が毎年、「おかいこさま」を養われているのだそうです。

「おかいこさま」は世界の何処にもない日本独自のバイオリソースです。日本発のライフサイエンス素材からオリジナルな研究を展開する情報誌の名前として用いています。



ニュースレター“おかいこさま”編集・発行

☎812-8581

福岡市東区箱崎6-10-1九州大学大学院農学研究院

遺伝子資源開発研究センター内

ナショナルバイオリソースプロジェクト

「カイコ」課題代表 伴野 豊

TEL 092-624-1011 banno@agr.kyushu-u.ac.jp

