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

[38]ニュースレター ： おかいこさま

https://doi.org/10.15017/1831392

出版情報：ニュースレター ： おかいこさま. 38, pp.1-, 2017-08-31. 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：

KYUSHU UNIVERSITY

2017
ニュースレター “おかいこさま”

No.38

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 29 年 8 月 31 日発行　第 38 号
http://www.nbrp.jp/index.jsp

野蚕リソースへの生殖巣凍結保存技術の応用

凍結保存した生殖巣を移植して得た次世代幼虫
（上）エリサン、（下）シンジュサン

野蚕リソースへの生殖巣凍結保存技術の応用

九州大学　NBRP学術研究員　福森寿善

・生殖巣凍結保存技術とは

カイコ系統を保存するには、通常休眠状態の卵で行ないます。しかし、その保存は1年が限度（系統によって2年）で、長期保存が長年の課題でした。NBRPではその実用化に取り組み、既存の卵巣凍結保存技術をベースに、新たな操作を加えることで、実用可能な技術を見出しました。今回、同技術は、カイコに近縁な野蚕リソースへも可能であることが分かりましたので、以下に紹介したいと思います。

・具体的な方法は？

上記では卵巣を用いた保存について言及しましたが、凍結保存方法は大きく分けて3通りの方法が試みられてきています。その方法は、幼虫の未成熟な生殖巣を凍結する方法[1]、雄成虫から回収した精子を凍結する方法[2]、そして、産下された卵を凍結する方法[3]の3通りです。これらのうち生殖巣を用いる方法を我々の研究室では最も頻繁に用いています。具体的には、幼虫から未成熟な生殖巣を取り出して液体窒素下で凍結保存したものを、解凍後、生殖巣を取り除いた他個体に移植します。その移植個体を成虫まで育てて交配させることで、凍結した生殖巣由来の次世代個体を得ることができます。

・どのくらい実用化されているのか

凍結保存技術は、多くの系統が存在するカイコを保存する事を目的に発展してきました。カイコではすでに評価した373系統中306系統で卵巣を用いた凍結保存が有効であること、評価した315系統中136系統で精子を用いた凍結保存が有効であることが確かめられ、実用化されています。

・カイコ以外の昆虫に凍結保存技術を応用することは可能か？

エリサンはカイコと同様に実験動物として用いられている昆虫で本NBRPプロジェクトでも維持、継代しています。エリサンは休眠しない昆虫ですので、年間を通して飼育する必要があります。そのため、このリソースの維持は大変です。エリサンの維持が凍結保存で可能となれば、リソース事業は大変安定します。実験結果の概要ですが、摘出したエリサンの卵巣を凍結し、別のエリサン個体に移植したところ、90％以上の移植個体が産卵しました。また、凍結精巣を移植した場合では65％の移植個体に受精能力が認められました[4]。このことから、カイコで実用化された生殖巣を用いた凍結保存技術は、他の昆虫種の保存にも応用できることが示されました。カイコでは凍結精巣移植は成功率が低く、改良の必要はありますが、昆虫種によっては現在カイコに用いている方法でも精巣も卵巣と同様の方法で凍結保存が可能であることが明らかになりました。

また、シンジュサンは野外に生息するエリサンの近縁種ですが、その生殖巣についても同様に凍結と移植を行なったところ、凍結卵巣を移植した個体の86％が産卵し、凍結精巣を移植した個体の11％に受精能力のあることが確かめられました[4]。凍結精巣移植の成功率を高めることは今後の課題ですが、凍結した生殖巣からの野外昆虫の復元に初めて成功しました。

・広がる昆虫種の凍結保存への期待

凍結保存した生殖巣を移植した個体から孵化幼虫を得るには、産卵可能な雌個体と受精能力のある雄個体の組合わせで交配させる必要があります。雌側と雄側の両方で比較的高い成功率を示した上記のエリサンの場合でも、移植個体どうしを交配させた場合に90％×65％＝58.5％のペアからしか受精卵を得られないという計算になります。また、実際に交配させてみると予想以上に受精卵が少なくなるという事態も起こり得るため注意が必要です。

実際に移植個体どうしを交配させたところ、エリサンでは交配させた12ペア中7ペアから受精卵が得られました。また、1ペア当たり105.7頭の孵化幼虫が得られたことから、エリサンは生殖巣を用いた凍結保存が実用可能であると判断できました（表1）[4]。一方、シンジュサンでは孵化幼虫が1頭も得られない場合もあり得ることや、孵化幼虫が得られても1

表1　卵巣を移植した雌と精巣を移植した雄の交配で得られた産下卵の孵化率

移植生殖巣	実験区	交配組数（A）	産卵蛾数（B）	産卵蛾率（％）（B/A）	産卵数	受精卵産卵蛾数（C）	受精卵産卵蛾率（％）（C/B）	孵化頭数
エリサン		12	8	66.7	163.0±145.4	7	87.5	105.7±109.6
シンジュサン	1	13	10	76.9	57.6±58.3	0	0.0	−
	2	12	11	91.7	118.0±72.2	5	45.5	6.4±8.5

ペア当たり6.4頭と非常に少なくなることが示されました（表1）[4]。実用化するにはさらなる検討が必要ですが、野外に住む昆虫を凍結保存できたことは大きな成果であるといえます。（表紙参照：エリサンは白色、シンジュサンは薄い緑色をしている。）

・野外昆虫を凍結保存する必要性

地球上には数多くの昆虫種が生息していますが、近年では人間による開発や地球温暖化等による生育環境の変化によって生息域が減少し、多くの昆虫種が絶滅の危機に瀕している状態にあります。一度絶滅してしまうと、復元することは出来ません。しかし、凍結保存していれば絶滅した昆虫種を復活させることが可能です。そこで、万が一の場合に備えて野外昆虫を凍結保存しておくことが重要となります。

・絶滅した昆虫種の復元はどのように行なうのか

先ほど示したシンジュサン生殖巣の移植では、実は凍結したシンジュサンの生殖巣をエリサンに移植して交配させています。ここで重要なことは、シンジュサンの凍結生殖巣をエリサンの体内でも成熟させることができ、移植した生殖巣の遺伝子が母体のものと置き換わらないということ、すなわち、エリサンを母体としてシンジュサンを生ませることができるということです。これは、絶滅した昆虫種の復元を想定した場合に、現存する近縁種をその母体として利用できることを示しています。このようにして、卵巣を移植した雌個体と精巣を移植した雄個体を交配させることで絶滅した昆虫種を復元できると考えています（図1）。

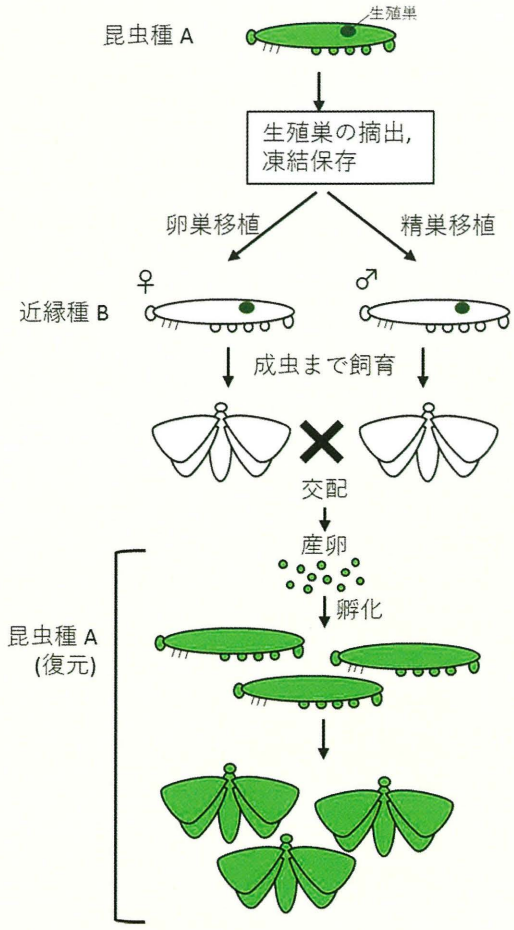


図1. 凍結生殖巣を用いた絶滅昆虫種の復元
絶滅が危惧される昆虫種Aから生殖巣を摘出し凍結保存しておく。昆虫種Aが絶滅した場合、その近縁種であるBにAの生殖巣を移植する。移植個体どうしを交配させることで、絶滅種Aを復元することができる。

引用文献

[1] Banno et al. (2013) Cryobiology, 66, 283-287.
[2] Takemura et al. (2000) J. Insect Physiol., 46, 491-497.
[3] Fukumori et al. (2016) J. Insect Biotech. Sericol., 85, 49-53.
[4] Fukumori et al. (2017) Cryobiology, 77, 71-74.

〈NBRPから分譲リソースを利用する際の謝辞のお願い〉

NBRPから分譲を受けて行なった研究成果の発表、また展示等を行なう場合は下記のような謝辞を明記していただくようお願い致します。記載箇所は、Materials and MethodsあるいはAcknowledgmentsのどちらでも構いません。プロジェクトが末永く続く上で重要となると共に、実験結果の再現性を保証するものとして重要ですので宜しくお願い致します。

〈文例〉

1）本研究で使用したカイコ系統は文部科学省主催のナショナルバイオリソースプロジェクト（カイコ）を活用して行った。
2）Silkworm strains used in this study were supported by the National Bio-Resource Project (NBRP) of the MEXT, Japan.
3）Materials (silkworms, relating DNA clones or their information) were provided by the National Bio-Resource Project (NBRP) of the Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan.

分譲可能なリソースの紹介

●九州大学（代表機関）

2017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 5日	5月5 ～ 25日	5月28 ～ 6月5日
2期	6月23日	6月23 ～ 7月13日	7月16 ～ 24日
3期	8月11日	8月11 ～ 31日	9月3 ～ 11日
4期	9月28日	9月28 ～ 10月18日	10月21 ～ 29日
5期	11月15日	11月15 ～ 12月5日	12月8 ～ 16日
6期	1月11日	1月11 ～ 31日	2月3 ～ 11日

・クワコについてもホームページに記載し、九州大学・東京大学より提供していますのでお問い合わせください。卵、日本各地から採種したクワコのDNAサンプルを用意しています。

・リソース情報は下記SilkwormBaseをご利用下さい。http://www.shigen.nig.ac.jp/silkwormbase/index.jsp

SilkwormBaseのご不明な点はいつでもお問い合わせください。

●東京大学（分担機関）

新事業として、培養細胞を分譲しますのでご利用下さい。従来通り、カイコのcDNA 34万クローン、同Fosmid 15万クローン、エリサンのcDNA 2万クローン、クワコのFosmid 15万クローンも分譲を続けます。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://silkbase.ab.a.u-tokyo.ac.jp/nbrp/

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（分担機関）（野蚕関係）

日本に生息するヤママユガ科ガ類を扱っています。ホームページをご覧ください。

http://www.shigen.nig.ac.jp/wildmoth/index.jsp

大量にご希望の場合はご使用予定より1カ月以上前、または私どもが飼育を始める前の4月上旬まで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。

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	～ 5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	～ 5頭

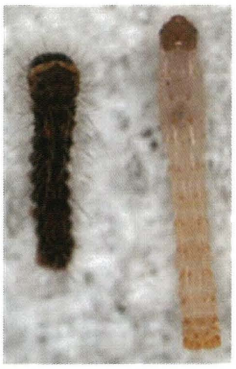
他にオオミズアオ、ウスタビガ、ヒメヤママユ、シンジュサン、エゾヨツメなどを扱っています。不明な点は下記にお問い合せ下さい。

〈問い合わせ先〉梶浦善太　zkajiur@shinshu-u.ac.jp

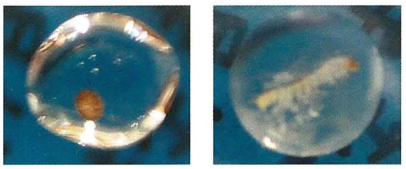
●胚子での凍結保存の可能性は？

卵を物理的な衝撃や乾燥から守っていると考えられる卵殻を除去しても胚は生存可能である。卵殻を除去した卵は、乾燥を防ぐために水滴状にした培地内で逆さにして培養（懸滴培養：下図）すると、数日後に孵化する。孵化幼虫は着色せず白いが、桑の葉を食べて成長できる。脱皮して2齢になると本来の体色に戻る。胚子を凍結保存出来ないか取組んでいるが、成功には至っていない。

（謝辞）：技術の習得には大日本蚕糸会蚕業技術研究所　持田裕司氏、竹村洋子氏の支援を頂いた［福森記］。



写真左、無処理の卵から孵化した幼虫
写真右、除殻卵の懸滴培養によって孵化した幼虫



〈懸滴培養の様子；左、培養開始、右、孵化幼虫〉

ニュースレター“おかいこさま”について

蚕は我が国の重要な農業生物でした。農家で大切に飼育される蚕は家のお座敷で養われる程で、「おかいこさま」「お蚕（こ）様」と呼ばれ今日に至っています。カイコは日本人にとって特別な昆虫です。皇居内のご養蚕所では皇后様が毎年、「おかいこさま」を養われています。

「おかいこさま」は世界の何処にもない日本独自なバイオリソースです。日本発のライフサイエンス素材からオリジナルな研究を展開する情報誌の名前として用いています。

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」課題代表　伴野　豊
TEL　092-624-1011　banno@agr.kyushu-u.ac.jp