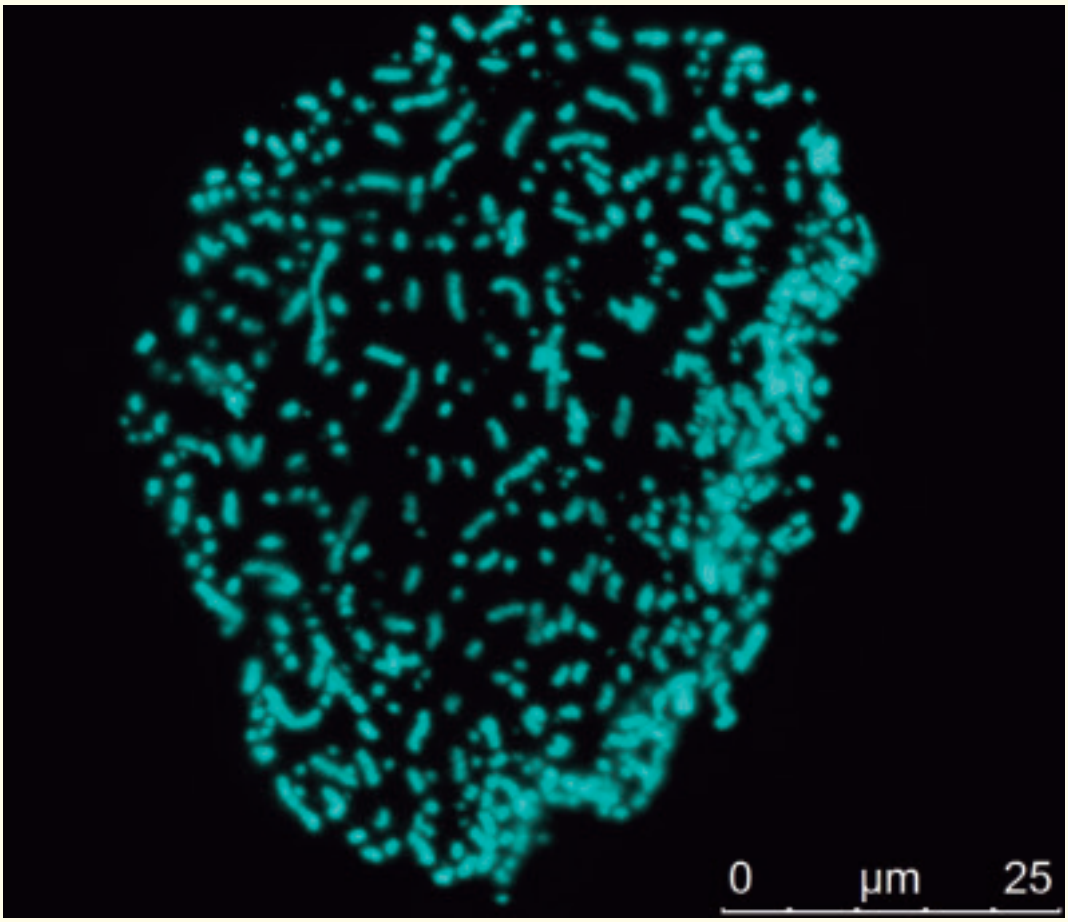
NBRP カイコ ニュースレター

おかいこさま

No.58

National Bio-Resource 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
令和7年7月22日発行
https://www.nbrp.jp/



BmN-4株（東京大学株）の染色体像

大小多様な染色体像が観察される

撮影：藤本　章晃

九州大学　家蚕遺伝子開発分野
藤本章晃

[R6年度NBRP基盤技術整備プロジェクト採択課題]
「カイコ4倍体系統の性染色体構成判定技術の整備と保存・提供業務への実装」の成果報告

本課題では、おかいこさま53号および56号で紹介した4倍体系統H14（廣川博士より寄託）を対象に、**(1) 飼育による形質特性、雌雄比、3倍体の妊性調査、(2) BAC-FISH解析による性染色体構成判定技術の整備、(3) 定量リアルタイムPCR（Q-PCR）を利用した性染色体構成の簡便な判定方法の整備**を行ったため、その成果についてご報告致します。

(1) 飼育による形質特性、雌雄比、3倍体の妊性調査

2倍体のカイコの性染色体構成は雌ZW雄ZZで、W染色体の存在によって雌性が決定されます。H14系統のW染色体には優性の形質突然変異であるp^{Sa}（幼虫の皮膚が褐色化する）を含む第2染色体断片が転座しているため、幼虫の皮膚の色を観察することで容易に雌雄鑑別が可能です。H14系統を複数の蚕期で飼育し、5齢期におけるH14系統の雌雄比は約1対1であることを確認しました。しかし、炭酸処理により作出されるZZWW型4倍体雌の次代では雌よりも雄の割合が顕著に低くなります。H14系統の4倍体雌の次代で雌雄比が約1対1になるのは、H14系統の4倍体雌がW染色体を一本しか持たないことに起因します（次項参照）。さらに、H14系統と2倍体系統とのF_1世代の形質を調査したところ、雌雄ともに不妊であり、雄の有核精子束が正常に形成されないなどの、典型的な3倍体の特徴を有していることを確認しました。一方で、3倍体雄の無核精子に関しては、人工授精の助精剤として利用できるのかを検証し、その結果をCryopreservation Conference 2024にて発表しました（おかいこさま56号図4参照）。H14だけでなく他の寄託系統（おかいこさま53号参照）についても分譲を開始しております。新規リソースもぜひご活用ください。

(2) BAC-FISH解析による性染色体構成判定技術の整備

H14系統雌雄の幼虫から染色体標本を作製し、染色体数および性染色体数（ZおよびW）をBAC-FISHで判定する技術を整備しました。BACプローブはSahara et al 2003およびYoshido et al 2005に従って、Z染色体対応BACs（9A5H・14I7D）、W染色体対応BAC（19L6H）、テロメリックリピート配列をプローブとしたFISHを行いました。パキテン期および有糸分裂像の観察から染色体数の倍化が確認されました。さらに、判定した雌雄すべての性染色体構成はZZW（雌）とZZZ（雄）であり、DNA-SeqによるZ/A比の解析結果とも一致しました（おかいこさま56号図3参照）。

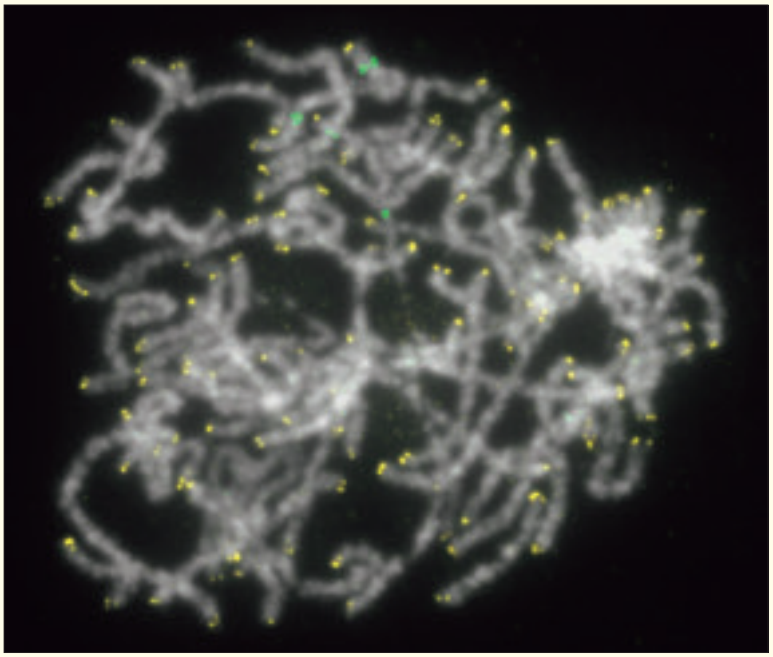


図1：BAC-FISHによるH14雄性染色体構成の判定
H14雄のパキテン期染色体標本に対し、テロメアプローブを黄、Z由来BAC（14I7H、9A5H）プローブを緑で標識した。黄および緑のシグナルから二価染色体および一価染色体のZ染色体を確認したため、H14雄の性染色体構成はZZZだと判定した。

(3) 定量リアルタイムPCR（Q-PCR）を利用した性染色体構成の簡便な判定方法の整備

H14系統の性染色体構成は雄ZZZ、雌ZZWと推測されたため、ZZの雄とZZZWの雌は発育の過程で淘汰されていると推定されました。そこで、5齢期だけでなく、胚子期などにおいても性染色体構成の判定を可能にするため、TaqManプローブを使用したQ-PCRで性染色体構成を判定する技術を整備しました。本手法では、3セットのTaqManプローブとプライマーを利用して（表1）、ゲノミックDNAを対象としたQuantification－Comparative Ct（ΔΔCt）法によるQ-PCRを行い、常染体の数に対するZ染色体の数の相対値を算出することで、性染色体構成の判定が可能です。

表1：Q-PCRに使用したprobeおよびプライマー配列情報

解析遺伝子名（染色体位置）	蛍光色素	probe塩基配列	塩基配列
Bm_hsp90 (Chr.27-8.74 Mb)	VIC	TGCAGGAGGCTCGTT	Forward: 5'-CGAGCAATACGTGTGGGAATC-3'
			Reverse: 5'-GCTGTCTGGGCGGACTGT-3'
Bm_or1 (Chr.1-11.89 Mb)	FAM	TTCCTACGAAGGACACAGAA	Forward: 5'-TTGGGAATGTATGGATGTGAAGAA-3'
			Reverse: 5'-CGAGCATACCCATTGCTTTGA-3'
Bm_or3 (Chr.1-20.59 Mb)	FAM	AACGTGCAGGAGCC	Forward: 5'-GAGTACATGGACACGAGCAACAG-3'
			Reverse: 5'-CATCGACTGCACGCCTACTTT-3'

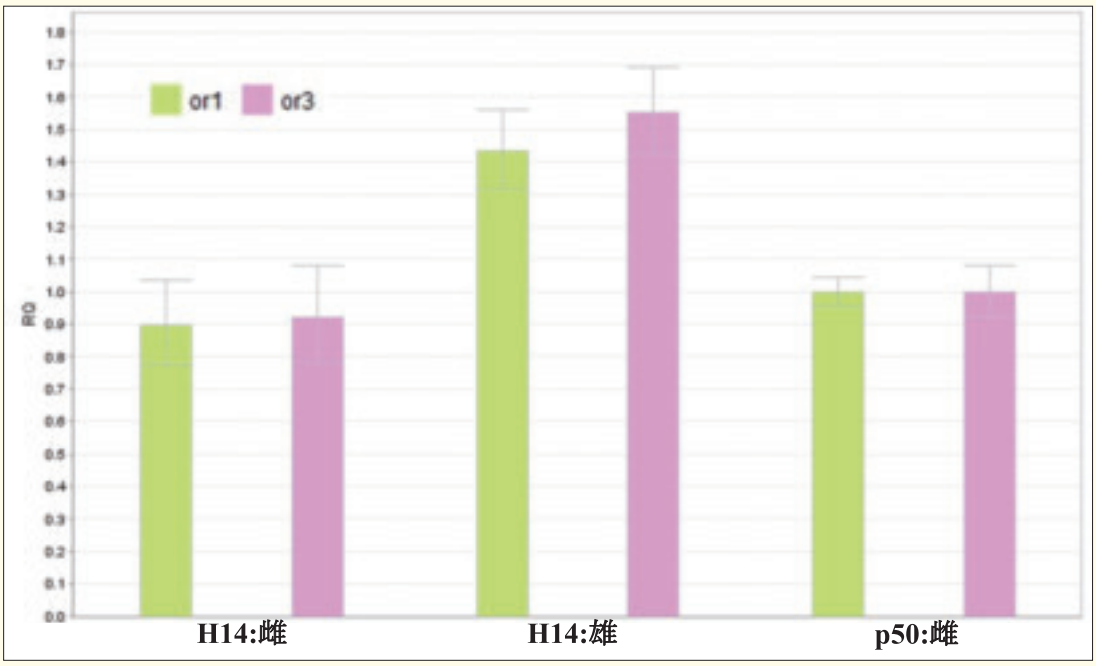


図2：TaqManプローブを使用したH14雌雄のQ-PCR結果
Bm_hsp90を内部標準にし、Bm_or1およびBm_or3で得られる蛍光強度に基づいて、Z染色体の数の相対値を調査した。p50雌を1とすると、H14雌は1に、H14雄は1.5に近似したため、各個体の性染色体構成はp50雌ZW、H14雌ZZW、H14雄ZZZと判定された。

参考文献

廣川昌彦，1995．家蚕における性の制御に関する研究．福島蚕試研報告，28，1-104.

Sahara et al., 2003. W-derived BAC probes as a new tool for identification of the W chromosome and its aberrations in *Bombyx mori*. Chromosoma, 112, 48-55.

Yoshiado et al., 2005. The *Bombyx mori* karyotype and the assignment of linkage groups. Genetics, 170(2), 675-685.

小島桂，2021．リアルタイムPCR法による遺伝子組換えカイコの挿入遺伝子数検証法について．日本シルク学会誌，29，59-65.

分譲可能なリソースの紹介

●九州大学（代表機関）

2025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日～31日	6月1日～9日
2期	6月27日	6月27日～7月19日	7月20日～28日
3期	8月15日	8月15日～9月6日	9月7日～15日
4期	10月3日	10月3日～25日	10月26日～11月3日
5期	11月21日	11月21日～12月13日	12月14日～22日
6期	1月13日	1月13日～2月4日	2月5日～13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レポジトリーを整備しました。飼育が困難、変異体の情報が欲しいなどの場合に便利です。個体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。

●信州大学（分担機関）（野蚕関係）

日本のヤママユガ科ガ類を保存しています。ホームページをご覧ください。

https://www.shigen.nig.ac.jp/wildmoth/index.jsp

管理、質の向上に一層の努力を重ねていきます。

種　名	ステージ	時期	提供
ヤママユガ	卵（休眠）	9月～翌年6月	～100粒
	幼虫	6月～9月	～50頭
	蛹	7月～10月	～50頭
	成虫	8月～10月	～10頭
サクサン	卵（非休眠）	4月～8月	～100粒
	幼虫	6月～9月	～50頭
	蛹（休眠）	9月～翌年5月	～50頭
	成虫	5月～10月	～10頭
エリサン	卵（非休眠）	通年	～1000粒
	幼虫	通年	～100頭
	蛹（休眠）	通年	～100頭
	成虫	通年	～10頭

他にウスタビガ、オオミズアオ、オナガミズアオ、ヒメヤママユ、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せ下さい。

〈問い合わせ先〉　梶浦善太 zkajiur★shinshu-u.ac.jp

★を@に置きかえて送信ください。

表紙の写真について（培養細胞株の染色体像）

NBRPカイコでは2023年度から培養細胞株の分譲を開始しました。カイコの培養細胞のゲノムは高度に倍数化していることが推定されていますが、詳細な検証が行われていません。そこで、BmN-4株（東京大学株）において、染色体の観察を行いました。その結果、染色体の数は、2倍体のカイコで観察される56本をはるかに超えていること、断片化したような小さな染色体が存在することが確認されました。今後は、他の培養細胞株についても染色体の観察を行い、ゲノムの倍数化の有無を確認予定です。

桑の害虫

桑を摂食するチョウ目昆虫は少ないですが、本年度、オカモトトゲエダシャクと推定される幼虫が伊都キャンパスの桑で観察されました。

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な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

〒819-0395
福岡市西区元岡744　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　藤井　告
TEL 092-802-4821
fujii.tsuguru.233★m.kyushu-u.ac.jp
藤本　章晃
fujimoto.toshiaki.252★m.kyushu-u.ac.jp
★を@に置きかえて送信ください。