九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

[18]ニュースレター : おかいこさま

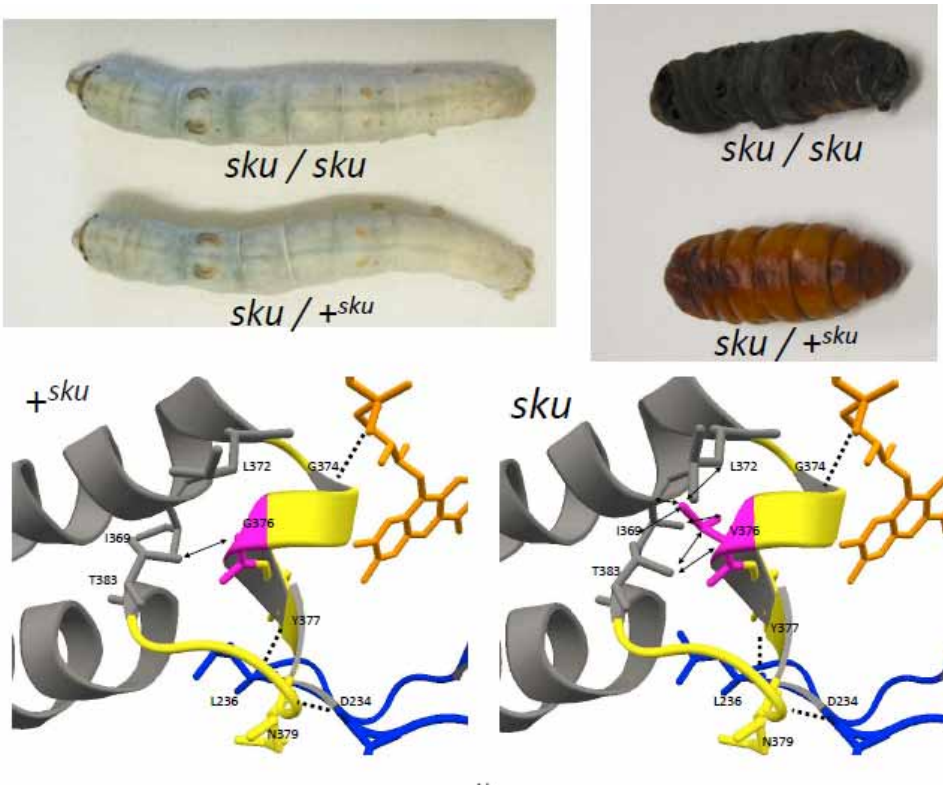
https://doi.org/10.15017/19792

出版情報：ニュースレター : おかいこさま. 18, pp.1-4, 2010-12-15. 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
バージョン：
権利関係：

2010 ニュースレター “おかいこさま“ No.18

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 22 年 12 月 15 日発行　第 18 号
http://www.nbrp.jp/index.jsp



カイコの突然変異「臭蚕（くさこ）」（*skunk; sku*）

●カイコの保存系統とゲノムリソースの組み合わせ―臭蚕遺伝子の同定を例として

東京大学大学院農学生命科学研究科
嶋田　透

カイコには数百の形質突然変異が知られている。カイコのゲノム情報が整備されるのに伴って、日本と中国では、突然変異形質の原因となる遺伝子を単離する研究が急速に活発化している。原因遺伝子をクローニングするには、２つの方法がある。一つは純然たるポジショナルクローニングであり、当該染色体の上に多数の DNA 多型マーカーを設定し、形質とマーカーの組換え価を利用して候補領域を絞り込んでゆく方法である。もう一つはキャンディデートクローニング(候補遺伝子クローニング)である。これは、変異形質の特徴や過去の研究から、ある程度形質の原因が推定できる場合に有効な方法である。カイコでは、多くの突然変異に関して形態学的あるいは生理生化学的な解析が試みられており、その情報を利用すると遺伝子を効率的に単離できる場合がある。筆者らの研究室で最近、原因遺伝子を決定することができた「臭蚕」を例にして、候補遺伝子クローニングにおけるゲノムリソースの利用と変異系統の利用を述べ、その組み合わせが有効であることを説明したい。

臭蚕は、最初、カネボウシルクの宮下氏（当時）が同社の蚕室で発生した悪臭の原因を探る過程で見いだされた系統で、東大の吉武教授（当時）の研究室へカイコが持ち込まれて、一種の突然変異であると判定されたものである。吉武らによる研究で、問題の悪臭の原因が、ホモ個体に蓄積するイソ吉草酸であることが明らかにされ、遺伝子名「臭蚕（くさこ）」(*skunk*; 遺伝子記号 *sku*)と命名された(1)(2)。ヒトでも「イソ吉草酸血症」という独特の体臭を伴う遺伝病が知られており、臭蚕はヒトの遺伝病のモデルとしても有用である。

臭蚕変異体は、1976 年に東大から九大に移管され、以後も系統維持が続けられた。九大の大学院生であった蜷木氏（現農工大教授）らの努力によって、*sku* が第 22 連関群に所属することが明らかになり(3)、やがて同連関群の別の遺伝子 *or* と連鎖させて継代することで *sku* 遺伝子を逸失しないように工夫された。現在、NBRP では a85 系統として登録されている。

せっかく九大で便利な系統が作られたが、30 年以上もの間、臭蚕の原因遺伝子は明らかにされなかった。私は、急速に蓄積してきたカイコのゲノム情報を扱いながら、その原因遺伝子を簡便に同定する方法を考えた。ヒトの「イソ吉草酸血症」に関する文献を読むと、この遺伝病の原因の大半は、イソバレリル CoA 脱水素酵素（IVD）の遺伝子の変異による酵素活性の低下であるとされていた。そこで、ヒト IVD の配列をクエリーにしてカイコゲノムを探索してみたところ、Bm_scaf18 というスキャフォルドに相同な塩基配列を見つけた。Bm_scaf18 は第 22 染色体の一部であり、私たちがかつてマッピングした前胸腺刺激ホルモン遺伝子 *Ptth* もそこにある。臭蚕遺伝子（*sku*）は第 22 連関群の 19.3 に存在し、*Ptth*（22-5.8）と *sku* の間の遺伝的距離は塩基配列上の距離と符合している。そこで、臭蚕の原因がカイコ IVD 遺伝子（*BmIVD*）であろうと推定した。

その後、研究室の卒論学生だった浦野慶君が、臭蚕の研究をテーマとすることになり、大門助教の指導で分子レベルの研究を進めた。*BmIVD* と推定される断片配列をクエリーにしてカイコ EST データベースを探索したところ、胚子や中腸などに由来する５個の EST が存在することが分かった。NBRP の支援で整備された東大の EST ライブラリーに含まれているクローン fdpeP14F20 が、ほぼ完全長の *BmIVD* cDNA であると予想されたので、その塩基配列を決定した。年度途中で、NBRP が始まる前では分譲が不可能であった初秋に、中核機関の九大（代表：伴野准教授）から a85 系統の幼虫を分譲していただき、それを用いて、*BmIVD* に変異が存在するかどうか検討した。その結果、1127 番目の塩基が置換しており、コードするアミノ酸残基がグリシンからバリンへ変異していた。この変異によって IVD 活性が失われることは、バキュロウイルス発現系で得た組み換えタンパク質の酵素活性の測定で証明した。遺伝学的にも、*BmIVD* と *sku* の間で組換えがまったく起きないことを実証した。臭蚕の *BmIVD* のアミノ酸置換は、ヒトの遺伝病では知られていない部位の変異であり、IVD の構造や機能に新たな知見を加えることになった(4)。

以上述べた臭蚕の研究例では、九大の系統リソースと東大の cDNA リソースの双方が揃っていたからこそ結果を出すことができた。カイコの遺伝学には 100 年以上の長い歴史があり、先人たちの研究業績は論文や講演要旨の形で残されている。これらの蓄積は、文献の形で書庫に収まっているだけでは意味がなく、作成されたカイコが系統として継代されて

こそ利用価値がある。また、ゲノム情報は単なる情報としてディスクに蓄えられているだけでは不十分である。ゲノム情報のソースとなった DNA ライブラリーや cDNA のストックがきちんと管理され、利用者へ常時提供できるように整備されていることが大切である。さらに言えば、系統も DNA も研究者に利用され、そして研究成果が上がらなければ、やはり意味が問われることになる。より活用されるようなリソースの持ち方と見せ方を工夫してゆきたい。

(1) 吉武成美・小林正彦・宮下民雄（1978）蚕の新らしい突然変異臭蚕について．日蚕雑 47: 32-34.
(2) 吉武成美・小林正彦・小川洋子（1978）臭蚕の糞に存在する臭物質について．日蚕雑 47: 161-165.
(3) 蜷木理・土井良宏・吉武成美（1996）臭蚕の遺伝学的研究．日蚕雑 65: 436-440.
(4) Urano, K., Daimon, T., Banno, Y., Mita, K., Terada, T., Shimizu, K., Katsuma, S., and Shimada, T. (2010) Molecular defect of isovaleryl-CoA dehydrogenase in the *skunk* mutant of silkworm, *Bombyx mori*. FEBS Journal, 277, 4452-4463.

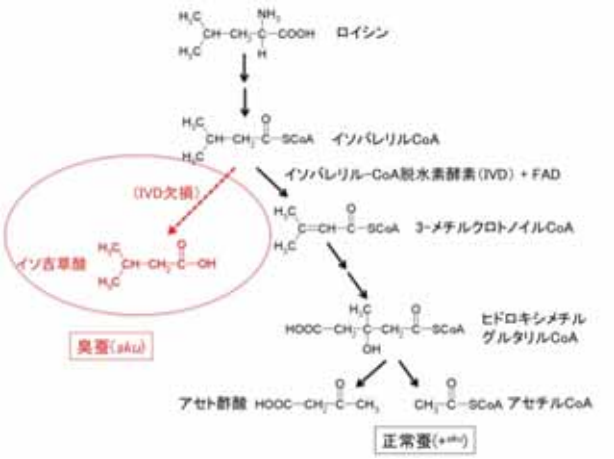


図 1. 臭蚕におけるイソバレリル CoA 脱水素酵素の欠損によるイソ吉草酸の蓄積

表紙の説明

体や糞が悪臭を放ち、終齢幼虫～蛹期に致死する。原因は、イソバレリル CoA 脱水素酵素の 376 番目のアミノ酸残基がグリシンからバリンへ変異し、酵素活性を失ったために、悪臭物質のイソ吉草酸が蓄積してしまうことである。
（Urano, K. *et al.*, 2010 より）

●カイコ配布に際しての課金のお願い

NBRP では送料のみでバイオリソースを提供しておりました。しかし、2010 年 4 月 1 日から提供業務に関して発生する費用についてユーザーの皆様にお支払いを頂く課金制度を実施することになりました。皆様方には新たなご負担を頂くことになりますが、バイオリソースを安定的に提供するシステムを国として作る大きな目的のもと、NBRP 参加のバイオリソースは全てが対象となりますのでどうぞご理解の程を宜しくお願いいたします。尚、この件の背景についは下記に詳しく掲載しておりますのでご覧下さい。
『ナショナルバイオリソースプロジェクトにおける実費徴収および知的財産権の保護のあり方に関する報告書』　http://www.nbrp.jp/office/index.files/data/nbrpCommittee2.pdf

＜具体的な手続きと支払い方法＞

材料の受取はこれまで通りのようにスムーズに行いますので、従来のように注文をお寄せください。希望日に応じてお送りします。変更点は課金による支払いが発生し、後日請求書が届く点です。消耗品の支払いのように納入をお願い致します。但し、一部の皆様には前納をお願いすることになりますのでご留意ください。前納を必要とする方は、科学研究費補助金取扱規程の中で「学術研究機関」とされていない機関になります。提供価格についての詳細は http://www.shigen.nig.ac.jp/silkwormbase/index.jsp に記載しました。同ホームページでは、Web オーダーも可能であり、注文と同時に凡その金額がわかるシステムを整備しましたのでご利用ください。皆様にはご面倒をかけますがご理解とご協力を宜しくお願いいたします。

分譲可能なリソースの紹介

●九州大学（中核機関）

2010 年度の飼育スケジュール

表を目安に連絡を頂ければ分譲します。時期が合わない場合には中核機関九州大学までご連絡下さい。

時期	孵化日	幼虫時期	蛹時期
1 期	5 月 7 日	5 月 7～27 日	5 月 27～6 月 7 日
2 期	6 月 25 日	6 月 25～7 月 15 日	7 月 15～25 日
3 期	8 月 20 日	8 月 20～9 月 9 日	9 月 9～19 日
4 期	10 月 8 日	10 月 8～28 日	10 月 28～11 月 7 日
5 期	11 月 26 日	11 月 26～12 月 16 日	12 月 16～26 日

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、SilkwormBase 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）

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ます。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ます。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ます。

＜問い合わせ先＞　瀬筒秀樹　hsezutsu@affrc.go.jp

●東京大学（サブ機関）

カイコの BAC クローン、fosmid クローン、cDNA クローン、クワコの fosmid クローン、およびエリサンの cDNA クローンを分譲しています。カイコとエリサンの cDNA については、以下のウェブサイトで BLAST などにより検索することができます。

http://morus.ab.a.u-tokyo.ac.jp/　ほかに未整理の情報もあるので、不明な点は下記へお問い合わせください。

＜問い合わせ先＞

嶋田　透　toru@ss.ab.a.u-tokyo.ac.jp

●信州大学（サブ機関）（野蚕関係）

1 回当たりの分譲数を増強しています。

下記の野蚕の分譲を行っています。今年度から 1 回あたりに提供する数量を増やすことにしました。卵 100 粒以上、幼虫・蛹・成虫のいずれか 20 頭以上をご希望の場合は予めご相談ください。これらの場合は準備の都合上ご利用予定の一か月以上前にご連絡くださいますようお願い申し上げます。管理、質の向上に一層の努力を重ねたい思いを強くしております。お問い合わせは下記までお願いします。

＜問い合わせ先＞　梶浦善太　zkajiur@shinshu-u.ac.jp

種　名	ステージ	時期	提供
ヤママユガ	卵(休眠状態)	9 月～翌年 6 月	～100 粒
	幼虫	6 月	～20 頭
	蛹	7 月～8 月	～20 頭
	成虫	8 月	～20 頭
サクサン	卵(非休眠)	4 月～8 月	～100 粒
	幼虫	6 月～8 月	～20 頭
	蛹(休眠)	9 月～翌年 4 月	～20 頭
	成虫	4 月～8 月	～20 頭
エリサン	卵(非休眠)	隔月	～100 粒
	幼虫	隔月	～20 頭
	蛹(非休眠)	隔月	～20 頭
	成虫	隔月	～20 頭

卵は微粒子病検査済みです。

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