

2013

# ニュースレター “おかいこさま”

No.26

## 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 7 月 31 日発行 第 26 号

<http://www.nbrp.jp/index.jsp>



### カイコの幼虫斑紋変異体の多様性の謎解き

標準的なカイコは白く、第5体節に半月<sup>はんげつ</sup>のような形をした半月紋<sup>はんげつもん</sup>と第8体節に星<sup>せいじょうもん</sup>のような星状紋<sup>せいじょうもん</sup>を持つ。このようなカイコを養蚕のために大量に飼育したため色々な自然突然変異体がカイコでは多数発見されてきた。ここにはその一例として褐円<sup>かっせん</sup>、コブ<sup>くろしま</sup>、黒縞<sup>くろしま</sup>を示した。その中で、褐円とコブを交配すると我々には想像出来ない形質が出現した。今回はこの不思議について特集しました。

## ●カイコ突然変異体が紐解く生物の新規形質獲得のきっかけ

東京大学新領域創成科学研究科 山口淳一

### はじめに

カイコには幼虫の体表紋様に関する自然突然変異体が多く単離されている。7年前に博士課程の学生として藤原研究室（藤原晴彦教授）に入り、カイコの研究を始めるにあたり、NBRPから最初に分譲して頂いたのが、褐円（*L*）<sup>かつえん</sup>・コブ（*K*）という2つの変異体だった。褐円は、通常のカイコには無い派手な幼虫斑紋が複数の体節に渡って出現し、コブは、斑紋がある部分の皮膚がコブ状に隆起する自然突然変異体である。この2つの遺伝形質は、異なる染色体（遺伝子座）にマップされ、共存すると褐円の斑紋全てがコブ状に隆起し、表紙の写真（コブ×褐円）のように、まるで別種の幼虫<sup>くろしま</sup>であるかのような形態を呈し、逆に、別の変異体黒縞（*p<sup>S</sup>*）との交配ではコブは抑制されることが古くから知られていた。当初、先生から頂いた研究テーマの一つが、褐円、コブ、黒縞の原因遺伝子を明らかにすることで、この興味深い現象を解明できないか、というものだった。この現象は未だ完全には解明できていないが、最近になってようやく、褐円の原因遺伝子の同定に成功し（1）、全貌解明に一步近づいた。生物がいかにして新規の適応的な形質を獲得するかを明らかにすることは、この分野の到達目標といっても過言ではない。褐円とコブの交配によって表れる特異な形質の出現する分子基盤を明確にしていくことは、その第一歩であると考え、研究を進めている。ここでは、褐円の原因遺伝子同定から得られた知見と、今後の展望について簡単に紹介したい。

### え！ *Wnt1* 遺伝子が関係？

褐円の研究で、まず興味深かったことは、褐円の原因遺伝子が意外にも<sup>ワイントワン</sup>*Wnt1*であったということである。*Wnt1*は、線虫からヒトに至るまで構造的にも機能的にも広く保存された遺伝子で、*Wnt*シグナル伝達系の主要なリガンド（生物体内で特異的なタンパク質に結合し、生命の調整を果している物質で、ホルモン、抗体等も含まれる）として知られている。受精後の初期胚の体節形成に必須であるため、その発現異常は深刻な形態異常を引き起こす。カイコにおいても胚で*Wnt1*遺伝子をノックダウンする（遺伝子の機能を阻害あるいはその働きを減少させるこ

と）と体節形成に異常が見られ、致死となることが確認されている（2）。ゲノム情報と形質遺伝学解析から褐円の遺伝子座は*Wnt1*がコードされているゲノム領域と一致することがわかった。そこで、次に細胞や組織において、遺伝子が働いている場所を可視化できる*in situ*ハイブリダイゼーション法によって、*Wnt1*遺伝子の真皮細胞（皮膚細胞）における発現場所を追及したところ、褐色の斑紋を発現している部位に一致していることがわかった（図1a）。すなわち、*L*遺伝子は*Wnt1*遺伝子に違いない。

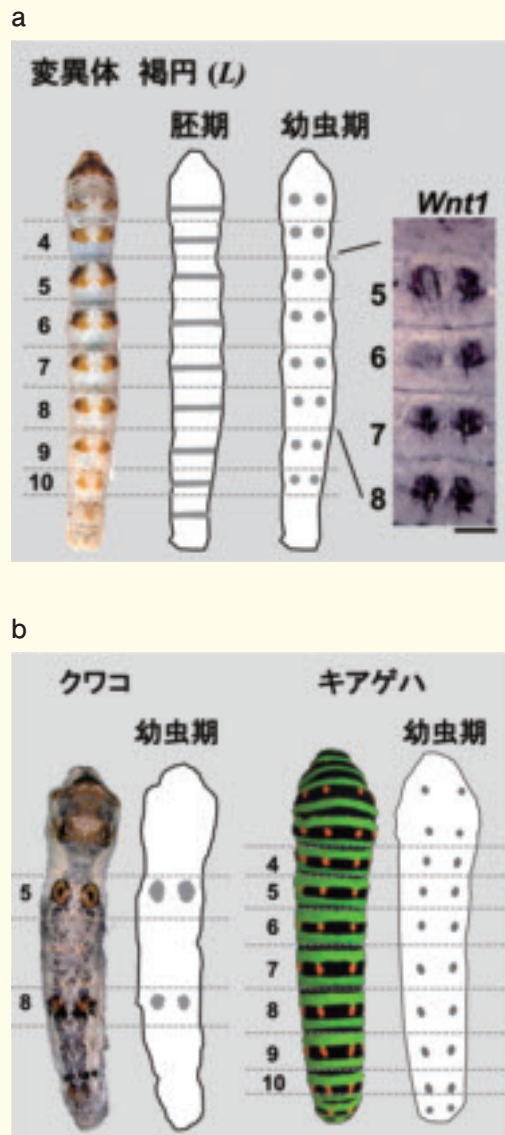


図1 *Wnt1*の空間的な発現パターン。

a. カイコの突然変異体褐円の胚期および幼虫期真皮細胞における*Wnt1*の発現パターンの模式図。挿入図は、褐円における*in situ*ハイブリダイゼーションの結果であり、紫色のシグナルは*Wnt1*が発現している領域を示している。スケール；1mm。  
b. クワコ、キアゲハの幼虫期における真皮細胞での発現パターンの模式図。斑紋が出現する領域に一致して*Wnt1*が強く発現していた。

しかし、この変異体は、ホモ (*L/L*) 個体でさえ、幼虫斑紋以外は見かけ上通常のカイコと区別がつかず、胚で致死になることも無ければ、体節形成に異常が見られることも無い。そこで、組織ごとに *Wnt1* の発現を詳しく調べてみたところ、褐円の個体は、真皮細胞だけで *Wnt1* が異常に高く発現しているが、他の組織では他のカイコと変わらない発現レベルであることがわかった。言い換えれば、自然突然変異によって、真皮細胞特異的に斑紋形成のための *Wnt1* の発現を獲得したように見えるのである。

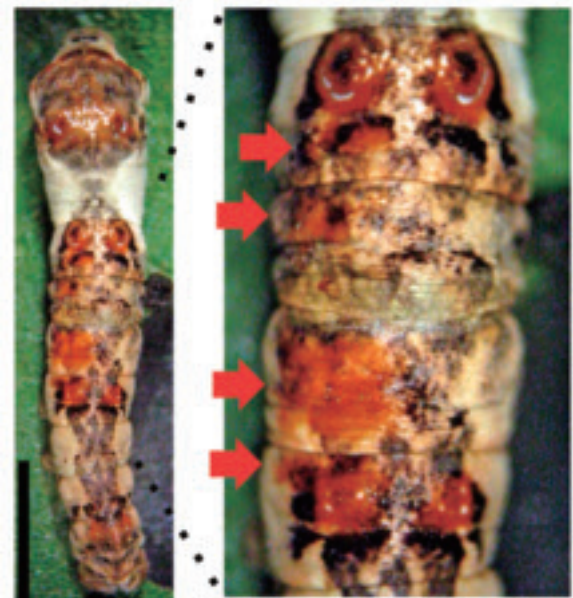
### キアゲハと共通するメカニズムか？

偶然生じた突然変異が、そんなにも都合良く機能するものなのだろうか？ そのメカニズムは以下のように考えると辻褃が合う。カイコの祖先といわれているクワコ(中国、日本等に生息する野外昆虫)は、カイコの標準系統として知られているp50系統と同様に、決まった体節にだけ半月紋や星状紋のような一対の幼虫斑紋をもつ。そこでまず、*Wnt1* には、そもそも幼虫紋様を作り出す役割があり、クワコなどではそれが、特定の体節だけに制限されていると仮定すると、褐円では、その制限が突然変異によって解除されたため、全ての体節に斑紋が出現するようになった、と考えることができる。実際、カイコ・クワコの斑紋部の真皮細胞では *Wnt1* が高発現していることが確かめられ(図1b)、*Wnt1* を異所的に真皮細胞で発現させると、半月紋や星状紋に似たオレンジ色の斑紋が出現することを確認できた(図2)。これらの結果は、上述の仮説を支持するものであり、*Wnt1* の「斑紋を作り出す機能」は、実は今まで見過ごされてきただけで、突然変異体褐円の原因遺伝子の同定から、それが浮き彫りにされたと言える。さらに興味深いことに、カイコやクワコとは系統的に離れているキアゲハの幼虫において、褐円と相同な位置のオレンジの斑紋で同様に *Wnt1* が高いレベルで発現していることが明らかになった(図1b)。

これらの結果を整理すると、私たちが同定した幼虫真皮細胞での新しい *Wnt1* の役割は鱗翅目昆虫で広く保存されている可能性がある。また、その発現は抑制された状態と考えられるので、何かのきっかけで、幼虫紋様が一気に、かつ、大きく変化させるポテンシャルになっている可能性を示したことになった。カイコは飼育種であり、野外では生きていけないと言われている。その突然変異体は、飼育種だからこそ生き延びられた異常な形質と思われがちだが、ここでの褐円のように、「新規形質がどのように出現するか？」を紐解くのに役立つ可能性がある

る。現在、コブの解析は博士課程の学生が引き継ぎ、興味深い結果が出始めている。鱗翅目昆虫の幼虫は極めて多様な外見を持っているが、このような研究からその多様性が生まれるメカニズムに一石を投じる研究になるのではないかと期待している。

- (1) Yamaguchi J, Banno Y, Mita K, Yamamoto K, Ando T, Fujiwara H. (2013) Periodic *Wnt1* expression in response to ecdysteroid generates twin-spot markings on caterpillars. *Nat Commun.*, 4: 1857.
- (2) Yamaguchi J, Mizoguchi T, Fujiwara H. (2011) siRNAs induce efficient RNAi response in *Bombyx mori* embryos. *PLoS One*, 6(9): e25469.



**図2** クワコでの *Wnt1* の強制発現。  
 エレクトロポレーション法という電氣的な刺激により特定の遺伝子を導入する方法を使って、*Wnt1* 遺伝子を発現するプラスミドを、図の左半身の一部(本来斑紋が生じない領域)に導入したところ、オレンジ色の斑紋が出現した(赤矢印)。スケール; 5mm。

### 褐円系統の起源(九大保存ノートから)

褐円は古くから知られた変異体で、1915年当時の京都高等蚕業学校(現京都工芸繊維大学)由来の系統、中国から1917年に導入された2種に始まる。その後、日本の企業で発見され、1967年に信州大学を経て収集された菱の実型(ひしのみがた)褐円、中国西南大学で発見され菱の実型褐円より濃褐色な斑紋を発現する系統が九州大学で維持されている。いずれも複対立遺伝子の関係にあることが遺伝的に判明している。



## 分譲可能なリソースの紹介

### ●九州大学（代表機関）

#### 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](mailto:hsezutsu@affrc.go.jp)

### ●東京大学（分担機関）

カイコのcDNA 34万クローン、同Fosmid 15万クローン、エリサンのcDNA 2万クローン、クワコのFosmid 15万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/> ほかにも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](mailto: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ユ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
ヤマユガ	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、ヒメヤマユガ、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](mailto: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。

**桑苗の確保：**カイコは桑しか食べず、桑が無ければカイコリソースの維持は出来ない。九州大学では現在約3haの桑園に3万本の桑が植えられている。夏は草取り、年間を通じた病害虫対策が必要でカイコリソース管理の守備範囲は広い。



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](mailto:banno@agr.kyushu-u.ac.jp)

