

2009

ニュースレター “おかいこさま”

No.16

*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 21 年 8 月 15 日発行 第 16 号

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



トランスジェニックカイコ

遺伝子組換えマーカーとして赤色蛍光タンパク質(左)および緑色蛍光タンパク質(右)が眼で発現している(本文参照)。

## ゲノム改変カイコの収集・評価・ 保存

農業生物資源研究所 瀬筒 秀樹

私たちは、ナショナルバイオリソースプロジェクト「カイコ遺伝子資源の収集・高品質化と効率的保存・供給体制の整備」事業のサブ機関として、「ゲノム改変カイコの収集・評価・保存」を行っています。外来遺伝子をカイコに導入することによって「新しい遺伝資源」を作出し、利用を図ることが目的です。農業生物資源研究所では、主に遺伝子機能解析のための GAL4/UAS 系統などのゲノム改変カイコ=トランスジェニックカイコ（遺伝子組換えカイコ）を収集・評価・保存し、代表機関の九州大学においても保存しながら提供を行います。

### トランスジェニックカイコ系統

日本で開発されたカイコの遺伝子組換え技術により、多様なトランスジェニックカイコが作成されつつあります。例えば、遺伝子機能解析や有用物質生産に有用な GAL4/UAS 系（図 1）を利用して、絹糸腺や脳・神経系などの各種の組織で目的遺伝子を発現するカイコや、シルクのフィブロイン遺伝子を改変することによって蛍光色などの新しい性質をもつ糸をつくるカイコや、カイコのキヌレニン酸化酵素遺伝子をマーカーとして用いた系統、昆虫の発育制御に関与する幼若ホルモンを合成・分解する酵素の遺伝子を導入した系統、九州大学で保存されている突然変異体の原因遺伝子を同定するための系統、導入遺伝子の on・off が可能な Tet-Off 系統、トランスポゾンゲノム中に転移させた新規突然変異系統（エンハンサートラップ系統（図 2）およびジーントラップ系統）などが開発されつつあります。

海外では、中国で最近トランスジェニックカイコを用いた研究が進みつつあります。その他では、チェコ、アメリカ、韓国、インドで開発中です。フランスでは、残念なことにリヨンのカイコ研究機関が今年閉鎖される予定です。トランスジェニックカイコの開発と利用はまだ日本がリードしています。

### バイナリ発現系 (GAL4/UAS系)

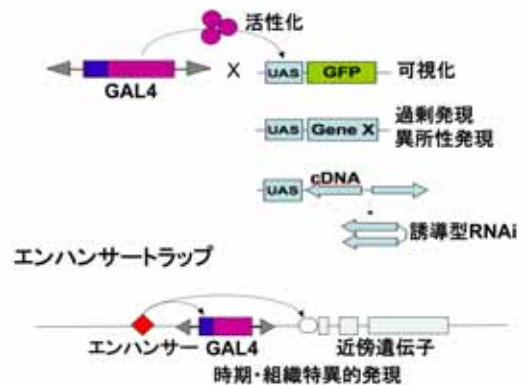


図1. GAL4/UAS 系とエンハンサートラップ法

### データベース

エンハンサートラップ系統などの情報（発現部位、画像、ゲノム挿入位置）をまとめた Bombyx Trap DataBase (<http://sgp.dna.affrc.go.jp/ETDB/>)（図 3）を構築中です。今後、新たなエンハンサートラップ系統およびジーントラップ系統や、他の GAL4 系統の情報なども公開していく予定です。

### 分譲方法

遺伝子組換え生物なので通常のカイコとは少し異なる手続きが必要です。MTA (Material Transfer Agreement) などの書類の手続きのほか、受け入れ側においても組換え実験や組換え体搬入の手続きが必要となります。詳しくはメールにてお問い合わせ下さい ([bombyx-trap@nias.affrc.go.jp](mailto:bombyx-trap@nias.affrc.go.jp))。また、農業生物資源研究所では、オープンラボの一環としてトランスジェニックカイコ作出の協力も行っています。

### 今後

様々な GAL4 系統は、例えば中腸で強く GAL4 を発現する系統は突然変異体においてレスキュー実験（正常型遺伝子を強制発現させる）に使われていますし、GFP で組織観察しやすいため発生・神経研究や学生実習などにも適しています。今後も、有用なトランスジェニックカイコ系統が多数作出されるでしょう。とくに数千のエンハンサートラップ系統などが作られる予定ですが、系統保存できる数には限りがあります。そこで凍結した精子や卵巣を利用してリソースを維持する技術の実用化も必要です。

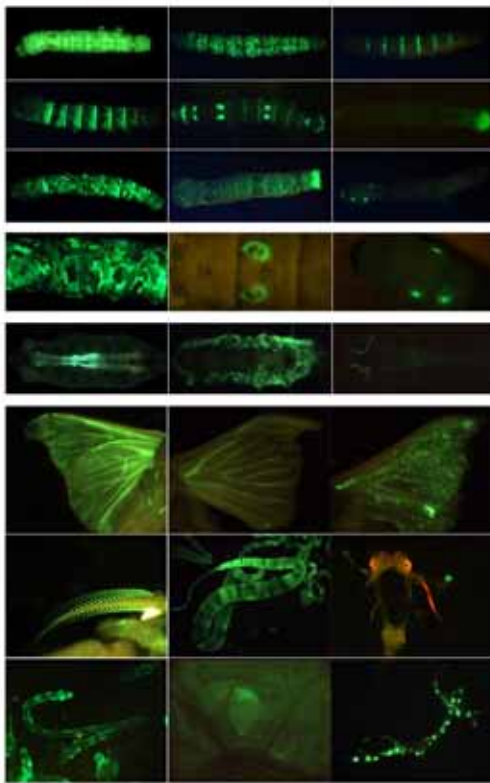


図2 . 様々なエンハンサートラップ系統



図3 . データベース (Bombyx Trap DataBase)

## 系統保存事業から

### 系統保存事業は病気との戦い 2009年春、セラチア菌が猛威をふるう

バイオリソース事業においては、対象生物に病気が発生しないように様々な対策を講じている。カイコの場合は、飼育前の蚕室のホルマリン消毒や、餌となる桑も農薬、病原菌の少ない良質なものを与えること等を日常的に心がけている。ところが、病気発生は完全には防げないのが実情である。私もこれまでに何度となく病蚕被害を経験してきた。しかし、病気が発生しても1系統のカイコが全部病死するというのではなく、大被害であっても10頭程度は生き残り、次世代を残してきた。ところが、今春は細菌病であるセラチア菌の未曾有の大発生で8系統が全死する危機に見舞われた（50年近く飼育経験があるOBも初めてという）。系統維持のバックアップとしては、予備にとってある卵を冷蔵庫から出して、再度継代のための飼育を行う。しかし、ここで大きな問題がある。予備にとってあるカイコの卵は直ちに孵化させなければならない。何故なら、カイコは卵で長期保存するが1年間が限度であり、通常、その1年を目処に継代飼育を行っている。今回もそうであったので、なるべく早く時期の飼育を行いたい。一方、細菌のような病原菌は飼育室から直ちに無くすことはできないので、病気発生後の飼育時期はなるべく遅らせた。今回は、危機を逃れるために福岡市から離れた鹿児島県指宿市にある九大の遠隔地施設を用いることにした。スタッフには長期出張と細菌病の脅威でストレスをかけることになったが、何とか5系統の復活には成功したが卵の孵化が悪かった3系統は絶種となってしまった。

### 遠隔地試験地と複数のバックアップ体制整備の必要性

今回のような事故を防ぐためにはカイコの長期保存によるバックアップ体制の確立が必要である。現在、本事業で卵巣、精子の凍結保存によるバックアップ体制の確立をはかっている。卵巣について良好な結果が出つつあるが、精子に関しては凍結耐性の弱い系統が大半であり、技術改良に取り組んでいる。バックアップ体制は複数の手段を持つことが理想である。NBRPカイコでは卵を1箇所保存してきたが危険分散の為に複数の箇所保存する。病気発生時の回避策として今回用いた遠隔地試験地の確保などを講じる等の対策が今回の教訓から浮かび上がってきた。

## 分譲可能なリソースの紹介

### 九州大学（中核機関）

#### 2009年度の飼育スケジュール

表を目安に分譲を頂ければ無償で分譲します。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8日	5月8~28日	5月28~6月8日
2期	6月26日	6月26~7月16日	7月16~26日
3期	8月21日	8月21~9月10日	9月10~20日
4期	10月9日	10月9~29日	10月29~11月8日
5期	11月27日	11月27~12月17日	12月17~27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>

### 農業生物資源研究所（サブ機関）

#### ゲノム改変カイコ

他生物の遺伝子を導入する事により、新たな遺伝資源の作出と利用を図る目的で収集を行っています。GAL4-UASシステムを用い、GEPを用いた蛍光カルシウムセンサーであるG-CaMPを体内に発現するカイコの収集を行っています。種々のゲノム改変カイコを保有しているので希望者には必要な手続きの上、分譲が可能となっています。

<問い合わせ先> 瀬筒秀樹 [hsezutsu@affrc.go.jp](mailto:hsezutsu@affrc.go.jp)

### 東京大学（サブ機関）

カイコのBACクローン、fosmidクローン、cDNAクローン、クワコのfosmidクローン、およびエリサンのcDNA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はBLASTなどにより検索することができます。

<http://morus.ab.a.u-tokyo.ac.jp/> 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（サブ機関）（野蚕関係）

1回当たりの分譲数を増強しています。

下記の野蚕の分譲を行っています。今年度から1回あたりに提供する数量を増やすことにしました。卵100粒以上、幼虫・蛹・成虫のいずれか20頭以上をご希望の場合は予めご相談ください。これらの場合は準備の都合上ご利用予定の1か月前以上前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。お

問い合わせは下記までお願いします。

<問い合わせ先> 梶浦善太 [zkajiur@shinshu-u.ac.jp](mailto:zkajiur@shinshu-u.ac.jp)

種名	ステージ	時期	提供
ヤマムユガ	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	~20頭
	卵(非休眠)	4月~8月	~100粒
	幼虫	6月~8月	~20頭
エリサン	蛹(休眠)	9月~翌年 4月	~20頭
	成虫	4月~8月	~20頭
	卵(非休眠)	隔月	~100粒
エリサン	幼虫	隔月	~20頭
	蛹(非休眠)	隔月	~20頭
	成虫	隔月	~20頭

卵は微粒子病検査済みです。



**病蚕** セラチア菌が体内で繁殖し、斃死したカイコ成虫。環節、翅脈がセラチア菌で赤く染まっている。本文参照。

### 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」中核機関代表 伴野 豊

TEL 092-624-1011 [banno@agr.kyushu-u.ac.jp](mailto:banno@agr.kyushu-u.ac.jp)

