

2005

ニュースレター “おかいこさま”

No.4

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17年7月1日発行 第4号

<http://kaiko.kyushu-u.ac.jp/index.html>

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



限性黒色マダラ系統

黒色マダラ蚕はすべて雌。白い姫蚕は主に雄で、そのおよそ半数の個体が雌。

●私の研究メモ

行動に関する遺伝子の探索と断片染色体を持つ系統

蜷木 理



NBRPにおいてカイコ行動突然変異の探索と染色体転座系統の育成を担当しています。今回はそれらに関する研究の一端を紹介致します。

1. カイコ孵化直後幼虫の暗中拡散行動を支配する遺伝子

水の中にそっとインクを落とすと始めははっきり見えています。しばらくするとその色は薄くなり、その後インクは水全体に広がっていきます。この現象を拡散といいます。生物にもそれが生じた場所から生息域を広げていく現象があり、イギリスのフィッシャー (R.A.Fisher 1890-1962) は物理学の拡散方程式を応用した、ランダムな拡散過程のモデルを発表しました。この式は時間と個体密度との関数で、唯一のパラメーターとして拡散係数 (D) が設定されました。すなわち、集団にはそれぞれ独自の拡散係数があるということになります。

カイコの孵化したばかりの幼虫 (蠶蚕) を暗黒の状態に放置すると方向性なしに広がっていきます。この暗中拡散行動は品種や系統によって異なることが知られていましたが、拡散係数を調べてみますとカイコを飼育する時期や卵の保存状態によっても差異があり、拡散係数がいつも一定というわけにはいきません。長期に渡る調査の結果、何時の時期でも相対的に活発な系統あるいは不活発な系統が存在することが明らかとなりましたので、遺伝解析のために拡散行動がいつも活発な系統 (D1) と確実に不活発な系統 (D2) を選抜育成しました。

もし、拡散係数が大きく異なる二つの集団 ($D1 \gg D2$) が混在した場合、一定時間後に原点から十分離れた場所に存在する個体は大きい方の拡散係数 (D1) を持つ個体だけになるはずですが、新たに育成した2系統の孵化直後幼虫は互いに見分がつきませんが、しばらく飼育すると幼虫の皮膚の形質によっていずれの系統の個体かを判別できます。実際に、図1に示す調査用紙の中心にD1とD2とを混合した集団を置き15分間暗中で拡散させた後、中心から50mm以上離れた場所に存在した蠶蚕を集めて飼育した結果、すべて行動の活発なD1個体であることが確認できました。

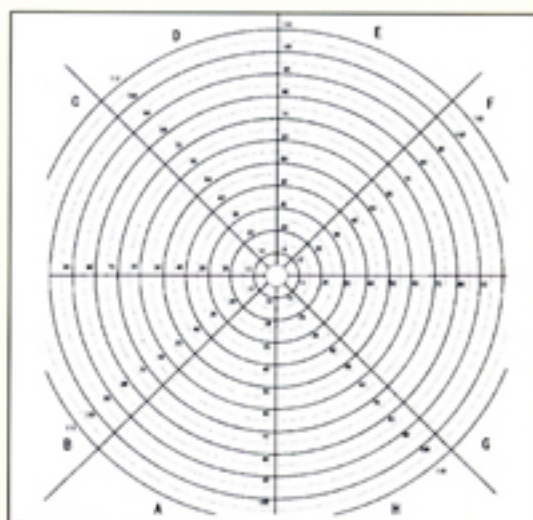


図1 蠶蚕の拡散行動調査用紙

また、D1とD2との交雑 F_1 において、活発な行動が劣性的に発現することも判りました。したがって、D1とD2との交雑 BF_1 における拡散行動分離モデルにより蠶蚕の暗中拡散行動を支配する遺伝子の解析は可能であると判断し、連鎖分析を試みました。その方法は、D1×D2の雌にD1の雄を戻し交雑した BF_1 区の蠶蚕を暗中で拡散させ、中心から十分離れた場所に存在していた幼虫を集めて飼育し、幼虫のゲノムDNAのサザンブロットハイブリダイゼーションでのRFLP (制限酵素断片長多型) により連鎖関係を明らかにするものです。標識遺伝子 (DNA) は、独立行政法人農業生物資源研究所の原和二郎博士がカイコの交雑 BF_1 における連鎖関係と3点実験の繰り返しにより構築したcDNAリンケージマップに記載されているものを用いました。カイコでは雌で組み換えが起こらず完全連鎖となりますので、地図上のどのマーカーを用いても連鎖関係が確実に判定できます。連鎖分析の結果、カイコ孵化直後幼虫の暗中拡散行動に関与する遺伝子は原らの地図の第21連鎖群に所属することが判明しました。現在は、組み換えが生ずるD1♀×(D1×D2)♂の交雑による3点実験で地図上の座位を決定するとともに、老熟幼虫 (熟蚕) の行動にも本遺伝子関与する可能性を追求しています。

2. 断片染色体を持つ系統

1938年田島弥太郎博士は、X線の照射によって雌を決定するW染色体に優性の斑紋遺伝子を持つ第2染色体断片を附着させた限性セーブル系統を作出しました。この系統からは転座染色体の斑紋遺伝子が突然変異した種々の個体が出現し、その一つとして限性黒色蚕が固定されました (図2)。

この限性黒色蚕系統の中にはごく少数の白黒モザイク個体が出現していたので、これらを選抜して限性黒色マダ



図2 限性黒色蚕：黒いカイコはすべて雌、白いカイコ（姫蚕）は雄

ラ系統（表紙の写真）を育成しました。新たに育成した限性黒色マダラ系統では雌個体の約半数が黒色マダラとなり、姫蚕の雌も多数出現しました。この現象は転座第2染色体がW染色体から脱落した結果だと考えられます。もしそうなら、脱落した染色体断片は他の染色体に再付着することはないのだろうかと考え、たくさんの個体を飼育して雄でマダラ紋様を呈する個体を探してみました。これまでのマダラ個体に比べ黒色の斑点が小さくなっていました。

図3に示したものが、ようやく見つけた雄でマダラの個体から固定した系統です。これまでのマダラ個体カイコには限性系統のほかにも過剰な染色体を持つ系統がたくさんあります。

これまで約30年にわたって、第2染色体を中心に過剰



図3 非限性マダラ系統：マダラ個体の雌雄比はほぼ1：1

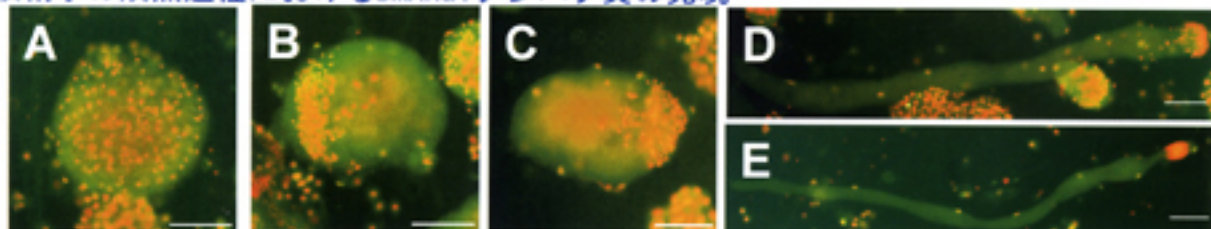
染色体を持っていると思われる系統を集め、それぞれを研究材料として利用できるような改良を加えてきました。NBRPニュースレターNo.2の藤原先生のまだら黒縞やまだら虎蚕もその一つです。現在、DNA標識を用いて過剰染色体のどこからどこまでが有って、どこから無いのかを調べています。ここで使っている標識も原博士が樹立したcDNAリンケージのもので、これらの標識遺伝子は、2点間の組換え価によって地図に配置されたものではなく、カイコの雌で組み換えが起こらないことを利用してグルーピングし、さらに、3点実験の繰り返しにより作成されたものですので並び順はきわめて正確です。今後これらの研究から、カイコ染色体のそれぞれの領域が持つ役割が明らかとなっていくことを期待しています。

(所属:東京農工大学農学部)

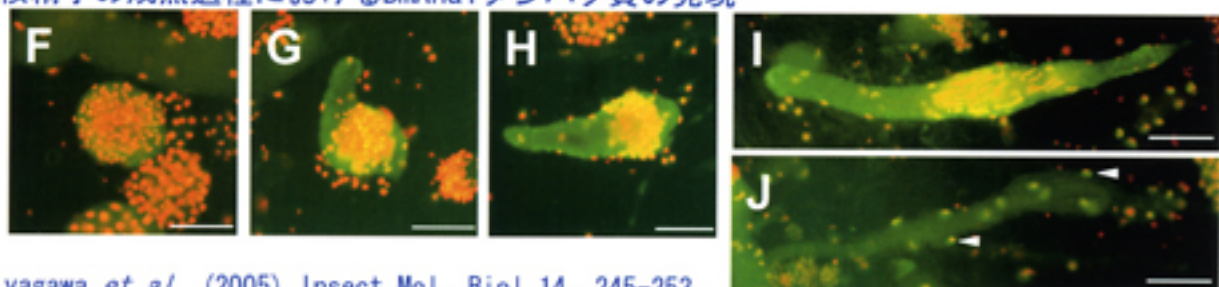
●研究ノート

カイコAha1は2種の精子の成熟過程において異なる発現パターンを示す (抗Aha1抗体(緑)による免疫染色:赤はPIによる核染色)

有核精子の成熟過程におけるBmAha1タンパク質の発現



無核精子の成熟過程におけるBmAha1タンパク質の発現



Miyagawa *et al.*, (2005) *Insect Mol. Biol.* 14, 245-253.

九州大学大学院農学研究院遺伝育種学講座蚕学分野 河口豊・日下部宜宏・李在萬・宮川世志幸 (2005)

分譲可能なリソースの紹介

● New! 新データベース“SilkwormBase”が誕生

<http://www.shigen.nig.ac.jp/silkwormbase/index.jsp>

SilkwormBaseはカイコリソースの総合データベースです。

(1) 系統情報 (2) 変異体遺伝子情報 (3) 文献情報 (遺伝子名、発見由来、遺伝様式) (4) 分譲依頼情報 (5) 関連リンクサイト集などからなり、検索システムも実現しています。本データベースはナショナルバイオリソース-カイコの中核機関(九州大学大学院農学研究院)とナショナルバイオリソース事業の情報中核機関(国立遺伝学研究所)が共同で開発しています。

●九州大学(中核機関)関係

年間分譲しています。

カイコの系統分譲は春に限定される場合が普通でしたが、本事業では採種とその管理システムを構築し、年間を通しての提供を行っています。また、3月中旬から12月までは桑葉の供給も可能ですのでご連絡下さい。

日本各地のクワコDNAを分譲しています。

全国から採集したクワコのDNAを分譲しています。

卵・幼虫・蛹・成虫・DNAでの分譲が可能です。

中核機関では卵以外のステージでも分譲が可能です。2005年は下記の前定で5回の飼育を行います。この機関は種々のステージでのカイコの分譲が可能です。掃立日とは幼虫が孵化した日です。約15日で最終齢の5齢になります。下記の日程を参考に分譲希望を出して頂ければ結構ですが、緊急の場合もお問い合わせください。

<問い合わせ先> 伴野 豊 banno@agr.kyushu-u.ac.jp

Tel&Fax 092-624-1011 Tel 092-621-4991

2005年度 カイコ飼育スケジュール(九州大学)

時期	掃立日	5 齢期	蛹時期
1期	5月6日	5月22-26日	5月26-6月4日
2期	6月24日	7月9-14日	7月14-24日
3期	8月12日	8月27-9月2日	9月2-12日
4期	9月30日	10月14-19日	10月19-29日
5期	11月18日	12月3-9日	12月9-19日

●農業生物資源研究所(サブ機関)関係

cDNAライブラリー

様々な組織および異なる発生段階の組織から44種類のcDNAライブラリーを作成し、51,928クローンを収集している(ESTを決定している)。このうち35,200ESTはインターネットで公開

している(<http://www.ab.a.u-tokyo.ac.jp/silkbase/>)。収集クローンはプラスミドDNA溶液にて希望者へ送付しています。

BACライブラリー

3つの異なるBACライブラリーを保存している。

以上の分譲に関しましては農業生物資源研究所三田和英までお願いします。メールアドレス knita@nias.affrc.go.jp

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る。GALA-UASシステムを用い、GFPを用いた蛍光カルシウムセンサーであるG-CaMPを生体内に発現するカイコを作出している。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る。

ゲノム改変カイコに関しましては農業生物資源研究所田村俊樹までお願いします。

メールアドレス ttamura@nias.affrc.go.jp



<クワコで見つかった自然突然変異>

カイコの祖先種候補の筆頭であるクワコは体色が黒い、行動が活発などのカイコと異なる特徴を持ちますが、カイコと多くの共通した形質を持っています。写真のクワコは幼虫の第6体節に過剰な斑紋を持つクワコの突然変異体です。野外のクワコ遺伝子資源の探索中に発見しました。(伴野 豊)

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 藤井 博

TEL 092-621-4991 fujii@agr.kyushu-u.ac.jp