

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 8日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580063

研究課題名（和文） カイコの W 染色体の太古の状態を解明する

研究課題名（英文） Analysis of ancient structure of the W chromosome of the silkworm, *Bombyx mori*

研究代表者

阿部 広明（ABE HIROAKI）

東京農工大学・大学院農学研究院・助教

研究者番号：80222660

研究成果の概要（和文）：カイコの雌から雌に伝わる W 染色体の構造を分子生物学的に解析した。カイコの W 染色体は動く遺伝子である多くの「転移因子」が複雑に入りこんだ複雑な入れ子構造をしていた。これらの転移因子は取り除かれることなく挿入が続けられていた。W 染色体は構成と進化(退化)の歴史が他の染色体に比べ、よく保存されていると考えられた。

研究成果の概要（英文）：I analyzed the structure of the W chromosome of the silkworm, *Bombyx mori*. I found that the DNA sequences of the W chromosome comprised nested structures of many transposable elements. The history of the chromosome organization and evolution (degeneration) would be expected to be better preserved on the W chromosome than on the other chromosomes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
21年度	1,600,000	480,000	2,080,000
22年度	1,500,000	450,000	1,950,000
23年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：分子昆虫生物学、性染色体、カイコ

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、昆虫を含む多くの生物でゲノム解析が盛んに行われているが、ほとんどの場合、性染色体の解析は避けて通られているのが実情である。

(2) 上記の理由は、性染色体は転移因子などの繰り返し配列が非常に多く、通常の分子生物学的実験手法では解析そのものが困難だからである。

(3) カイコ W 染色体は、これまでの分子

生物学的解析により、その大部分の領域が転移因子（動く遺伝子）が複雑に入り込んだ「入れ子」構造をしていることが明らかとなっていた。さらにこれらの転移因子は、それらの挿入の歴史的順番を保って保存されていることも明らかとなっていた。

2. 研究の目的

(1) 本研究の目的は、カイコの雌から雌にしか伝わらない W 染色体の DNA 塩基配列情報から、後から侵入し蓄積されて数多くの動く遺伝子（転移因子）の配列を取り除くこと

によって姿を現してくる「太古の W 染色体」を DNA 塩基配列レベルで明らかにすることである。

(2) カイコの祖先種と考えられている野外の「クワコ」の W 染色体も解析し、カイコの W 染色体の DNA 塩基配列と比較する。

3. 研究の方法

(1) カイコのゲノム DNA ライブラリー (BAC ならびに Fosmid で作製) より W 染色体特異的なクローンを拾い出し、その挿入断片の DNA 塩基配列を解析する。

(2) W 染色体特異的塩基配列をデータベースと照合し、個々の転移因子の配列を決定する。そしてそれらの転移因子がどのようにして蓄積してきたのか、挿入の歴史的順番を決定する。

(3) これまでに日本で保存されている蚕品種の W 染色体は基本的にどれも同じであることが明らかとなっていた。このことからカイコ間のみでは W 染色体の比較はできないことが判明したので、日本のいくつかの地域より「雌」の「クワコ」を採集し、カイコの雄と交配を続けることにより W 染色体置換系統を作製した。そしてカイコの W 染色体上の転移因子が入れ子状態になった領域を、クワコの W 染色体と比較した。

4. 研究成果

(1) カイコの W 染色体上の、転移因子が入れ子状態になった領域を、クワコの W 染色体と比較したところ、カイコでは、かなり古い時代に構成されたと考えられる部位が、クワコの W 染色体上にも残っていることが明らかとなった。このことからカイコの W 染色体とクワコの W 染色体は共通の起源を有していたと考えられた。

(2) まだ解析が行われていない W 染色体領域を含む Fosmid クローンをライブラリー中から選び出し、その DNA 塩基配列を解析した。その結果、これまでの分類基準に適合しない転移因子がいくつか同定された。これにより W 染色体構成の歴史が、さらに詳細に明らかとなった。すなわち W 染色体は多くの転移が複雑に入り込む「入れ子」状態で構成されているが、その太古の入れ子状態に、さらに近づくことができた。

(3) カイコ W 染色体とクワコの W 染色体を分子生物学的に比較することは重要であるが、どこのクワコを基準として用いるかは、非常に重要な問題である。最初に得られたクワコ W 染色体は、栃木県由来であった。その他の

地域のクワコ W 染色体は、その栃木のクワコ W 染色体とどれほど異なるのであろうか? 埼玉県の羊山公園、埼玉県の坂戸、東京都の田無、東村山、神奈川県津久井、さらに千葉県、そして東京農工大学農学部桑園で採集されたクワコの「雌」よりカイコの雄との交配によって、クワコ W 染色体を保有する系統を作製し、それぞれの W 染色体を調査した。その結果、どの地域から得られた W 染色体も栃木の W 染色体と、基本的には同一であることが明らかとなった。すなわち、関東地方のクワコは、W 染色体に関しては多型がないと考えられた。

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 13 件)

- ① Daimon, T., M. Yago, Y-F. Hsu, T. Fujii, Y. Nakajima, R. Kokusho, H. Abe, S. Katsuma and T. Shimada (2012): Molecular phylogeny, laboratory rearing and karyotype of the bombycid moth, *Trilocha varians* (Lepidoptera: Bombycidae: Bombycinae). *Journal of Insect Science* Vol. 12, Article 49. (査読有)
- ② Fujii, T., H. Abe, K. Yamamoto, S. Katsuma and T. Shimada (2011) Interspecies linkage analysis of *mo*, a *Bombyx mori* locus associated with mosaicism and gynandromorphism. *Genetica* Vol. 139, 1323-1329. (査読有) doi:10.1007/s10709-012-9634-0
- ③ Fujii, T., T. Fujii, S. Namiki, H. Abe, T. Sakurai, A. Ohnuma, R. Kanzaki, S. Katsuma, Y. Ishikawa and T. Shimada (2011): Sex-linked transcription factor involved in a shift of sex-pheromone preference in the silkworm *Bombyx mori*. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* Vol. 108 (44), 18038-18043. (査読有) doi:10.1073/PNAS.1107282108/-/DCSupplemental.
- ④ 藤井 告・阿部広明・嶋田 透 (2011): 油蚕とメンブレントラフィック. 蚕糸・昆虫バイオテック 80 巻、93-102.
- ⑤ Kawaoka, S., K. kadota, Y. Arai, Y. Suzuki, T. Fujii, H. Abe, Y. Yasukochi, K. Mita, S. Sugano, K. Shimizu, Y. Tomari, T. Shimada and S. Katsuma (2011): The silkworm W chromosome is a source of female-enriched piRNAs. *RNA*

- Vol. 17, 2144-2151. (査読有)
doi:10.1261/rna.027565.111
- ⑥ Fujii, T., H. Abe, S. Katsuma and T. Shimada (2011): Identification and characterization of the fusion transcript, composed of the apterous homolog and a putative protein phosphatase gene, generated by 1.5-Mb interstitial deletion in the vestigial (Vg) mutant of *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* Vol. 41 (5), 306-312. (査読有)
doi:10.1016/j.ibmb.2011.01.007
- ⑦ Abe, H., T. Fujii, T. Shimada and K. Mita (2010): Novel non-autonomous transposable elements on the W chromosome of the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Genetics* Vol. 89 (3), 375-387. (査読有)
- ⑧ Fujii, T., H. Abe and T. Shimada (2010): Molecular analysis of sex chromosome-linked mutants in the silkworm *Bombyx mori*. *Journal of Genetics* Vol. 89 (3), 365-374.
- ⑨ Daimon, T., M. Mitsuhiro, S. Katsuma, H. Abe, K. Mita and T. Shimada (2010): Recent transposition of yabusame, a novel piggyBack-like transposable element in the genome of the silkworm, *Bombyx mori*. *Genome* Vol. 53 (8), 585-593. (査読有)
- ⑩ Kidokoro, K., K. Ito, D. O. Ogoi, H. Abe, K. Mita and K. Kadono-Okuda (2010): Non-susceptibility to *Bombyx densovirus* type 1, Nid-1 and nsd-1, affect distinct steps of the viral infection pathway. *Journal of Invertebrate Pathology* Vol. 103, 79-81. (査読有)
- ⑪ Fujii, T., S. Kuwazaki, K. Yamamoto, H. Abe, A. Ohnuma, S. Katsuma, K. Mita and T. Shimada (2010): Identification and molecular characterization of a sex chromosome rearrangement causing a soft and pliable (spli) larval body phenotype in the silkworm, *Bombyx mori*. *Genome* Vol. 53, 45-54. (査読有)
- ⑫ Kawaoka, S., N. Hayashi, Y. Suzuki, H. Abe, S. Sugano, Y. Tomari, T. Shimada and S. Katsuma (2009): The *Bombyx* ovary-derived cell line endogenously expresses PIWI/PIWI-interacting complexes. *RNA* Vol. 15 (7), 1258-1264. (査読有)
- ⑬ Fujii, T., M. Ozaki, T. Masamoto, S. Katsuma, H. Abe and T. Shimada (2009): A *Bombyx mandarina* mutant exhibiting translucent larval skin is controlled by the molybdenum cofactor sulfurase gene. *Genes and Genetic Systems* Vol. 84, No. 147-152. (査読有)
- [学会発表] (計 15 件)
- ① 藤井 告・川本宗孝・阿部広明ら、カイコのアルビノ(aI)はテトラヒドロビオプテリン (BH4) 生合成関連遺伝子に変異を持つ。第 56 回日本応用動物昆虫学会大会、2012 年 3 月 28 日、近畿大学農学部。
- ② 惣中祐季・阿部広明・普後 一ら、イチジクカサンの W 染色体 RAPD マーカーの探索。日本蚕糸学会第 82 回大会、2012 年 3 月 19 日、九州大学箱崎キャンパス。
- ③ 藤井 告・久保真紀・阿部広明ら、第 11 染色体を部分的に欠失したカイコの食性異常。日本蚕糸学会第 82 回大会、2012 年 3 月 19 日、九州大学箱崎キャンパス。
- ④ 藤井 告・阿部広明・川本宗孝ら、カイコの Ge (giant egg) 系統で同定した伴性遺伝子の構造異常。日本蚕糸学会第 82 回大会、2012 年 3 月 18 日、九州大学箱崎キャンパス。
- ⑤ 藤井 告・阿部広明・木内隆史ら、p50T 系統に生じた新規突然変異の遺伝学的解析。日本蚕糸学会第 81 回大会、2011 年 3 月 21 日、東京大学農学部キャンパス。
- ⑥ 横山 岳・檜山はる・阿部広明ら、桑園におけるクワコ (*Bombyx mandarina*) の産卵性について。日本蚕糸学会第 81 回大会、2011 年 3 月 21 日、東京大学農学部キャンパス。
- ⑦ 阿部広明・横山 岳・高田 守ら、カイコとクワコの W 染色体に共通して存在する転移因子の入れ子状態。日本蚕糸学会第 81 回大会、2011 年 3 月 21 日、東京大学農学部キャンパス。
- ⑧ 藤井 告・桑崎誠剛・阿部広明ら、融合染色体の解離と Z 染色体および第 13 染色体への再転座。日本蚕糸学会第 81 回大会、2011 年 3 月 21 日、東京大学農学部キャンパス。
- ⑨ 阿部広明・横山 岳・普後 一ら、クワコの幼虫に寄生するハチ。日本蚕糸学会第 81 回大会、2011 年 3 月 21 日、東京大学農学部キャンパス。
- ⑩ 阿部広明・横山 岳・高田 守ら、カイコとクワコ W 染色体に共通して存在する転移因子の入れ子状態。日本蚕糸学会関東支部第 61 回大会、2010 年 11 月 18 日、蚕糸会館 6 階。
- ⑪ 久保真紀・藤井 告・阿部広明ら、カイ

- コ第11染色体の塩基配列上での火傷Buの原因領域の絞り込み。日本蚕糸学会関東支部第61回大会、2010年11月18日、蚕糸会館6階。
- ⑫ 藤井 告・阿部広明・山本公子ら、moはカイコの第14染色体に連鎖する。日本蚕糸学会関東支部第61回大会、2010年11月18日、蚕糸会館6階。
- ⑬ 藤井 告・藤井 毅・阿部広明ら、カイコの伴性突然変異 spli と Bt に認められる性フェロモン応答性の異常。公開シンポジウム「複合適応形質の進化」、2010年9月17日、東京大学農学部2号館。
- ⑭ 藤井 告・伴野 豊・阿部広明ら、青熟油(oa)の原因遺伝子はBmHPS5である。日本蚕糸学会第80回記念大会、2010年4月4日、信州大学繊維学部。
- ⑮ 藤井 告・阿部広明・勝間 進ら、カイコの伴性突然変異Vg(痕跡翅)に特異的なptpとapterousの融合遺伝子。第54回日本応用動物昆虫学会大会、2010年3月27日、千葉大学西千葉キャンパス。

[図書] (計2件)

- ① Abe, H. and Fujii T. (2009): Molecular characteristics of the W chromosome, Z chromosome and Retrotransposable elements of the silkworm, Bombyx mori. In "Short views on International Insect Molecular Biology" Published by Insect Molecular Biology Unit Bharathidasan University, India. 203-228. (ISBN: 81-7813-364-010)
- ② Abe, H., Fujii, T. and Shimada, T. (2010): Sex Chromosomes and Sex determination in Bombyx mori. In "Molecular Biology and Genetics of Lepidoptera (Contemporary Topics in Entomology)" Crc Pr Lic pp. 65-87. (ISBN: 978-1420060147)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阿部 広明 (ABE HIROAKI)
東京農工大学・大学院農学研究院・助教
研究者番号：80222660

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし