

2017

ニュースレター

# “おかいこさま”

No.39

## 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 29 年 12 月 15 日発行 第 39 号  
<http://www.nbrp.jp/index.jsp>



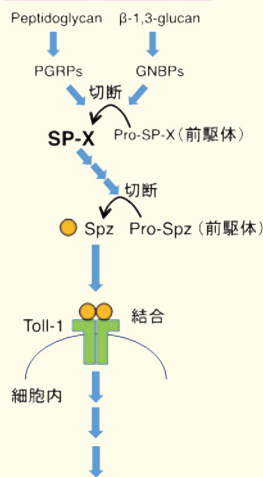
### 虎蚕(とらこ) = 本号の主役

カイコは通常は白色の皮膚であるが、虎の斑紋に類似した黒色の縞模様を持つミュータント。英名はシマウマにも似るので Zebra と名付けられ、遺伝子記号は Ze。



### 自然免疫の経路

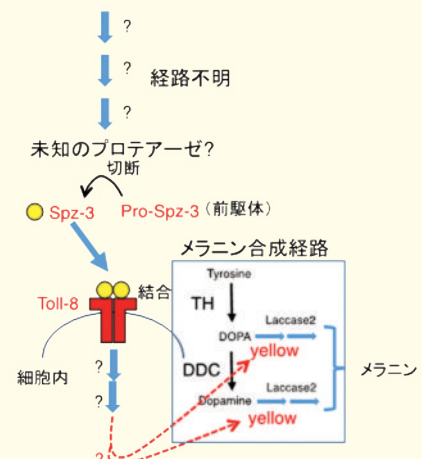
#### 細菌・菌類の感染



抗菌ペプチド(AMP)の発現

### 今回の発見(赤字)

#### 虎蚕の紋様形成



紋様形成部位におけるメラニン形成

ヒトの自然免疫経路とカイコの斑紋形成には共通点が存在?

☞ カイコの虎蚕の原因遺伝子を追究した結果、Spz3という遺伝子が関与することが判明。その遺伝子はヒトでは細菌感染の防御機構に重要な遺伝子であった。詳しくは本文を。

# ついに解明された<sup>トラコ</sup>虎蚕 (Zebra) の原因遺伝子

東京大学大学院新領域創成科学研究科  
藤原晴彦

## [要約]

カイコには多数のミュータントが存在するが、表紙のカイコの変異体は虎蚕（トラコ）と呼ばれる幼虫の変異体である。虎のような斑紋を持つ為の名付けられた。最近、この虎蚕変異体の原因遺伝子が *Spätzle*（シュベツツレ）ファミリー遺伝子の一つ (*Spz3*) であることがわかったのである。*Spätzle* はヒトでは自然免疫を制御する Toll（トル）受容体のリガンドで、Toll の機能を明らかにした Hoffmann 博士らは 2011 年にノーベル医学生理学賞を受賞した。カイコの研究では、*Spz3* のシグナルを Toll8 が受容し、虎模様のメラニン形成が誘導されることが示された。本結果は、自然免疫のシステムが体表のメラニン形成に流用されるようになった可能性をも示唆する。ヒト細胞にも多数の *Spz/Toll* 関連遺伝子が存在する。その一部が皮膚や毛髪のメラニン着色に関与している可能性も考えられる。カイコと、ヒトは思わぬ所で結びついている。

## 〈研究の詳細〉

*p* (姫蚕) 遺伝子座と *Ze* (虎蚕) 遺伝子座の変異系統は、カイコの研究者ならば一度は目にすることがあるだろう。いずれも幼虫時に特徴的な斑紋が見られ、前者では姫蚕、形蚕、黒縞など 10 以上の様々な紋様の変異系統が知られる一方、後者では背側の各体節の前半 4 分の 1 ほどが着色する興味深い紋様が生じる。400 年近く前の中国・明代の産業技術書「天工開物」には、「…蚕の体色には、純白、虎班、純黒、花班などの数種があるが、…」(宋応星著、藪内清訳注、平凡社) と記されている。おそらく、虎班は虎蚕、純白は姫蚕、純黒は黒縞 (*p*<sup>S</sup>) のことではないかと想像する(ちなみに花班は褐円 (*L*) ではないかと筆者は思っている)。また、清代の蚕桑要言(呂広文著)には、「姫蚕、黒縞、竜角」といった蚕品種が記載されている。いずれにしる、*p* も *Ze* も中国の古い時代から受け継がれてきた突然



NBRP 提供系統: p62(p)



NBRP 提供系統: 102(pS)



NBRP 提供系統: g02(L)

変異系統と考えられる。

筆者は、30 年近く前に博士課程を修了した後、この二つの遺伝子座の原因遺伝子を解明することを自らの研究目標に掲げた。警告色や擬態をする昆虫には、様々なスポット紋様やストライプ紋様が見られるが、これらの変異系統はその分子機構を調べる格好のモデルになると考えたのである。当時は分子生物学が隆盛を極めようとしていた時代だったが、今をして思うにこの判断は無謀だった。断片染色体や制限酵素断片多型などを利用して原因遺伝子が単離できるだろうと考えていたが、成果があがらず 10 年ほどで諦めることになったのである。その後 10 年ほど空白の期間があったが、2004 年のカイコのゲノム配列の発表が引き金となり、研究を再開するチャンスを得た。SNP (single nucleotide polymorphism: 一塩基多型) を利用して詳細な連鎖解析ができるようになり、また機能解析法や塩基配列決定法が格段に進歩したからである。

8 年ほど前、当時研究室に在籍した溝口喬之君や山口淳一博士が精力的に連鎖解析をした結果、*Ze* 遺伝子座は第 3 連鎖群の約 63kb 以内の領域までに絞り込むことに成功した。この領域には、3 種類の遺伝子が含まれていたが、いずれも紋様形成への関与が示唆された報告はなかった。そこで、3 種類の遺伝子 (cDNA) の構造を野生型と *Ze* 変異体と比較したが、重要なアミノ酸の変異は見つからなかった。さらに各遺伝子の発現をストライプ領域と紋様のない領域で比較したが、明らかな違いは見つからなかった。原因遺伝子はストライプ紋様の領域でのみ強く発現しているはずだと考えていたので、この結果は予想外だった。研究が再び行き詰まったが、安藤俊哉博士が開発したエレクトロポレーションを利用した機能解析法 (1) により、3 つの候補遺伝子のうち、一つのみが紋様形成に関与していることが示された。それは、Toll シグナル経路のリガンド分子のファミリーの一つで *Spätzle3* (以下 *Spz3*) という遺伝子だった。Toll は自然免疫や胚発生の背腹軸形成に関わっている重要な経路である。フランスの Hoffmann 博士は Toll が自然免疫へ関与していることをショウジョウバエで明らかにし、2001 年にノーベル医学生理学賞を受賞している。その後、多数の Toll 因子とそのリガンドである *Spätzle* 因子が報告されているが、Toll (Toll1) と *Spz* (*Spz1*) 以外で明確に機能がわかっているものは少なく、またスト

ライブ紋様やメラニン形成に直接関わっている因子は報告されていなかった。

*Spz3*のsiRNAをエレクトロポレーション法で*Ze*変異体に導入すると、導入部でストライプ紋様が消失した。さらに、*Spz3*のcDNAを紋様のない領域で強制発現させると導入領域でメラニン形成が観察された。一方、*Ze*と遺伝学的には直接関係のない黒縞において*Spz3*をノックダウンすると、やはりsiRNA導入領域でメラニンの着色が消失した。この結果は、*Spz3*はストライプのパターン形成に関わっているのではなく、メラニン形成過程を制御していることを意味する。他の*Spz*ファミリーがメラニン形成に関わっているかどうかを、カイコで知られている6種類で調べると*Spz2*と*Spz5*で弱い影響が見られたが、*Spz3*ほどではなかった。また、*Spz3*のシグナルはどのToll受容体によって受け取られるのかをsiRNAで調べたところ、カイコの11種類のTollのうちToll8のみでメラニンの着色が消失した。*Spz3*のシグナルはToll8によって受け取られメラニン形成が制御されていると考えられる。興味深いのは、メラニン合成経路のいくつかの酵素のうち、唯一Yellowはストライプ領域で特異的に発現が誘導されていたことである。このことは、Yellowの発現を制御する上位遺伝子はストライプ紋様特異的に発現している可能性を示唆する。

自然免疫では、バクテリアの細胞壁成分などで誘導されたフェノールオキシダーゼがメラニン形成を誘導することが知られていた。一方、*Spz3*とToll8がメラニン形成に直接関与しているという今回の結果は、自然免疫（もしくは胚発生）のシステムが体

表のメラニン形成に流用されるようになった可能性を示唆する。「自然免疫が微生物に対する防御機構、体表のメラニン紋様は捕食者に対する防御システムで、両者は機能としては似ている」というのは少し言い過ぎだろうか？

依田真一博士が中心となって解析を進めた*p*遺伝子座の原因遺伝子も3年ほど前に報告することができた(3)。しかし、実は*Ze*も*p*もゲノム上の変異の実体についてはまだ明らかになっていない。また、*Ze*でストライプパターンが生じるしくみ、*Spz3*や*Toll8*の上流や下流の経路、Yellowの特異的発現パターンを制御する因子など、解かれていない疑問は数多く残されている。

#### 参考文献

- (1) Ando T, Fujiwara H. (2013) Electroporation-mediated somatic transgenesis for rapid functional analysis in insects. *Development*, 140: 454-458.
- (2) Yoda S, Yamaguchi J, Mita K, Yamamoto K, Banno Y, Ando T, Daimon T, Fujiwara H. (2014) The transcription factor Apontic-like controls diverse colouration pattern in caterpillars. *Nat. Commun.*, 5: 4936.
- (3) KonDo Y, Yoda S, Mizoguchi T, Ando T, Yamaguchi J, Yamamoto K, Banno Y, Fujiwara H. (2017) Toll ligand Spätzle3 controls melanization in the stripe pattern formation in caterpillars. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 114: 8336-8341.

### 〈NBRPから分譲リソースを利用する際の謝辞のお願い〉

NBRPから分譲を受けて行なった研究成果の発表、また展示等を行なう場合は下記のような謝辞を明記していただくようお願い致します。記載箇所は、Materials and MethodsあるいはAcknowledgmentsのどちらでも構いません。プロジェクトが末永く続く上で重要となると共に、実験結果の再現性を保証するものとして重要ですので宜しくお願い致します。

#### 〈文例〉

- 1) 本研究で使用したカイコ系統は文部科学省主催のナショナルバイオリソースプロジェクト（カイコ）を活用して行った。
- 2) Silkworm strains used in this study were supported by the National Bio-Resource Project (NBRP) of the MEXT, Japan.
- 3) Materials (silkworms, relating DNA clones or their information) were provided by the National Bio-Resource Project (NBRP) of the Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan.

## 分譲可能なリソースの紹介

### ●九州大学（代表機関）

冬期にもカイコ、桑が入手できます。

九州大学には鹿児島県指宿市に試験地があり、冬期も下記のような予定で桑葉でのカイコ飼育を行っていますので、カイコリソースの利用が可能です。桑のみが必要な方には桑の供給を行っています。

時期	孵化日	幼虫時期	蛹時期
5期	11月15日	11月15～12月5日	12月8～16日
6期	1月11日	1月11～31日	2月3～11日

カイコ並びにクワコのDNAを分譲しています。

突然変異系統（約500系統）並びに、クワコ（北海道から鹿児島まで全国40数地点）のDNAレポジトリを整備しました。飼育が困難、変異体の情報欲しいなどの場合に便利です。個別別に作成していますので遺伝多型を調べる実験にも利用できます。

### ●東京大学（分担機関）

新事業として、培養細胞を分譲しますのでご利用下さい。従来通り、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 15万クローンも分譲を続けます。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。

<http://www.shigen.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、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)

●右の幼虫はi11系統として保存されているリソースである。形質の特性は幼虫皮膚が黒みを帯び、蛹が黒色となること



である。煤蚕（すすこ=sooty、遺伝子記号so）と呼ばれる。ショウジョウバエのebonyのホモログである。この系統の形質評価を行っていた2017年春、これまでには見られなかった特質として気門付近が黒くなる表現型を見出した。致死性も併発しており、新たな変異体である可能性が高いと判断している。

## ニュースレター“おかいこさま”について

蚕は我が国の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、「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」を養われています。

「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](mailto:banno@agr.kyushu-u.ac.jp)

