

2006

ニュースレター “おかいこさま“

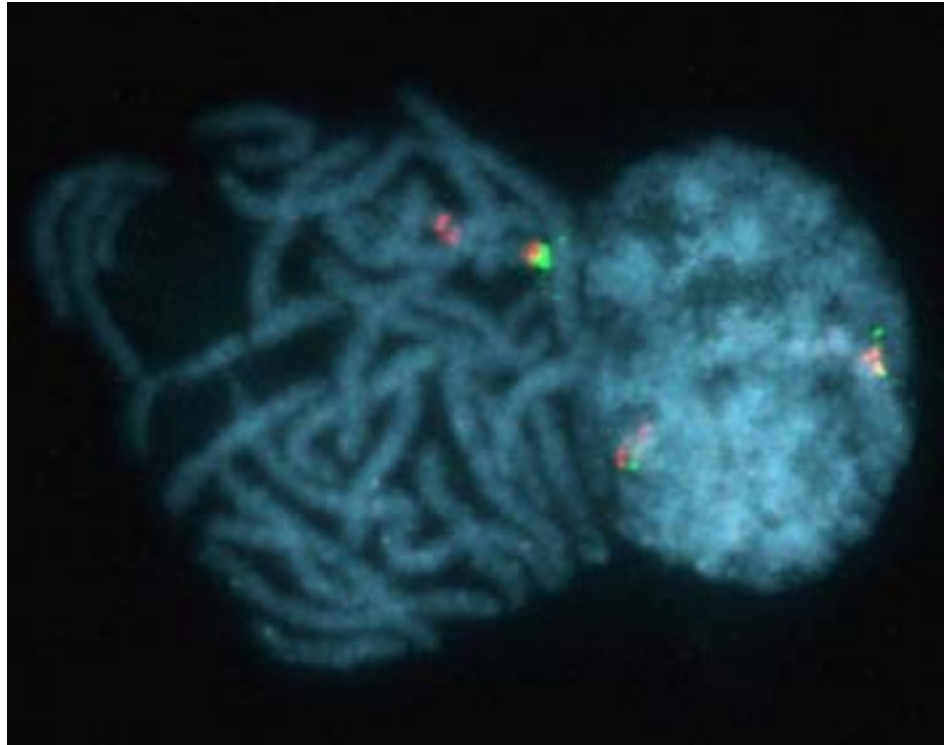
No.7

*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 7 月 15 日発行 第 7 号

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



パキテン期（左）と間期（右）核における第16染色体の同定。カイコでも2倍体間期核において2つの常染色体（第16染色体）は特定の領域（Chromosome territory）を占めているらしい。

●私の研究メモ

「カイコ染色体を区別する」



佐原 健

北海道大学大学院農学研究科

動原体が分散して存在していることなどカイコ染色体の特徴については「おかいこさま」No2 に「奇妙なカイコの染色体」として藤原晴彦先生が紹介されている。このような特徴を持つが故に、カイコでは普通の染色体にみられる「特徴」はなく、体細胞分裂中期には 56 個の丸い点が無造作に並んでいるだけのように見えてしまう。この特徴なき「特徴」が染色体の区別を困難にさせてきた最大の要因であると思われる。

カイコ染色体は以外と古くから研究されてきたものの結実した成果は散発的であった。1928 年には川口栄作先生により精巢の染色体が 28 本(対)であることが明らかとされている。それから約 50 年を経て 1976 年には丸い粒となる前の染色体(パキテン染色体)を観察することでドイツの Walther Traut 先生がいくつかの染色体を区別できるという画期的な方法を報告された。しかし、前述した区別できない要因のひとつである小さい染色体という欠点を排除してもなお全てを区別するには至らなかった訳である。さらには 25 年後の 1991 年に川村直子、新野孝男両先生は雌の繭が黄色で雄が白繭となる限性黄繭カイコで性染色体対(WZ)を区別できることを明らかにされた。著者が学生としてカイコの研究を始めたのはちょうどこの頃で研究室には川村先生が在籍しており、この研究過程を間近で拝見することとなった。川村先生は従来からある様々な染色方法をカイコ染色体の区別に利用できないかと試されたが、何れも良い結果を得ることはできなかった。世界の染色体研究の流れは、それまでの染色液を使ったものから蛍光標識した核酸プローブを染色体に視覚化する FISH (Fluorescence *in situ*

hybridization)へと主軸となる手法が変化している時代であった。著者もまた全てのカイコ染色体を区別する「夢」を実現できないかと考えるようになっていた。

それから数年後、前出の W. Traut 先生のラボで 1 年間研究できるという幸運を得た。ここで FISH の手法を詳しく学ぶことができ、ゲノム DNA をプローブとした CGH (comparative genomic hybridization) 法を性染色体の特定に利用する研究を行った。CGH とその簡便法である GISH (genomic *in situ* hybridization) は Y や W 染色体を認識できる方法で、これら染色体の分子的分化がその根拠となる。我々は、広範な種に適用可能であるこの方法 (Chromosoma 108:173-80, 1999) によりマウス、ヒト、キイロショウジョウバエ、カイコ、ハチミツガ、スジコナマダラメイガの性染色体を特定したが、使用したヒト染色体標本 (healthy male individual) は著者本人のものである。ゲノムプローブのシグナルは常染色体の一部にも弱いシグナルが検出されたため、高コピー数の配列の何種類かを組み合わせればカイコでも染色体が区別できるかも知れないと考えるようになった。西洋ミツバチではこの方法で染色体の一括認識を行うことができるという研究が報告されたこともこのアイデアを推し進める要因となった。

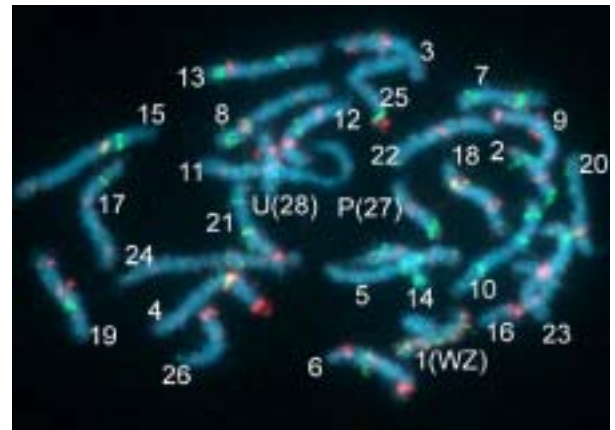


図 1 BAC-FISH によるカイコ染色体の一括認識 (Yosido et al Genetics 170, 675-685: 2005 Fig3 より The Genetics Society of America の許諾を得て掲載)。1-26, P, U は連関番号に対応; H: ヘテロクロマチンブロック; N: 核小体

カイコでも分子遺伝研究が盛んとなっており、様々なリピート様配列が入手できたが、結局この方法での研究は徒労に終わった。リピートでだめならばコピー数の少ない遺伝子領域をプローブとしてはどうかとのアイデアも浮かんだがもっと広くて特異的な領域を占めるようなライブラリーがないものかと思案していた。そ

の要求を満たすカイコ BAC (Bacterial artificial chromosome)ライブラリーを構築された安河内祐二博士との共同研究がカイコ染色体を区別できるブレイクスルーとなった。安河内博士は RAPD (random amplified polymorphic DNA)に基づくカイコ分子連関地図を構築(Genetics 150:1513-1525, 1998)されており、BAC クローンの統合を進められていたことから、RAPD 地図にマップされた BAC をプローブとして染色体を視覚化することで両者の統合とカイコ染色体の認識が行えたのである。まずは、W 染色体由来の BAC プローブによる FISH とメルクマールとなる GISH でカイコ W 染色体を特定する研究を通じて、鱗翅目昆虫で初めてとなるカイコ BAC-FISH 法を確立した。W-BAC は W 染色体全体をペイントするシグナルをもたらしたが、これをマーカーとした Z 由来の BAC-FISH では Z 染色体上にドットシグナルが得られた。もちろん、W. Traut 先生の提唱されたパキテン染色体を用いて、これから先は各連関群に座位決定された BAC を順次、BAC-FISH マッピングした。こうして、カイコ染色体が連関群に対応する形で特定できるようになった。現在では、九州大学で長年かけて構築されたカイコ突然変異地図と染色体との対応もほぼ完成している。最終的には、個別認識に使用したプローブを組み合わせることでカイコ染色体を一括して区別することができ(図 1)、確実な核型検定(カリオタイプ)の提出に至った(図 2)。

個人的な「夢」が実現したことはさておき、カイコで染色体が区別できるということは何の役に立つのだろうかとの疑問をもたれる方も居られると思う。まずは、カイコがモデル昆虫として研究に活用されていく上で、これまで欠落していた細胞遺伝学研究的の道が拓かれたことに意義を見いだせると考える。特に、連関地図との統合が果たされている点は重要である。動原体が分散している「奇妙な」染色体構造と遺伝子発現の関連性を研究するツールができたとも言えるであろう。

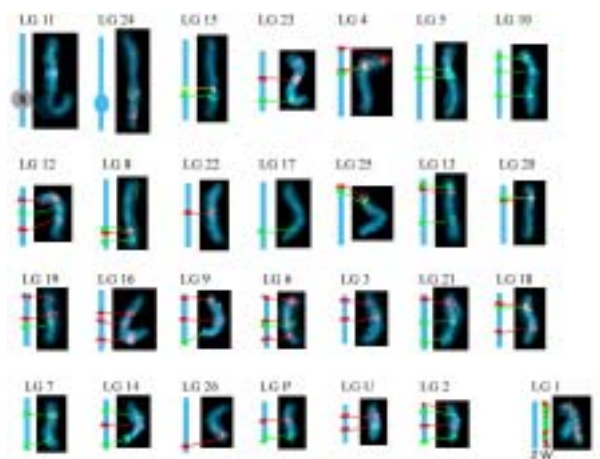


図 2 カイコ染色体のカリオタイプ(Yosido et al Genetics 170, 675-685: 2005 Fig3 より The Genetics Society of America の許諾を得て掲載)。

また、即時的には、現在進んでいるカイコゲノム解読の最終段階において解読カバー率の推定と通常の分子手法では連結が困難なコンティグ間のスキファールド作製に利用が可能である。継続的にはカイコ遺伝子の分布、マップベースクローニングのアンカーポイント作製ならびに比較ゲノム研究のツールとして大いに活用されるであろう。

本ナショナルバイオリソースプロジェクトを通してカイコには自然、人為操作双方において出現した不思議な染色体突然変異を含む多様な系統が保存されている。染色体突然変異の研究にはカイコ BAC-FISH が直接利用できるし、原因となる特定遺伝子クローニングや鱗翅目昆虫間で保存される遺伝子の検出とシンテニー研究、さらには、カイコ遺伝子研究を基盤として害虫種のゲノム創薬ターゲット遺伝子の特定にも繋がるであろう。

「おかいこさま」について

文部科学省では平成 14 年度から「ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP)」をスタートさせました。ライフサイエンス研究に広く用いられる実験材料としてのバイオリソース(動植物、細胞、DNA などの遺伝子材料のうち、国が特に重要と認めたもの)について、体系的な収集、保存、提供体制を整備することを目的としています。カイコはその生物種 24 種のひとつとして指定を受けました。ニュースレター“おかいこさま“は NBRP「カイコ」の情報誌として本事業の内容を皆様にお届けする一助として発行しています。

分譲可能なリソースの紹介

●九州大学（中核機関）関係

DNA レポジトリー完成

中核機関で保有する突然変異系統（約 500 系統）の DNA レポジトリーが完成しました。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。

今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、SilkormBase 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、GEP 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。

<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	幼虫	5月～6月	30～
		8月～9月	100頭
エリサン	蛹	9月～翌4月	30頭
	幼虫	春夏秋冬	30頭
シンジュサン	蛹	春夏秋冬	30頭
		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 伴野 豊

TEL 092-624-1011 banno@agr.kyushu-u.ac.jp