

2006

ニュースレター “おかいこさま”

No.6

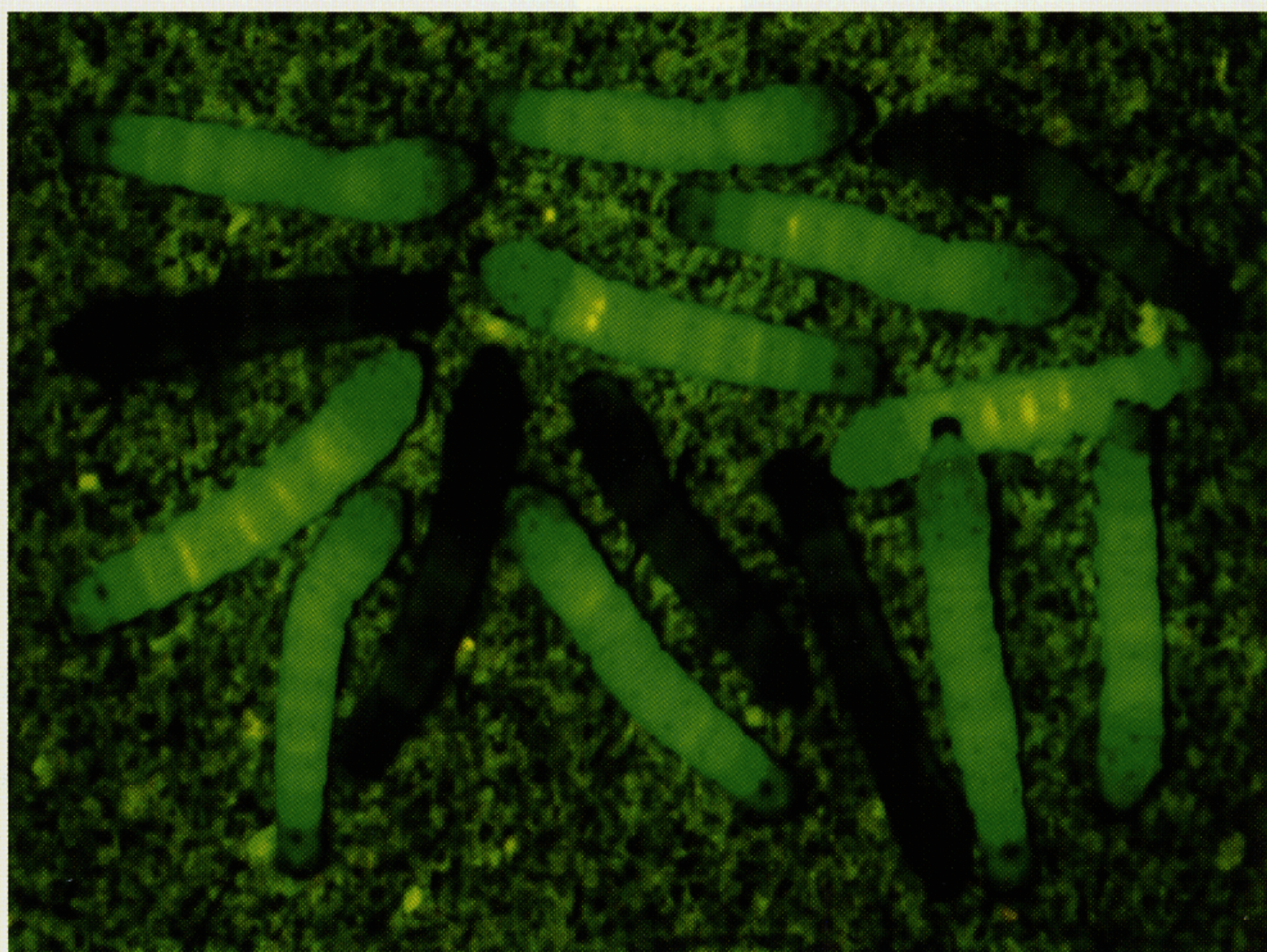
National Bio-Resources Project "Silkworm"

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18年3月1日発行 第6号

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

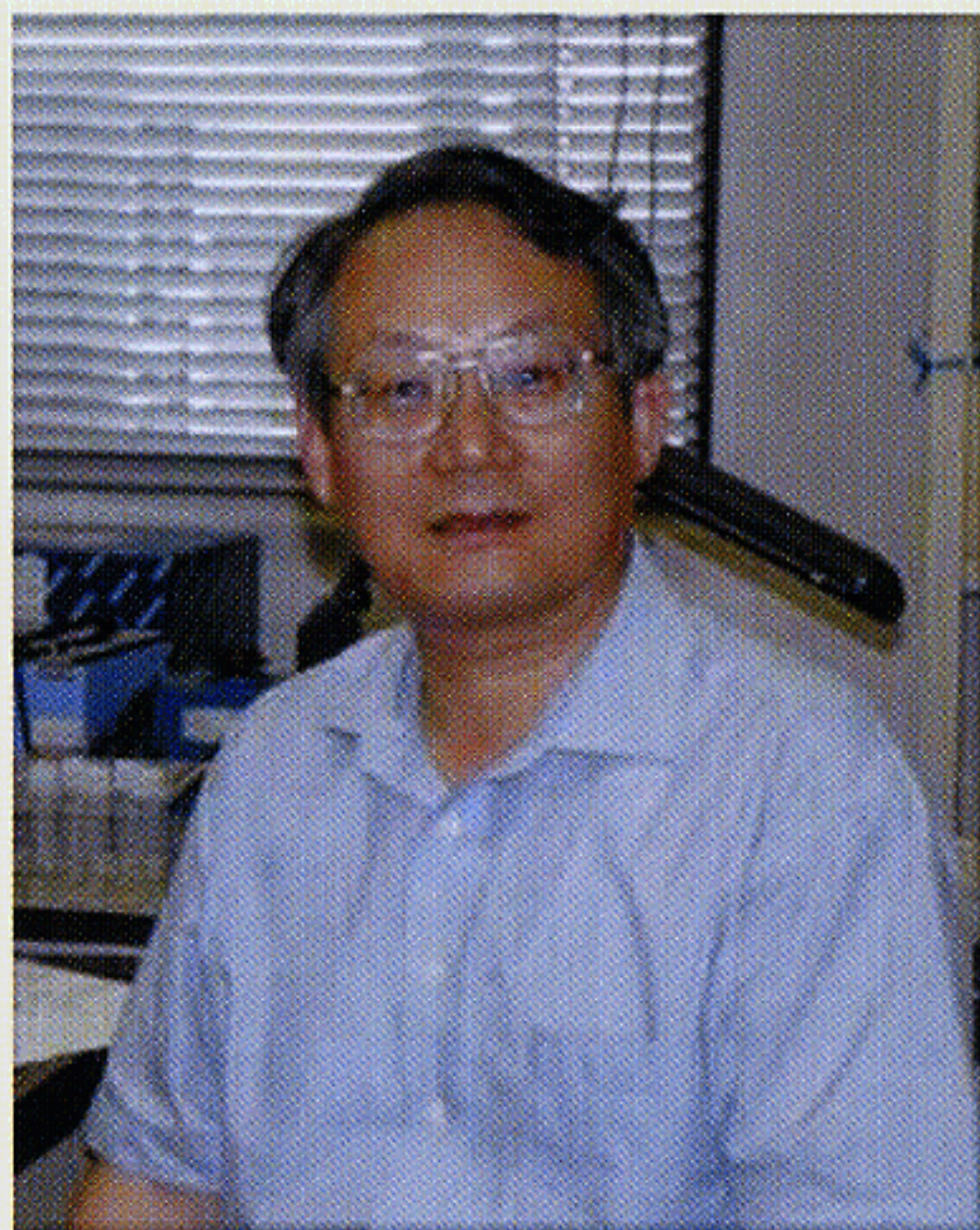
<http://www.nbrp.jp/index.jsp>



カイコの細胞質アクチン遺伝子のプロモーターに緑色蛍光タンパク質遺伝子を繋いだマーカー遺伝子を導入した組換えカイコ

●私の研究メモ

組換えカイコの作出と遺伝子機能解析への利用



田村 俊樹

組換え体というのは染色体の中に別の生物の遺伝子を入れた生物のことです。カイコでもこのようなゲノムを改変した個体を作る技術が確立され、遺伝子機能の解析に利用できるようになってきました。

組換えカイコを作るには染色体中を動き回る遺伝子トランスポゾンを利用します。カイコではpiggyBacと呼ばれている長さ2.4 kb程の小さなトランスポゾンが使われます。トランスポゾンはDNAですので、プラスミドに挿入し大腸菌で増やすことができます。プラスミドに目的とする遺伝子を入れ、大腸菌で増やし、DNAを精製します。次に、このDNAを産卵直後の卵に注射し、次の世代で目的とする遺伝子が導入されたカイコをスクリーニングするのです。

この場合、卵への注射時期が大切で、産卵直後の卵に注射する必要があります。カイコの卵殻は固くて厚いため、注射が難しいのです。そのため、図1に示したような特殊なDNA注射装置を作りました。この注射装置は、タングステン針で卵に穴を空け、穴の空いた位置にガラスキャピラリーを誘導することができるようになっています。

組換えカイコをどのような方法でスクリーニングするかは用いているトランスポゾンに挿入したマーカージェンにより決まります。カイコの細胞質アクチン遺伝子のプロモーターに繋いだ緑色蛍光タンパク質遺伝子を組み込んだ場合は、実体蛍光顕微鏡で観察すると全身が光ります（表紙の写真）。また、3XP3という眼での発現特性を持つプロモーターに赤色蛍光タンパク質遺伝子を繋いだものを用いると、図2のように胚の単眼や神経、成虫の複眼などが赤色に光ります。組換えカイコのスクリーニングはこのような形態の違いを利用して行いますので、かなり簡単に行うことができます。



図1. カイコ卵へのDNAの微量注射装置

組換えカイコはいろいろな目的に利用することができます。例えば、カイコが大量に絹タンパク質を作る特性を生かして、医療等に用いる有用なタンパク質をカイコで作る研究もかなり進んできています。また、組換えカイコを使って遺伝子機能を解析する研究も盛んに行われています。カイコには多くの突然変異体がありますが、原因遺伝子の解明には大切な手法の一つです。

例として第1白卵での野生型遺伝子を導入した組換えカイコがあります。この突然変異の場合、キヌレニン酸化酵素遺伝子の一部に欠失があり、そのためトリプトファンからオンモクローム色素ができる代謝経路が働かず、黒色の色素ができません。そのため、蛾の眼や卵が白くになると考えられています。

この突然変異に野生型の遺伝子を導入し、発現させると蛾の眼や卵に色素が沈着し、眼や卵の色が野生型に近くなります。また、セリシン繭と呼ばれている突然変異はフィブロインL鎖遺伝子に異常があるため、絹糸腺の後部は退化し、セリシンだけからなる薄い繭を作ります。この変異体に野生型のフィブロインL鎖遺伝子を導入し、発現させると絹糸線の形状は正常になり、繭も正常に近いものができるようになります(図3)。

このように、変異体の原因遺伝子の機能を証明するには組換え体を利用することが不可欠です。

また、最近ではゲノム中に挿入したトランスポゾンを変配によって人為的に別の位置に転移させることができるようになりました。この方法を発展させることによって、人為的に突然変異を作ったり、既存の突然変異の遺伝子をクローニングしたり、通常の状態では発現しない遺伝子を発現させることも可能になりつつあります。

組換え体の利用はカイコではまだ十分ではありません。特に、始めてこの昆虫を扱う人には飼育や卵への注射が難しいといえます。今後はこれらの点を改善するとともに導入遺伝子の発現方法にもさらに改良を加え、使いやすいシステムにしていきたいと考えています。

(所属：農業生物資源研究所)

(本稿の基礎となった研究は、瀬筒秀樹、小林 功、内野恵郎、井上 聡、今村守一並びに神田俊男の各氏の協力によるものであり、謝意を表す。)

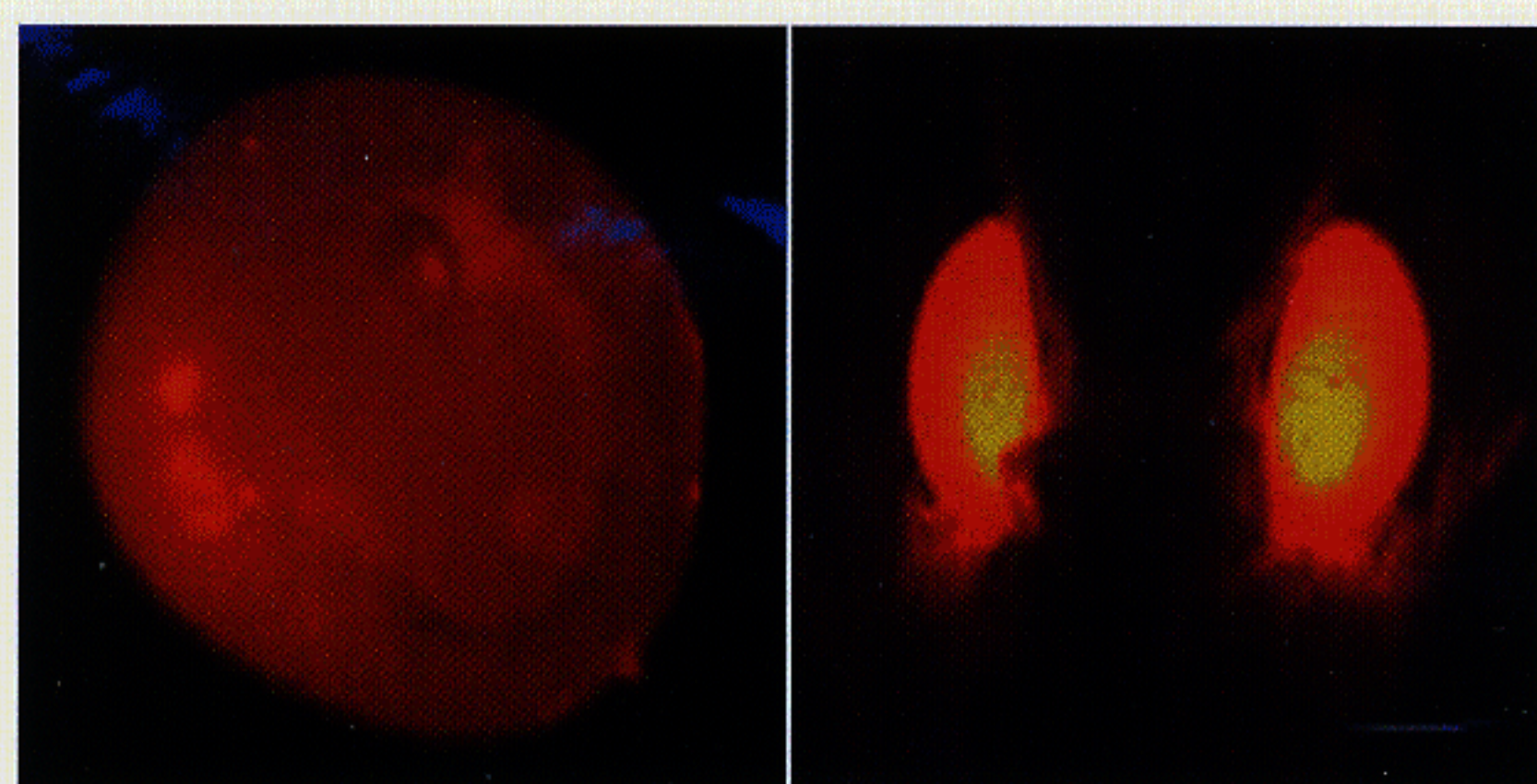


図2. 眼での発現特性を持つ人工プロモーター3XP3に赤色蛍光タンパク質遺伝子を繋いだマーカーを導入したカイコ。

左:組換えカイコの胚

右:組換えカイコの成虫複眼

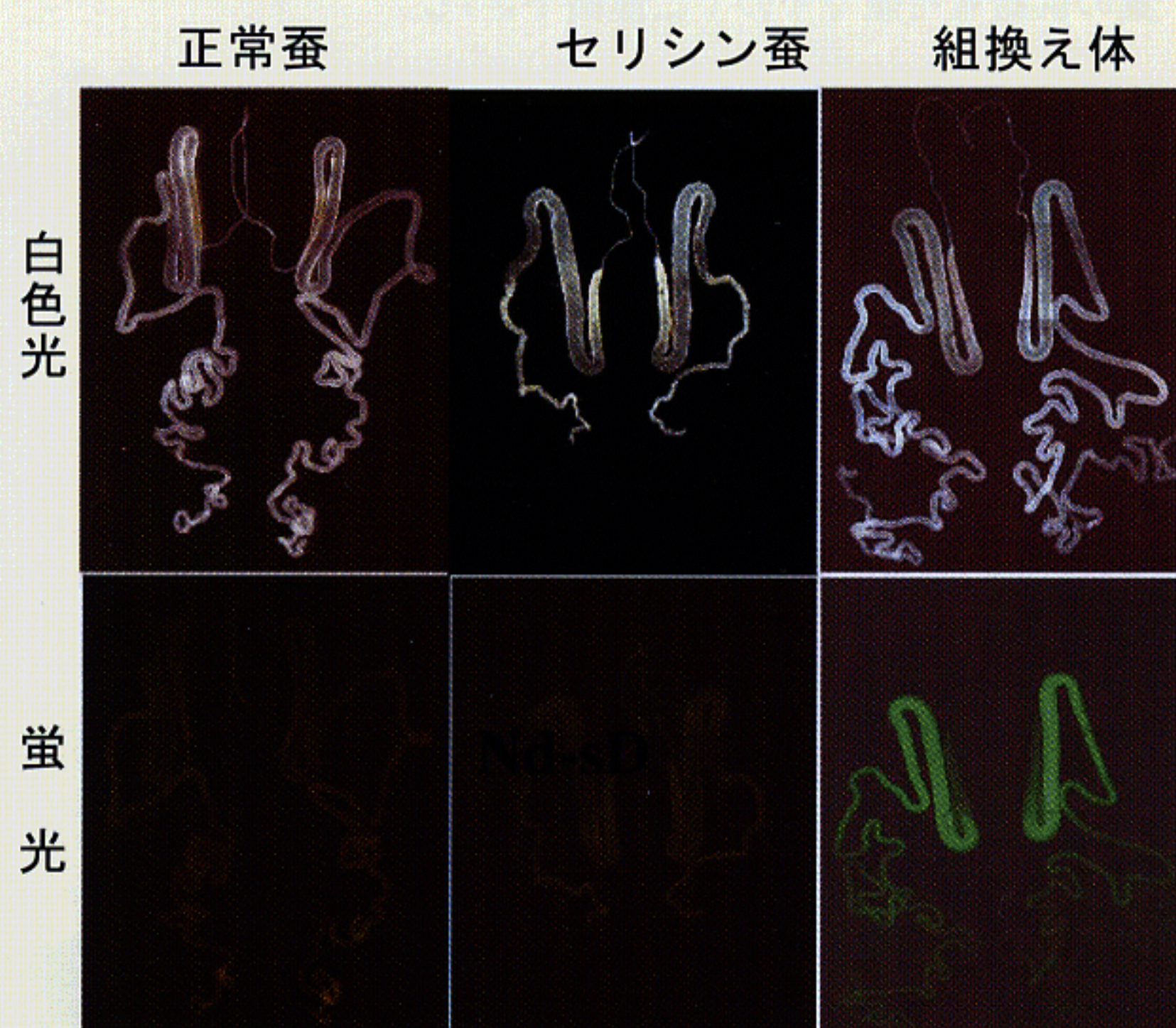


図3. セリシン蚕に正常のフィブロインL鎖遺伝子を導入した組換えカイコの絹糸腺。

この場合、導入したL鎖遺伝子は緑色蛍光タンパク質遺伝子でラベルされている。そのため、組換え体の絹糸腺は蛍光を持ち、目的とするL鎖が合成され、正常に中部絹糸腺に蓄積していることが分かる。

● パネル展示参加

平成17年12月7日から10日まで福岡市にて開催された第28回日本分子生物学会年会において、特別企画「ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)」として、実物付きパネル展示が行われた。「カイコ」「昆虫サイエンスはカイコから」と題して参加し、好評を得た(右写真)。



分譲可能なリソースの紹介

●九州大学（中核機関）関係

New! DNAレポジトリ完成

中核機関で保有する突然変異系統（約500系統）のDNAレポジトリが完成しました。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いただけます。

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。

人工飼料育可能な突然変異系統を提供しています。

広食性遺伝子の導入により人工飼料育で飼育出来る突然変異系統を育成していますのでお問い合わせ下さい。

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。

New! 今年の飼育スケジュール決定

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下記問い合わせ先までご連絡下さい。

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7日
2期	6月30日	6月30～7月20日	7月20～29日
3期	8月18日	8月18～9月8日	9月8～17日
4期	10月6日	10月6～26日	10月26～11月3日
5期	11月24日	11月24～12月14日	12月14～25日

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

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

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）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 kmita@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。GAL4-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GAL4-CaMPを生体内に発現するカイコの収集を行っている。種々のゲノム改変カイコを保有しているため希望者には必要な手続きの上、分譲が可能となっている。

<問い合わせ先> 田村俊樹 ttamura@nias.affrc.go.jp

●東京大学関係（サブ機関）

ゲノム関連の素材、情報が下記サイトで御覧頂けます。

鱗翅目ゲノムプロジェクト：
<http://www.ab.a.u-tokyo.ac.jp/lep-genome/>

NBRP東大分担分のウェブサイト：
<http://www.ab.a.u-tokyo.ac.jp/nbrp/>

カイコとクワコのリスト：
http://www.ab.a.u-tokyo.ac.jp/igb/shimada_silkworm_list.html

完全長cDNAデータベース：
<http://pistil.ab.a.u-tokyo.ac.jp/genome/>

（パスワードで閲覧、検索ができる）

●信州大学（サブ機関）（野蚕関係）

下記の野蚕の分譲が可能です。お問い合わせは信州大学梶浦もしくは中核機関へお願いします。

梶浦アドレス：zkajiur@giptc.shinshu-u.ac.jp

種名	発育段階	時季	量
ヤマユガ	卵	9月～翌4月	100粒
	幼虫	5月～6月	10頭
	蛹	7月～8月	10頭
サクサン	蛾	8月	10頭
	幼虫	5月～6月	30～
		8月～9月	100頭
	蛹	9月～翌4月	30頭
	エリサン	幼虫	春夏秋冬
蛹		春夏秋冬	30頭
シンジュサン	蛹	9月～翌7月	30頭

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