

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03000

研究課題名(和文) 染色体のパッケージングによるカイコとクワコの形質差に関与する遺伝子のトラッピング

研究課題名(英文) Searvay of genes involved in trait differences between silkworm and mulberry by chromosome packaging

研究代表者

伴野 豊 (Yuuka, Banno)

九州大学・農学研究院・教授

研究者番号：50192711

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：育成したコンソミック系統を用い、卵、幼虫、蛹(繭)、成虫の各発育ステージでカイコとクワコの形質差に関して、可視形質レベルで比較調査を行った。卵時期においては、受精率、胚子発育に関わる遺伝子、幼虫期においては、体色に関する遺伝子、個体サイズ、発育に関与する遺伝子の所属する染色体が特定された。繭色に関しては、笹繭色の抑圧に関する遺伝子が新たに確認された。家畜化の過程で重視されたと考えられる繭重に関与する遺伝子の存在する染色体に関しても候補となる染色体が示唆された。クワコ成虫は翅を含めて全体が黒色、カイコは白色と差異が著しいが、その差に関与すると示唆される遺伝子が第23に存在することも示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

カイコの家畜化の謎を解明するリソースの構築とその妥当性を検証する為に本研究を計画した。長年、カイコは野生のクワコを緩やかに長い時間をかけて育種されてきたと説明されるに留まっている。先端的な機器を駆使した2種比較解析からも得られた回答は少なかった。本研究では、クワコのゲノムを染色体ごとにカイコゲノム内にパッケージングした(細分化)系統の育成を行った。可視レベルの調査でも2種を区別する遺伝子の存在する染色体を知ることが示された。クワコからカイコへの家畜化の謎解明という大きな課題の解決に貢献するバイオリソースの構築ができたと考える。

研究成果の概要(英文)：Comparative investigations at the level of visible traits were conducted at the egg, larval, pupal (cocoon), and adult developmental stages using the bred consomic lines (a group of chromosome package lines). In the egg stage, genes related to fertilization rate and embryo development were identified, and in the larval stage, chromosomes belonging to genes involved in body color, individual size, and development were identified. Genes related to the suppression of the color of the cocoon were also newly identified. A candidate chromosome for the gene involved in cocoon weight, which is thought to be important in the domestication process, was also suggested. The adult silkworms, including their wings, are black, whereas the silkworms are white, and a gene on chromosome 23 was suggested to be involved in this difference.

研究分野：蚕糸学・遺伝学・生物学

キーワード：カイコ クワコ 染色体置換 形質 比較生物学 家畜化 養蚕

1. 研究開始当初の背景

カイコ (*Bombyx mori*) は現在では野外に生息できないまでに家畜化されている。蛾の仲間は通常、成虫である蛾は飛翔するがカイコは飛ぶことはできず、幼虫時期では餌(クワ)がなくなっても探しまわる能力は極めて弱く、現在では野外では見るできない。イヌやネコも人類によって改良が加えられ馴化されてきたが、野良犬、野良猫として生存することは可能であり、カイコは究極の家畜としてとらえることができる。

ところで、カイコの祖先種はクワコ (*Bombyx mandarina*) という野外に生息する近縁な昆虫種であり、人類は 5000 年以上と推定される長い時間をかけて現在見るようなカイコを作り出したと考えられている。5000 年という根拠は、最も古い絹織物が約 5000 年前の遺物として中国で出土していることを根拠にしており、実際にはもっと古いと推定される。カイコは人類が時間をかけて徐々にクワコを馴化、育種してきたとされる。しかし、通常の育種で飛翔の有無や行動の緩慢性という形質を変化させることが可能であったのだろうか？ 過去のある時期に、行動や形態を大きく変化させるようなキーとなる遺伝子変異が生じ、それを引き金に急速に家畜化が進んだのでないか？ こうした素朴な疑問は市民を対象にしたカイコの学習会などでも頻りに質問されるのであるが、十分な説明ができていないのが現状であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は最終的には「カイコの家畜化過程の謎の解明」という大きな問いであるが短期間での解決は難しい。そこで、本研究では、「祖先種であるクワコとカイコの間で見られる形質の差を支配する遺伝子の探索と同定」を具体的な目的として研究を進め、カイコの家畜化の謎に迫る一步としたいと考えた。2 種の形質の差を個別に分解すると多数存在する。当然のことであるが、両者の諸形質の違いは両種のゲノムの差に由来することは明らかである。既にゲノムレベルでの比較は行われている。最も大規模で詳細な研究は夏ら (2010 年 Nature 誌) により行われ、両種では約 1600 万箇所 SNPs があること、カイコでゲノムの均一化が進んだ領域が 1041 箇所ほど存在することを見出した。しかし、形質変化の原因となる遺伝子を明らかにすることはその後の研究でも未だに明らかにはされていない。このことはゲノム解析とは異なる視点からの研究の必要性を示している。本研究では、順遺伝学的に形質を変化させる染色体、遺伝子を特定する視点で研究を進めた。

3. 研究の方法

研究方法としては、クワコゲノムを染色体別にパッケージした系統を育成し、責任染色体、遺伝子を絞りこむ方針とした。遺伝・育種学的には染色体置換系統 (Chromosome substitution) と呼ばれるものであり、作成手順は図のような工程とした。

< 育成過程 >

- a、クワコとカイコの交配
- b、F1 雌にカイコ雄を交配
- c、N2 雌にカイコ雄を交配する。以下、カイコの連続戻



し交配を行う。戻し交配世代数をN2, N3, N4---と表現。カイコ雄を連続して戻し交配するので、世代が進むにつれてクワコのゲノムの割合は半数ずつ減少する。N5世代では3.125%のみとなる。育成素材としては、遺伝的に均一でゲノム情報が整備されていることが必要であるので、クワコとしては坂戸系統(30世代以上の室内継代が行われている)、カイコとしてはp50, p20系統を用いた(文科省のリソースプロジェクトNBRPで整備、ゲノム情報も整備、公開)。完成したクワコゲノムを染色体別にパッキングした系統について卵、幼虫、繭、蛹、成虫の各ステージで形質評価を行った。研究成果の項目で具体的な結果は述べるが、完成させた系統は、第1染色体から第28染色体までのクワコの個別の染色体をカイコのゲノム内に個別に入れ込んだ形になるので、特定の形質がある完成した系統に出現すれば、直ちに2種の形質の違いを支配する遺伝子の染色体が判明することになる。

4. 研究成果

目標とした27本のクワコ染色体を個別にカイコ染色体へ入れ込んだ系統の育成は第4染色体を除き、完成させることができた。染色体番号別にCT01からCT28とした。CT系列はカイコp50系統で置換されている系統である。当初、第1染色体に関しては難しいと思われたが、飼育世代を1年間で7世代行うことで達成した。またp20系統で置換した系統も一部の系統で作成した。それらの系統群はCM系列とした。完成させた各系統の完成度を評価するため、絹糸腺からDNAを抽出し、ゲノム解析を行い、目的の育系統が育成されていることを確認した。系統育成の際に用いたプライマー領域から染色体末端領域(テロメア)の染色体領域の染色体置換度は低くなった。この点についてについては得られる結果を考察する際に注意する必要がある。完成したコンソミック系統(染色体パッケージ系統群)を用い、卵、幼虫、蛹(繭)、成虫の描く発育ステージでまずは可視形質レベルでの調査を行った。特異に認められた形質について結果を概略する。

卵：カイコとクワコのF1においてはほぼ100%の受精率であるが、F2以降はやや受精率が低下する傾向がある。これは両種の遺伝的相違を示すものであるが、CM06系統では受精率が10%程度に低下することを認めた他、CM20においても低下が認められた。但し、CT06、CT20系統ではそのような低下は認められなかった。ベースとするカイコ系統の違いで結果が相違していることの原因は今後の課題である。CM04、未完成となっているCT04では催青前死卵の割合が高くなる傾向が見られたが、個体間での再現性にはバラツキが見られるので、再現性の確認が必要である。

幼虫：クワコ幼虫は暗色となる。その原因遺伝子はカイコの突然変異体からも第2染色体と考えられてきたが、CT03系統は眼状紋、半月紋の黒色が濃くなることを認めた。CT24の幼虫皮膚は黄色となったがカイコで認められている*Xan*遺伝子がクワコより導入されたことを示唆する結果である。CM01系統では幼虫の発育経過が1日ほど早まると共に虫体サイズの小型化する傾向が見られた。発育経過や個体サイズは栄養条件、季節などの環境要因の影響も大きいので今後再現性を吟味する必要がある。

蛹(繭)：CT09、CT14、CT26においては笹繭性が抑制された。CT14は第14、27染色体の融合系統であり、笹繭抑制はMase et al (2011)らが報告した*G27*遺伝子に対応していると推定している。一方、CM20は笹繭となった。本系統は白繭性のp20系統で置換されているのでクワコの第20染色体には笹繭性に関与する遺伝子の存在が明らかとなった。カイコはシルクを得るために育種されてきた生物であるので、可視形質に加え、繭重、繭層

重、繭の長径、短径、絹糸腺の重量、部位別の長さ等の評価を行った。各評価形質の値は系統ごとに差が見られ、連続的な変化を示した。飼育時期により結果の相違は見られたが、対象染色体ごとに一定の傾向が見られた。繭重に関してはクワコの第21染色体を2本有するコンソミック系統(CT21)はいずれの飼育期においても最も重い結果が得られ、繭重に関する重要な遺伝子が第21染色体に存在することが示唆された。CT24は繭重が軽いグループとなるなどの結果も見られたが、計量形質であるので環境要因を考慮に入れた飼育試験が必要である。

成虫(蛾):クワコの成虫は翅を含めて全体が黒色であり、白色のカイコとの差異が著しい。CT17、CM17では翅の先端部の黒化が、CT18、CT23では体全体の黒化が認められた。これまでのカイコにおける研究では第17染色体起点に黒蛾遺伝子(*Bm*)、同染色体14.7にクワコツマグロ遺伝子(*Ws*)が、第18染色体41.5には暗化型遺伝子(*mln*)が知られていたが、本結果から新たに第23染色体にも黒化に関する遺伝子が存在することが明らかとなった。

以上、作成した染色体置換系統を用い、カイコとクワコの可視形質レベルでの差に対する評価を行ったが、各発育時期で両種の形質差に関わる遺伝子の存在が明らかにされた。今後、本研究で育成された系統を用い、各研究者が種々の方法で解析することで両種の形質差に関する研究の発展が期待される。

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 Fujii T, Kiuchi T, Daimon T, Ito K, Katsuma S, Shimada T, Yamamoto K, Banno Y.	4. 巻 90
2. 論文標題 Development of interspecific semionsomicstrains strains between the domesticated silkworm, Bombyx mori and the wild silkworm, B. mandarina.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Insect Biotechnology and Sericology	6. 最初と最後の頁 33-40.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伴野 豊
2. 発表標題 我が国が保有するカイコバイオリソースの成立過程とその特筆性
3. 学会等名 日本蚕糸学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩下真子・藤井 告・金児 雄・伴野 豊
2. 発表標題 カイコとクワコのコンソミック系統を利用した繭重の遺伝学的解析
3. 学会等名 日本蚕糸学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩下真子・藤井 告・伴野 豊
2. 発表標題 ゲノム情報整備で活用が期待されるカイコとクワコのコンソミック系統の紹介
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 伴野 豊	4. 発行年 2023年
2. 出版社 九州大学大学院農学研究院附属遺伝子資源開発研究センター	5. 総ページ数 278
3. 書名 カイコバイオリソース辞典	

〔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
研究 分担者	金見 雄 (Kaneko Yu) (90633610)	弘前大学・農学生命科学部・准教授 (11101)	

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
---------	---------