

2014

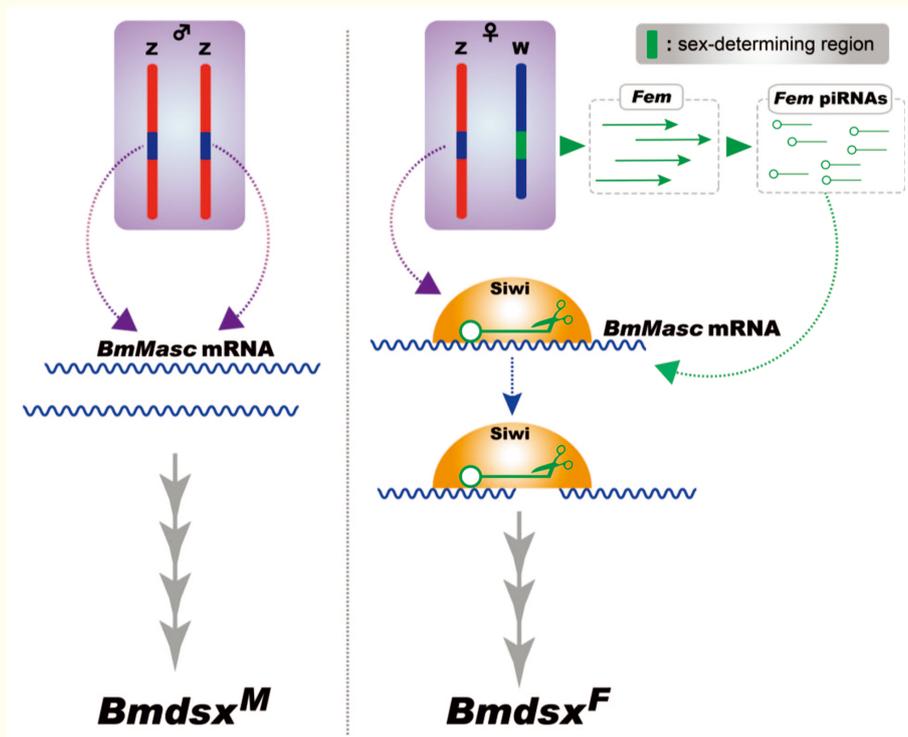
ニュースレター

“おかいこさま”

No.30

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 26 年 11 月 30 日発行 第 30 号
<http://www.nbrp.jp/index.jsp>



カイコの性決定機構

カイコの性染色体構成はZW型でありW染色体の有無で性が決定する。最下流にあるBmdsx^M、Bmdsx^Fはそれぞれ雄型doublesex、雌型doublesex遺伝子である。この遺伝子により雌雄の性分化が進むことは今までに判明していた。しかし、doublesex遺伝子の雄型、雌型を決定する上流の経路が不明であった。最近、その経路にはW染色体から転写されるFem遺伝子に由来する小分子RNAが関与していることが判明した（詳細は本文参照）。

●カイコの性決定機構の謎に迫る

李 允求

東京大学大学院農学生命科学研究科
生産・環境生物学専攻
昆虫遺伝研究室

§1 カイコの性決定に関する研究の歴史

日本では、明治・大正にかけて生糸が重要な輸出品であったため、カイコを用いた遺伝学研究が盛んに行われました。また、養蚕農家の間では、雌のカイコよりも雄の方が繭の生産性が高いことが知られていたため、雄だけのカイコを育てる技術…つまり性を操作する技術の開発は、多くの蚕糸関係者の目標でした。このような背景もあって、カイコの性決定に関する研究は古くから行われてきました。

1933年に橋本春雄博士が「カイコではW染色体を有する個体が雌となる」ことを発見して以降、多くの研究者たちが、性染色体に関する転座系統を用いた実験を行い、性決定に関する研究を進めてきました。その結果、W染色体の特定の領域（性決定領域）が個体の雌化に重要であるということが明らかになり、この領域には、個体の雌化を誘導する遺伝子 *Feminizer* (*Fem*) の存在が予測されました (図1)。

しかし、カイコの性決定に関する研究は、ここで2つの大きな困難に直面します。第1の困難は、カイコの雌では「組換え」が起こらない、という点にありました。従来の遺伝学的研究においては、目的の遺伝子を単離する際、「組換え」という現象を利用し、

その遺伝子が存在していると考えられる染色体上の領域を少しずつ狭めていく…という手法が定石でした (この手法をポジショナルクローニングと呼びます)。ところが、W染色体を持つカイコの雌では組換えが起こらないため、*Fem* 遺伝子存在領域の絞り込みが原理的に不可能だったのです。

第2の困難は、W染色体の配列を決定できないという点にありました。近年になって、阿部広明博士らの研究によって、W染色体はトランスポゾンと呼ばれる反復配列が入れ子状に蓄積した複雑な構造をとっていることが明らかになりました。このことは、W染色体全体の塩基配列を正確に決定することが、現在の技術では非常に困難であることを意味します。ポジショナルクローニング法による *Fem* 遺伝子存在領域の絞り込みもできない、W染色体の配列から *Fem* 遺伝子の存在しそうな領域を予測することもできない、とまさに八方塞がりの状況に陥ってしまったのです。

§2 piRNAの登場

そんな中、2006年になって、我々にとっては福音となる論文が発表されました。PIWI-interacting RNA (piRNA) と称される新しい小分子RNAの存在が、Nature誌において報告されたのです。

piRNAは、PIWIタンパク質と複合体を形成し、精巣や卵巣の生殖細胞系列において、自身と相補的な配列をもつトランスポゾンを切断し、その転移を抑制する機能を担っています。トランスポゾンがゲノム上を活発に動きまわり、重要な遺伝子を破壊してしまうと、その個体は、著しく生存が不利になったり、場合によっては死に至ります。このような事態を防ぐための防御機構を、piRNA (とPIWI) が担っているというわけです。

興味深いことに、PIWIによって切断されたトランスポゾンは、それ自身が新たなpiRNAとなります。このpiRNAは、別のPIWIと結合し、自身と相補的な配列をもつ転写物を切断します。そして、そのPIWI-piRNA複合体に切断された転写物は再びpiRNAとなり、トランスポゾンを切断し…と、このようなサイクルが繰り返され、piRNAが蓄積していくのです。このようなpiRNAの生合成経路を

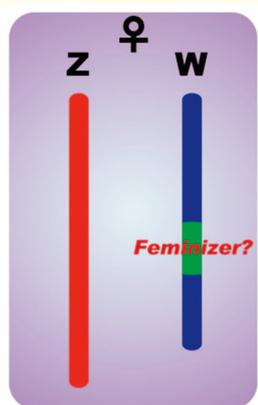


図1. カイコの雌の性染色体構成

ピンポンサイクルと呼びます。

一見すると、性決定とは関係が無いように思える piRNA ですが、2011年になって事態は急転します。カイコの精巣と卵巣で、piRNAの組成を比較したところ、卵巣で多く発現する piRNA が数多く存在しており、しかもそれらの piRNA は、W染色体より産生されているということが明らかになったのです。このことから、我々は、「*Fem* 遺伝子の実体は piRNA なのではないか」という仮説をたて、研究を開始しました。

§3 *Fem*の発見へ

カイコでは、発生初期に雌雄の分化が開始すると考えられています。そのため、*Fem* 遺伝子の実体が何であれ、*Fem* 遺伝子が本当に存在しているならば、発生初期に発現を開始すると予想されます。そこで、我々は、カイコの初期胚で雌雄が分化し始める時間帯（産下後15～24時間）において、RNAシーケンシングを行い、雌雄の初期胚におけるトランスクリプトームを比較しました。

その結果、たった1つの転写産物が雌の初期胚で非常に強く発現していることが明らかになりました。*Fem* 遺伝子の第一候補です。次に、「*Fem* 遺伝子は piRNA なのではないか」という当初の仮説を検討するため、この転写産物の配列に対して初期胚・卵巣から構築した piRNA ライブラリーを参照してみました。その結果、この転写産物はある単一の piRNA を非常に多く産生する piRNA 前駆体であることが、明らかになりました。

更に、この piRNA が性決定に関与することを証明するため、この piRNA の機能を阻害する RNA（インヒビター RNA）を設計し、カイコの初期胚に注射しました。その結果、雌の初期胚では、性分化の指標となるカイコ *doublesex* 遺伝子 (*Bmdsx*) のスプライシングパターンが、雌型から雄型に変化していました。このことから、我々は、この piRNAこそが、長年の謎であった *Fem* 遺伝子の実体であると結論し、W染色体から産生される piRNA 前駆体を *Fem*、*Fem* から産生される piRNA を *Fem*-piRNA と名づけました。

§4 *Fem*のお相手

では、*Fem*-piRNA はどのようにして雌性分化を誘導するのでしょうか？ piRNA としての性質に注目するならば、*Fem*-piRNA も、何がしかの転写産物の相補配列である可能性が高いと考えられます。そこで、*Fem*-piRNA の相補配列と類似度が高い配列をカイコゲノム内で検索したところ、Z染色体上のタンパク質コード遺伝子の配列の一部との間に、非常に高い類似度が認められることがわかりました。

RNA干渉法により、雄の初期胚でこの遺伝子の発現を低下させると、*Fem*-piRNA のインヒビター RNA を初期胚に注射した場合は対照的に、*Bmdsx* のスプライシングパターンは雄型から雌型に変化しました。このことから、この Z染色体上の遺伝子は雄化誘導遺伝子であり、「雌では *Fem*-piRNA が雄化誘導遺伝子の発現を抑制するため、個体の雌化が誘導される」というカイコの性決定機構の一端が明らかになりました。また、この雄化誘導遺伝子は、その機能から *Masculinizer* (*BmMasc*) と名付けられました（表紙図）。

§5 まとめ

本研究では、長年の謎であった *Fem* 遺伝子の実体が、W染色体から産生される piRNA であることを証明し、また、世界ではじめてタンパク質をコードする遺伝子の mRNA と piRNA で構成されるピンポンサイクルを報告しました。

このような性決定機構が鱗翅目で保存されているならば、性決定に関与する因子を標的とした、新しい鱗翅目害虫の防除手法を開発することも可能であると考えられます。

一方、鱗翅目には、エリサン *Samia cynthia ricini* やクスサン *Caligula japonica* などのように、W染色体を持たず、雄 ZZ/雌 Z0 型の性染色体構成を有する種が存在します。これらの種においては、原理的に雌性特異的な piRNA の産生は存在しないと考えられるので、piRNA 以外の因子が性決定の最上流因子である可能性も十分考えられます。これらの種における性決定機構を解明することで、鱗翅目における「性の進化」の道筋を辿れると考えられます。

分譲可能なリソースの紹介

●九州大学（代表機関）

2014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9日	5月9～29日	5月29～6月8日
2期	6月27日	6月27～7月17日	7月17～27日
3期	8月15日	8月15～9月4日	9月4～14日
4期	10月2日	10月2～22日	10月22～11月1日
5期	11月19日	11月19～12月9日	12月10～19日

- ・クワコについては現在ホームページでは記載がありませんが、九州大学より提供していますのでお問い合わせください。卵、日本各地から採種したクワコのDNAサンプルを用意しています。
- ・リソース情報は下記SilkwormBaseをご利用下さい。<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

<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、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

ニューズレター“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。

桑園土壌調査

九州大学では大学移転が進み、農学部も4年後に20キロ程離れた場所に移動します。桑園完成（約2.6 ha）には時間が必要な為、一部を今春移転しました。しかし、新植した桑苗の生長が悪く、その原因を探る為に土壌学教室の先生の協力を得て調査することになりました。土の硬度、透水性、還元土壌等、聞き慣れないタームに苦勞しながら、土作りが基礎であることを勉強しました。4年後にはカイコの飼育できる状況にしたいと思います。（伴野）



ニューズレター“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

