

カイコゲノム研究の現状と今後の展開

誌名	蚕糸・昆虫バイオテック = Sanshi-konchu biotec
ISSN	18810551
著者名	山本, 公子
発行元	日本蚕糸学会
巻/号	78巻2-3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 99-102
発行年月	2009年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



特集 シンポジウム「カイコゲノム情報の今後の展開」

カイコゲノム研究の現状と今後の展開

山本 公子

農業生物資源研究所 昆虫ゲノム研究・情報解析ユニット

1. はじめに

カイコのゲノム解読は、蚕糸業における絹生産、絹タンパク質を中心としたカイコが生産する物質の医療・化粧品産業などへの応用、カイコを利用した有用タンパク質の生産、重篤な被害をもたらす農業害虫である鱗翅目(チョウ目)昆虫のモデル生物としてのカイコ、の4つの重要性から推進されてきた。当初、日本と中国が独立にゲノム塩基配列解析を進め、それぞれの結果を2004年に公表してきたが、その後、両国が協力して2008年に日本・中国の統合ゲノム解析情報が公開された。さらに、同年、農業生物資源研究所では、得られたカイコゲノム研究の成果をまとめ、全ゲノムの91%をカバーするカイコゲノム情報に加えて、発現遺伝子情報や地図情報等の各種ゲノム情報を統合したデータベース KAIKObase を構築し公開した。今後、絹の品質や収量につながる遺伝子の同定、微生物や培養細胞では難しい有用タンパク質の生産技術の開発、重要害虫を多く含む鱗翅目昆虫の研究、等が飛躍的に進むものと期待されている。

2. カイコゲノム研究の成果

カイコゲノム研究では、全ゲノムショットガン法によるゲノム塩基配列解析に加え、BAC (Bacterial artificial chromosome) 物理地図および SNPs (Single nucleotide polymorphisms) 連鎖地図の構築、cDNA 塩基配列解析とマイクロアレイによる発現遺伝子解析を平行して進め

てきた。2008年それらの成果を機能的にリンクした統合化データベースとして KAIKObase (図1) を構築した。KAIKObase は <http://sgp.dna.affrc.go.jp/KAIKObase/> で公開しており誰でも容易にカイコの情報を得ることができる。以下に KAIKObase 上で利用可能なカイコゲノム情報を紹介する。

(1) ゲノム塩基配列解析

日本 (Mita *et al.*, 2004) と中国 (Xia *et al.*, 2004) の各々から公開された全ゲノムショットガン塩基配列データを統合したカイコのゲノムサイズ (475 Mb) の 8.48 倍の塩基配列データに、30 万リードの fosmid 末端および 15 万リードの BAC 末端塩基配列データをあわせて再アセンブルを行った (The International Silkworm Genome Consortium, 2008)。その結果、カイコのゲノムサイズの 91% に相当する 432 Mb の高精度アセンブリデータが得られ、スキャホールドの N50 値は統合前の 38 kb から 3.7 Mb と飛躍的に改良された。カイコゲノムは多くの transposable element を含んでおり、43.6% がリピート配列であった (Osanai-Futahashi *et al.*, 2008)。

(2) 地図情報

BAC 物理地図情報については、カイコ BAC ライブラリー (81,024 クローン) の両末端塩基配列情報 (Suetsugu *et al.*, 2007) およびフィンガープリントコンティグ情報を得ることができ、興味のあるゲノム領域を BAC クローンとして取得できる。SNP 連鎖地図情報では、これまでに構築した約 2,000 個の BAC マーカーが座乗した高密度 SNP 連鎖地図 (Yamamoto *et al.*, 2006, 2008) をベースに、28 本の染色体に対してゲノムの 87.4% に相当す

KAIKObase トップ画面

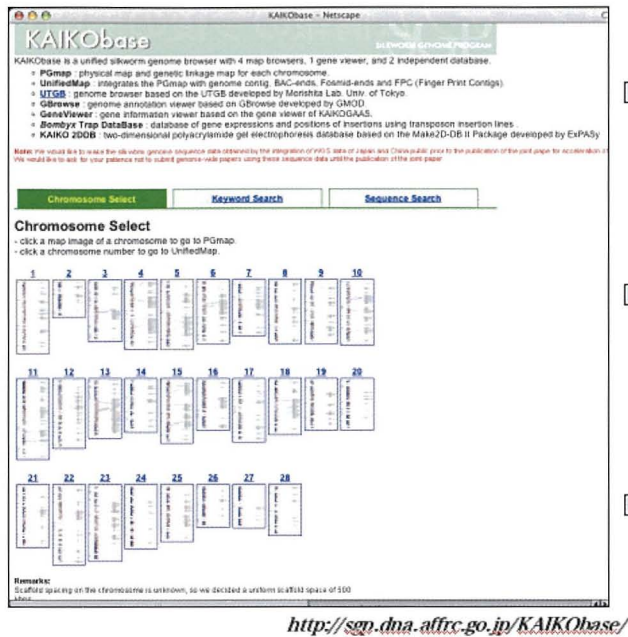


図 1. KAIKObase の画面

1. 染色体の物理地図—遺伝地図



2. Keyword検索



3. BLAST検索



るアセンブリスキャフォールドを添付した。これは後述するポジショナルクローニング法による突然変異遺伝子の同定に非常に有効である。

(3) 発現遺伝子解析

これまでに、様々な組織から 36 の EST (Expressed sequence tag) ライブラリーを整備し、3 万 5 千クローンの塩基配列を決定した (Mita *et al.*, 2003)。また、20 の完全長 cDNA ライブラリーを整備し 1 万クローンの塩基配列を決定した。遺伝子予測ソフト BGF によるカイコの遺伝子数は、約 16,300 である。今後は、さらに完全長 cDNA 解析を進める必要がある。

(4) KAIKObase の構成

カイコ統合化データベース KAIKObase は、主に次の 5 つのブラウザおよびビューアで構成されている。PGmap；染色体毎にゲノムアセンブリスキャフォールドと SNP 連鎖地図の対応を示したブラウザ。UnifiedMap；PGmap にゲノムアセンブリコンティグ情報、BAC 末端塩基配列情報、fosmid 末端塩基配列情報、フィンガープリントコンティグ情報を加えたブラウザ。UTGB；東京大学大学院新領域創成科学研究科の森下真一教授の研究室で開発されたゲノムブラウザ。GBrowse；GMOD (Generic Model Organism Database project) で開発されたゲノムアノテーションビューア (図 2)。GeneViewer；KAIKOGAAS による予測遺伝子情報を見るための

ビューアで BLASTnBLASTp, HMMER, ProfileScan によるホモロジー検索結果を示し、PSORT, SOSUI, MOTIF, Gene ontology とリンクを張っている。さらに、カイコ・プロテオームデータベース、カイコ・トラップデータベース (Uchino *et al.*, 2008) ともリンクを張っている。また、遺伝子名等のキーワード検索および手持ちの配列情報をもとにした BLAST 検索を行うことが可能であり、多方面からの情報解析が可能になっている。

(5) KAIKObase の活用：ポジショナルクローニングによる突然変異遺伝子の同定

ゲノム情報を利用して、形質変異体の原因遺伝子 (黄体色 lem (Meng *et al.*, 2009), 赤蟻 ch (Futahashi *et al.*, 2008), 油蚕 ow (Ito *et al.*, 2009), 黄血 Y (Sakudoh *et al.*, 2007) など) や、カイコ膿核病ウイルスに対する抵抗性遺伝子 (Ito *et al.*, 2008)) をはじめ、重要な遺伝子の同定が進み、その機能解析が進行中である。遺伝子のクローニングは、ショウジョウバエ等他の昆虫との塩基配列の類似性から機能を予測して原因遺伝子を同定できることもあるが、形質の表現型からは遺伝子機能を全く推測できない場合も多い。KAIKObase を利用したポジショナルクローニング法であれば、連鎖地図上の SNP マーカーによるターゲット領域の絞り込みと絞り込んだゲノム領域にある予測遺伝子情報から原因遺伝子候補を得ることができる。

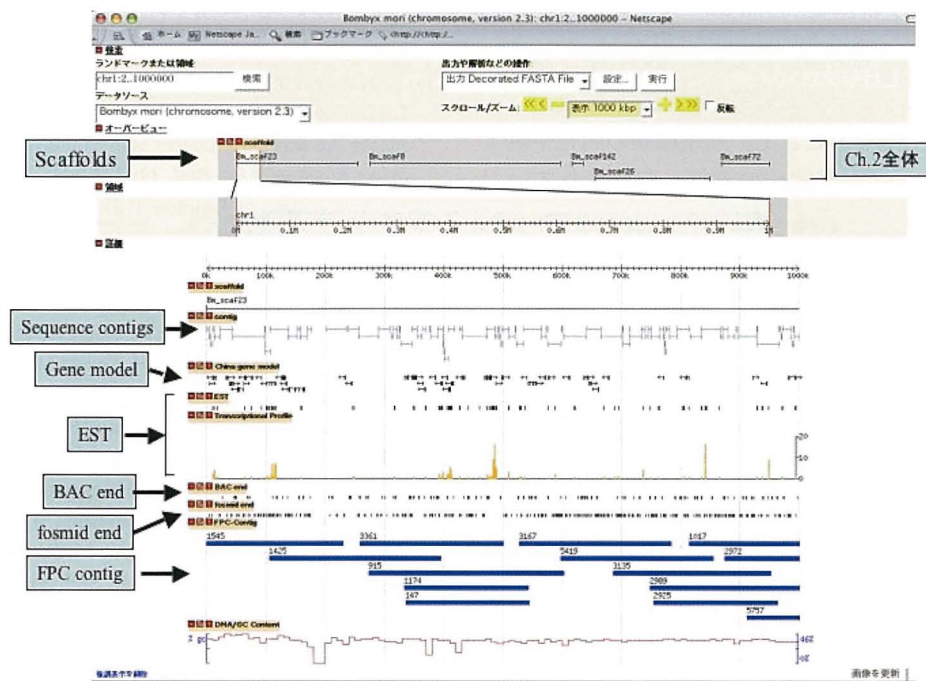


図 2. GBrowse の画面

3. ゲノム情報からみたカイコの特徴

上記の様々な解析から得られたデータにより、以下のようなカイコゲノムの特徴が明らかになった。

1. 絹の成分であるセリシンとフィブロインの合成に係わる特定の tRNA 遺伝子がクラスターを形成しており、大量の絹生産に適応したゲノム構造が見られる。
2. カイコの餌であるクワはアルカロイド系の糖代謝阻害物質を高濃度に含んでいるが、カイコは動物からは発見されていなかった β -フルクトフラノシダーゼを持っており、糖代謝阻害を受けることなく糖の利用ができる。
3. カイコの嗅覚・味覚受容体遺伝子の調査から、カイコは他の昆虫に比べて味覚受容体の数がかなり少なく、カイコがクワ単食であることや人為的にクワを与えられるという家畜化が関係している可能性が考えられる (表 1)。
4. カイコの表皮を作るクチクラタンパク質遺伝子の構造解析から、遺伝子クラスターの存在や進化的に早い段階での構造上異なるクチクラ遺伝子の分岐などが示唆されている。

4. カイコゲノム研究の今後

これまでのカイコゲノム研究から得られた成果・情報を利用することにより、今後、以下のような研究の展開が考えられる。

表 1 4 種類の昆虫における嗅覚／味覚受容体遺伝子の数

遺伝子ファミリー	カイコ	キロシヨウ ジョウバエ	ハマダラカ	ミツバチ
嗅覚受容体	64	62	79	170
味覚受容体	14	68	72	13
総数	78	130	151	183

(1) カイコ研究の推進

2- (5) に示したように、ゲノム情報を利用したカイコの重要な遺伝子のクローニングが進んでいる。これらの遺伝子機能の解明から、絹生産や食性、休眠、変態などカイコの特徴的生物現象を生み出すメカニズムも解明への手がかりが得られるものと期待される。

また、カイコを利用したタンパク質の生産では、カイコの持つ糖鎖遺伝子が網羅的に解析され、カイコで作られるタンパク質の糖鎖構造がどのようにして決まるかが明らかになりつつある。この結果をもとに、カイコでヒト型タンパク質を作る研究が進むと期待される。

(2) クワコとの比較による進化の解明

カイコゲノムの詳細が判明したことで、現存する世界各地のカイコや野生のクワコとの比較からカイコの進化の道筋や家畜化の過程が解明されると期待されている。

(3) 鱗翅目昆虫研究への応用

カイコゲノム研究の当初目的の一つとして、大規模な農業被害をもたらす鱗翅目昆虫のモデル昆虫としての位

置づけがあった。KAIKObase 公開後、カイコゲノム情報を利用したカイコ以外の鱗翅目昆虫研究の成果が報告され始めている。カイコゲノム研究の成果をハスモンヨトウやコナガ等へ展開することで、新規農薬の開発や殺虫剤抵抗性のメカニズム解明への貢献も期待されている。

(4) カイコゲノム研究の今後の課題

KAIKObase を利用したカイコゲノム研究および鱗翅目昆虫の遺伝子機能解析の一層の進展を図るため、カイコゲノムシーケンスのアノテーションを進めること、そのために完全長 cDNA データベースをさらに充実させることが重要である。重要機能遺伝子の同定とその遺伝子機能解析をより容易にするために、RNAi, ジーンターゲットングなど、より簡便な遺伝子機能解析手法の開発が必須である。さらに、カイコゲノム情報を鱗翅目昆虫研究へ応用し、害虫防除へ貢献するために、KAIKObase を軸に他の鱗翅目昆虫ゲノム情報を取り込んだデータベースの構築を進める必要がある。

5. おわりに

カイコゲノム解析を通じて、環境に適応するためにカイコがそのゲノムを如何に進化させ、特異な生命現象を生み出してきたかを明らかにすることが可能になりつつある。多くのカイコ研究者の方に KAIKObase を活用していただいて、カイコ研究を推進していただきたいと思う。同時に、今後、KAIKObase の有用性をより高めるためには、カイコゲノムシーケンスにアノテーションをつけることと、KAIKObase を軸にカイコ以外の鱗翅目昆虫のゲノム情報を取り込んだデータベースを整備することが重要である。これらを行うためには、カイコをはじめとした多くの昆虫研究者の協力が必要である。日本の昆虫研究を盛り上げるためにもぜひご協力をお願いしたい。

引用文献

- Futahashi R, Sato J, Meng Y, Okamoto S, Daimon T, Yamamoto K, Suetsugu Y, Narukawa J, Takahashi H, Banno Y, Katsuma S, Shimada T, Mita K, Fujiwara H (2009) yellow and ebony are the responsible genes for the larval color mutants of the silkworm *Bombyx mori*. *Genetics* **180**: 1995-2005.
- Ito K, Kidokoro K, Sezutsu H, Nohata J, Yamamoto K, Kobayashi I, Uchino K, Kalyebi A, Eguchi R, Hara W, Tamura T, Katsuma S, Shimada T, Mita K, Kadono-Okuda K. (2008) Deletion of a gene encoding an amino acid transporter in the midgut membrane causes resistance to a *Bombyx* parvo-like virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**: 7523-7527.
- Ito K, Katsuma S, Yamamoto K, Kadono-Okuda K, Mita K, Shimada T. (2009) A 25bp-long insertional mutation in the BmVarp gene causes the waxy translucent skin of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **39**: 287-293.
- Meng Y, Katsuma S, Daimon T, Banno Y, Uchino K, Sezutsu H, Tamura T, Mita K, Shimada T. (2009) The silkworm mutant lemon (lemon lethal) is a potential insect model for human sepiapterin reductase deficiency. *J. Biol. Chem.* **284**: 11698-11705.
- Mita K, Morimyo M, Okano K, Koike Y, Nohata J, Kawasaki H, Kadono-Okuda K, Yamamoto K, Suzuki MG, Shimada T, Goldsmith MR, Maeda S. (2003) The construction of an EST database for *Bombyx mori* and its application. *Proc. Natl. Acad. Soc. USA* **100**: 14121-14126.
- Mita K, Kasahara M, Sasaki S, Nagayasu Y, Yamada T, Kanamori H, Namiki N, Kitagawa M, Yamashita H, Yasukochi Y, Kadono-Okuda K, Yamamoto K, Ajimura M, Ravikumar G, Shimomura M, Nagamura Y, Shin-I T, Abe H, Shimada T, Morishita S, Sasaki T. (2004) The genome sequence of silkworm, *Bombyx mori*. *DNA Research* **11**: 27-35.
- Osanaï-Futahashi M, Suetsugu Y, Mita K, Fujiwara H. (2008) Genome-wide screening and characterization of transposable elements and their distribution analysis in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insects Biochem. Mol. Biol.* **38**:1046~1057.
- Sakudoh T, Sezutsu H, Nakashima T, Kobayashi I, Fujimoto H, Uchino K, Banno Y, Iwano H, Maekawa H, Tamura T, Kataoka H, Tsuchida K. (2007) Carotenoid silk coloration is controlled by a carotenoid-binding protein, a product of the Yellow blood gene. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**: 8941-8946.
- Suetsugu Y, Minami H, Shimomura M, Sasanuma S, Narukawa J, Mita K, Yamamoto K. (2007) End-sequencing and characterization of silkworm (*Bombyx mori*) bacterial artificial chromosome libraries. *BMC Genomics* **8**: 314.
- The International Silkworm Genome Consortium (2008) The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **38**: 1036-1045.
- Uchino K, Sezutsu H, Imamura M, Kobayashi I, Tatematsu K, Iizuka T, Yonemura N, Mita K, Tamura T. (2008) Construction of a piggyBac-based enhancer trap system for the analysis of gene function in silkworm *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **38**: 1165-1173.
- Yamamoto K, Narukawa J, Kadono-Okuda K, Nohata J, Sasanuma M, Suetsugu Y, Banno Y, Fujii H, Goldsmith MR, Mita K. (2006) Construction of a single nucleotide polymorphism linkage map for the silkworm, *Bombyx mori*, based on bacterial artificial chromosome end sequences. *Genetics* **173**: 151-161.
- Yamamoto K, Nohata J, Kadono-Okuda K, Narukawa J, Sasanuma M, Sasanuma S, Minami H, Shimomura M, Suetsugu Y, Banno Y, Osoegawa K, de Jong PJ, Goldsmith MR, Mita K. (2008) A BAC-based integrated linkage map of the silkworm *Bombyx mori*. *Genome Biology* **9**: R21.
- Xia Q, et al. (2004) A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*). *Science* **306**: 1937-1940.