

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：32606

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15535

研究課題名(和文)カイコとエリサンの集中産卵性を制御する遺伝子基盤の解明

研究課題名(英文) Understanding the genetic basis governing egg-laying behaviour of *B. mori* and *S. ricini*

研究代表者

李 允求 (Lee, Jung)

学習院大学・理学部・助教

研究者番号：50847168

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：エリサンとカイコの集中産卵性を支配する遺伝子基盤を解明するべく、同じ属(genus)の種でありながら、異なる産卵様式を持つシンジュサンとクワコを用いた異種間交配系を利用し、順遺伝学的な解析を実施した。その結果、エリサン(シンジュサン)、カイコ(クワコ)ともに、Z染色体の相同な領域(約1Mbpの領域)が責任領域であることが確認された。その領域中に存在する遺伝子のうち、脳で特異的に発現しており、かつエリサン-シンジュサン間でアミノ酸配列に相違が認められるものを探索した結果、1遺伝子が条件を満たすことが判明した。現在、この遺伝子をノックアウトした系統を樹立中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

産卵行動は、子孫の生存率に直接影響を与え、昆虫は、基本的には子育てをしないため、産卵場所の選定は非常に重要である。全滅の憂き目を避けるために様々な場所に卵を分散させる方がよい場合もあれば、孵化直後に、多くの兄弟姉妹と1ヶ所に固まりながら行動できるように、1ヶ所に卵を集中させて産んだ方がよい場合もあるだろう。本課題の研究成果によって、卵を分散させるか、あるいは集中させるか、という形質は、Z染色体上のたった一つの遺伝子によって支配されていることが判明した。この成果は、昆虫の産卵行動の進化を解き明かす上で、非常に重要な発見である。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate the genetic basis governing the intensive egg-laying behaviour of *S. ricini* and *B. mori*, a forward genetic analysis was carried out using interspecific crosses between *Samia cynthia* and *B. mandarina*, which belong to the same genus of *S. ricini* and *B. mori* but have different egg-laying patterns. As a result, we confirmed that homologous regions (approximately 1 Mbp) on the Z chromosome of both species are responsible for the egg-laying pattern.

Within the region mentioned above, we identified a gene which expresses specifically in the brain. The deduced amino acid sequence of that gene of *S. ricini* has an amino acid substitution at the site which is strongly conserved among species showing "dispersive" egg-laying patterns. Now, we attempt to establish knockout strains of this gene using a consomic *S. ricini* strain, which has Z chromosomes derived from *S. cynthia*, as the recipient.

研究分野：ゲノミクス、遺伝学、行動学

キーワード：産卵様式 エリサン シンジュサン カイコ クワコ 順遺伝学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

昆虫には、一箇所に集中して産卵する種と、様々な場所に分散して産卵する種が存在する。これらの形質は、それぞれの種の生態に合わせて、「次世代の個体が集団で行動しやすくなること」と、「一箇所に産卵することで環境の不良化による全滅の憂き目に遭うこと」が秤にかかった結果、絶妙なバランスで決定されているものと思われる。

家畜昆虫であるカイコ *Bombyx mori* とエリサン *Samia ricini* は、産卵の際、1箇所に集中して卵を産み付ける習性がある。一方で、上記2種の野生種であるクワコ *Bombyx mandarina* と *Samia canningi* (和名なし) は、分散して産卵する習性を持つ。これは、採卵を容易にするため、人間による選択圧が非常に強く働いた結果であり、家畜化に伴って起きた収斂の1例であると考えられる。

カイコ・エリサンの「集中産卵性」は、性染色体(Z染色体)上の遺伝子によって支配されていることがすでに明らかになっており、同じ遺伝子のホモログに生じた変異が、「分散産卵性」から「集中産卵性」への転換の原因となっている可能性がある。

### 2. 研究の目的

昆虫の産卵行動の遺伝子基盤に関する研究はほとんどおこなわれていない。況してや具体的な遺伝子の同定に至った例は皆無である。本研究においては、順遺伝学および逆遺伝学的手法を駆使し、カイコとエリサンの「集中産卵性」の原因遺伝子を特定し、昆虫の家畜化の過程の一端を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 1. ゲノム情報のアップグレード

研究開始時点で、すでにカイコ、クワコ、エリサン、シンジュサンのゲノム配列は解読されていたものの、染色体スケールと呼べる配列は、カイコゲノム (NCBI acc: GCA\_014905235.2) のみであった。そこで、すでに別プロジェクトにおいて、ある程度アセンブリが進行していたクワコ、エリサンを対象として、ゲノムアセンブリの scaffolding をおこなった。まず、両種の雄個体(蛹)より、超高分子 DNA を抽出し、Bionano Saphyr による Optical genome mapping をおこなった。両種ともに、1回の Optical genome mapping では、全ての contig が染色体に回収されなかったため、クワコにおいては HiC-seq を、エリサンにおいてはもう一度異なる酵素を用いた Optical genome mapping をおこなった。その結果、配列数と染色体数が等しいゲノムアセンブリを構築することに成功した。クワコゲノムについては、すでに公開されており、だれでもデータにアクセスできる状況である (GCA\_030267445.1)。エリサングゲノムは、登録作業は済んでおり、論文投稿の際に公開予定である。シンジュサンについては、カイコ、クワコ、エリサンと比較すると、ゲノムのヘテロ接合性が高いこと(2018年に野外で採集した個体を継代しているため)、まずはエリサンとの比較ができればよいという観点から、ショートリードによる配列取得のみをおこなった。

#### 2. 順遺伝学的解析

集中産卵性制御遺伝子の特定には、順遺伝学的手法を用いた。まず、エリサンとシンジュサンの F<sub>1</sub> 個体を得たのち、その雄個体とエリサンの雌を戻し交雑した。得られた BC<sub>1</sub> 雌個体を、産卵

様式をもとにフェノタイピングし、「集中産卵型」もしくは「分散産卵型」に分類した。BC<sub>1</sub> 雌個体のうち、集中産卵型と判定した個体は 27 個体、分散産卵型と判定した 24 個体であった。ゲノム情報を用いて、エリサンとシンジュサンの Z 染色体を判別するためのマーカーを約 1 Mbp の間隔で作成し、分散産卵型を示した 24 個体の Z 染色体において共通して存在するシンジュサン由来の領域を探索した。その結果、Z 染色体の約 1 Mbp の領域が分散産卵型の産卵行動を支配する責任領域であることが判明した。なお、集中産卵型を示した 27 個体において、当該領域は全てエリサン由来であったことから、1 遺伝子のエリサン型アレル（あるいはシンジュサン型アレル）が産卵行動を支配していると想定される。

次に、同様の実験を、カイコおよびクワコについてもおこなった。BC<sub>1</sub> 雌個体のうち、集中産卵型と判定した個体は 4 個体、分散産卵型と判定した 4 個体であった。解析に供することができた個体が少なかったため、それほど領域を絞り込むことはできなかったが、Z 染色体の末端約 6 Mbp の領域が、産卵様式を支配する責任領域であることが判明した。この領域は、エリサン（とシンジュサン）において判明した責任領域 1 Mbp と相同な領域を包含していた。

### 3. 原因遺伝子の探索

次に、トランスクリプトーム解析により、産卵時にエリサンの脳で発現している遺伝子を網羅的に調べた。このうち、以下の条件、

1. ポジショナルクローニングによって絞り込まれた領域に存在する。
2. アミノ酸をコードしている。
3. トランスポゾン関連遺伝子ではない
4. エリサンでのみ、アミノ酸置換（あるいは欠失、挿入）がある。

を満たす転写物を探索したところ、4 個の転写物が候補として残った。この 4 転写物について、エリサンの他の組織における発現を調査したところ、1 遺伝子のみ、神経系において強く発現していることが判明した。

### 4. 遺伝子ノックアウトによる検証

以上の実験により、Z 染色体上の 1 遺伝子が産卵様式を支配する非常に有力な候補として発見された。シンジュサンをレシピエントとしてこの遺伝子をノックアウトし、表現形をチェックしたいところである。ここで問題となるのは、シンジュサンは野生の昆虫であるがゆえに、飼育・継代がエリサンほど容易ではない点である。野生の昆虫は発生が不斉一になりやすく、遺伝子ノックアウトのためのマイクロインジェクション作業をおこなうのに十分な卵を確保しにくい。そこで、シンジュサンの Z 染色体を有するエリサンコンソミック系統を樹立し、遺伝子ノックアウトに供することを計画した。まず、エリサン雌とシンジュサン雄を交配し、F<sub>1</sub> 個体を得た。F<sub>1</sub> 雌個体とシンジュサン雄個体を交配させて得られた次世代は、Z 染色体についてはシンジュサン由来である。2022 年度中に、この系統が休眠してしまったため、ノックアウトは 2023 年に持ち越しとなってしまったが、2023 年度中に、当該遺伝子をノックアウトする予定である。

## 4 . 研究成果

高精度ゲノムアセンブリに関する論文を 1 本投稿中、1 本執筆中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Lee Jung, Nishiyama Tomoaki, Shigenobu Shuji, Yamaguchi Katsushi, Suzuki Yutaka, Shimada Toru, Katsuma Susumu, Kiuchi Takashi	4. 巻 21
2. 論文標題 The genome sequence of <i>Samia ricini</i> , a new model species of lepidopteran insect	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Ecology Resources	6. 最初と最後の頁 327 ~ 339
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1755-0998.13259	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川越凜・嶋田透・李允求
2. 発表標題 シンジュサン・エリサンの産卵様式を決定する遺伝子の探索
3. 学会等名 日本蚕糸学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 李允求・嶋田透
2. 発表標題 エリサンとシンジュサンの交雑後代で生じる赤繭形質の発現を支配する遺伝子基盤の解明
3. 学会等名 日本蚕糸学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 真家悠輔・李允求・嶋田透
2. 発表標題 シンジュサンの緑色体色を構成する黄色色素の蓄積を支配する遺伝子の解明
3. 学会等名 日本蚕糸学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 岡本眞奈・李允求・嶋田透
2. 発表標題 エリサンのヒマ食性を支配する遺伝子基盤の解明
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 李允求・嶋田透
2. 発表標題 イチジクカサンのゲノム解析
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 李允求・嶋田透
2. 発表標題 鱗翅目昆虫3種における比較piRNA解析
3. 学会等名 日本蚕糸学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 李允求・嶋田透
2. 発表標題 エリサンとシンジュサンの交雑後代で生じる赤繭形質の発現を支配する遺伝基盤の解明
3. 学会等名 応用動物昆虫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 李允求・嶋田透
2. 発表標題 エリサンCameo遺伝子の機能解析
3. 学会等名 日本蚕糸学会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 岡本眞奈・李允求・嶋田透
2. 発表標題 エリサンのヒマ食性を支配する遺伝子基盤の解明
3. 学会等名 日本蚕糸学会
4. 発表年 2022年～2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関