

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24248011

研究課題名(和文)カイコ脳の情報処理を制御する遺伝子群の単離と分子機構の解析

研究課題名(英文)Genetic and molecular mechanism for information processing in the brain of the silkworm, *Bombyx mori*

研究代表者

嶋田 透 (Shimada, Toru)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号：20202111

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,700,000円

研究成果の概要(和文)：鱗翅目昆虫の脳機能の解明を進めるため、カイコの変異体のうち、環境からの刺激や周辺状況へ脳が応答して発現する形質の変異体、すなわち産卵行動の変異体(u80)、営繭行動の変異体(FI)、および休眠性(光周反応)に関する変異体(Lm)について、原因遺伝子を探索した。連鎖解析の結果、u80系統については、主働遺伝子が第10染色体の特定な領域に存在していることが判明した。FI(浮きちら)については、第7染色体の2つの遺伝子のいずれかが原因であると分かった。さらに、Lmについては、Z染色体の1領域(遺伝子30個)へ絞り込んだ。これらについて候補遺伝子をノックアウトして機能を解析している。

研究成果の概要(英文)：To understand the brain function in lepidopteran insects, the silkworm mutants for the brain responses to environment or situation are invaluable genetic resources. In this project, strain "u80", which shows abnormal oviposition behavior without copulation, the mutant "FI", which makes malformed cocoons because of abnormal spinning behavior, and the variant "Lm(e)", which shows photoperiodism in larval stages for diapause properties in the next generation, were utilized for genetic analyses, i.e. trials for positional clonings. As the results, the responsible regions for u80, FI, and Lm(e) were localized on limited regions on chromosomes 10, 7, and 1, respectively.

研究分野：昆虫遺伝学

キーワード：鱗翅目 産卵行動 吐糸・営繭行動 光周反応 休眠 遺伝子ノックアウト RNA-seq

1. 研究開始当初の背景

昆虫の脳の機能を支配する遺伝子に関する研究は、おもにキイロショウジョウバエの行動変異体を用いて行われており、それ以外の昆虫では、あまり行われていない。鱗翅目では、フェロモンや嗅覚のような化学受容や電気生理学的な手法による神経機能の研究は行われているものの、遺伝学的な研究はほとんどない。カイコでは遺伝学的な研究が蓄積しており、行動の変異体も多いので、潜在的に脳研究の材料になりうる。そこで、本研究課題「カイコ脳の情報処理を制御する遺伝子群の単離と分子機構の解析」を着想した。

2. 研究の目的

鱗翅目昆虫の生理生態的特性、すなわち産卵行動、営繭行動、および休眠性などの変異は、主として脳機能の差異によって現れる。これら変異を支配する遺伝子を単離することによって、昆虫の脳機能における情報処理を制御する遺伝子群の単離と分子機構の解析を行おうとした。

3. 研究の方法

産卵行動、営繭行動、および休眠性に大きな形質変異を有する系統を用い、それと正常形質を示す系統との交雑をおこない、ゲノム配列多型マーカーを用いて連鎖解析を実施した。また、その結果として得られた候補遺伝子について、TALEN および CRISPR/Cas9 システムを用いたノックアウトを行った。

4. 研究成果

(1) 生殖行動の変異体の解析

正常なカイコ雌蛾は、雄蛾との交尾後にはじめて産卵を開始する。この行動変化、交尾により雌体内に送り込まれる有核精子が、雌の内部生殖器官の前庭に進行することで起きるとされている。しかし、性行動

の変化に関わる分子メカニズムは不明である。九州大学保存の u80 系統は、正常なカイコには見られない交尾前産卵が起きる変異体である。変異系統 u80 と正常系統「日 106 号」を交雑し、遺伝的解析を実施したところ、未交尾産卵性の主働遺伝子は第 10 染色体にあり、第 24、25 の 2 本の染色体もその形質に影響することが分かった。交雑 F2 の連鎖解析により、未交尾産卵性の原因を第 10 染色体の特定の領域に絞り込むことに成功し、そこには 7 個の遺伝子があった。それらのいずれかが未交尾産卵性を支配していると予想される。有力な遺伝子について、現在ノックアウト個体を作成している。

(2) 営繭行動の変異体の解析

「ボカ繭」と呼ばれる繭型は、第 7 染色体 32.1 に占座する遺伝子 *Fl* (浮きちぢら) に支配されるとされている。この繭型は、最終齢幼虫の営繭行動の異常によって現れる。*Fl* と正常系統の F1 に対して正常系統を戻し交雑し、ポジショナルクローニングを行った結果、*Fl* の原因領域を第 7 染色体の 292kb まで絞り込んだ。ここには 2 つのタンパク質コード遺伝子の存在が予測された。それらのコードするアミノ酸配列は、いずれも、*Fl* 系統と正常系統の間で違いがなかったが、遺伝子の発現 (転写) パターンの差異によって営繭行動の差異が現れる可能性がある。候補遺伝子のうち 1 つについて、ノックアウト個体を作成したところ、明確な *Fl* 形質は得られなかったため、原因を考察中である。

(3) 光周性を支配する遺伝子の解析

カイコの休眠性を支配する遺伝子はゲノム上に複数存在するとされているが、2 化性系統の催青期の温度に依存した休眠性や、多化性系統の一部に存在する休眠性に関す

る長日型の光周反応は、Z染色体に存在する遺伝子 *Lm* に支配されるといわれてきた。*Lm* は、脳が温度や光周条件のような環境情報を記憶し、休眠ホルモンの分泌の可否として次代の休眠性を支配する重要な遺伝子であるが、その分子実体は不明である。本研究では、幼虫期の光周反応を示す輪月 (*Lm^e*) と、2化性の品種である支 108 号 (*+Lm*) の交雑により、コンジェニック系統を作出し、そのコンジェニック系統を用いて光周反応に係る *Lm* の責任領域を絞り込んだ。その領域には 30 個のタンパク質コード遺伝子の存在が予想された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Lingyan Wang, Takashi Kiuchi, Tsuguru Fujii, Takaaki Daimon, Muwang Li, Yutaka Banno, Susumu Katsuma, and Toru Shimada (2013) Reduced expression of the dysbindin-like gene in the *Bombyx mori* ov mutant exhibiting mottled translucency of the larval skin. *Genome* 56(2): 101-108.

Lingyan Wang, Takashi Kiuchi, Tsuguru Fujii, Takaaki Daimon, Muwang Li, Yutaka Banno, Shingo Kikuta, Takahiro Kikawada, Susumu Katsuma, and Toru Shimada (2013) Mutation of a novel ABC transporter gene is responsible for the failure to incorporate uric acid in the epidermis of ok mutants of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 43(7): 562-571.

Huabing Wang, Takashi Kiuchi, Susumu

Katsuma, and Toru Shimada (2015) A novel sucrose hydrolase from the bombycoid silkworms *Bombyx mori*, *Trilocha varians*, and *Samia cynthia ricini* with a substrate specificity for sucrose. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* (in press).

嶋田 透 (2014) カイコの遺伝資源とゲノム情報を利用した新たな研究展開 [特集: 昆虫のゲノム研究と新産業への応用] *JATAFF ジャーナル*. 2(7): 15-23.

嶋田 透 (2015) 昆虫の食性の進化を遺伝子で説明できるか? (特集「ゲノムで進化の謎を解く」). *細胞工学* 34(2): 202-207.

[学会発表](計 4 件)

木内隆史・勝間 進・嶋田 透: コンジェニック系統を用いた休眠制御遺伝子同定の試み. 日本蚕糸学会第 83 回大会(平成 25 年度 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会) 2013 年 3 月 18 日-19 日、農林水産技術会議事務局筑波事務所(茨城県つくば市).

湯浅 正志・木内 隆史・伴野 豊・勝間 進・嶋田 透: 油蚕遺伝子「B8 斑油」(*obt*)のポジショナルクローニング. 日本蚕糸学会第 83 回大会(平成 25 年度 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会) 2013 年 3 月 18 日-19 日、農林水産技術会議事務局筑波事務所(茨城県つくば市).

嶋田 透: トランスクリプトーム解析が解き明かす昆虫の食性進化の機構. 文部科学省科学研究費新学術領域研究「ゲノム支援」公開シンポジウム「次世代ゲノム科学の最前線」, 2014 年 1 月 21 日、東京国際フォーラム(東京都千代田区)(招待講演).

Masashi Yuasa, Takashi Kiuchi, Susumu Katsuma, and Toru Shimada: Genetic linkage analysis of female sexual behavior mutant in the silkmoth, *Bombyx mori*. The 4th Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology, April 23-25, 2015 Haeundae Grand Hotel, Busan, Korea.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

嶋田 透 (SHIMADA, Toru)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号 : 20202111

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし