

カイコ・野蚕の遺伝資源に関する研究

誌名	蚕糸・昆虫バイオテック = Sanshi-konchu biotec
ISSN	18810551
著者名	梶浦,善太
発行元	日本蚕糸学会
巻/号	80巻1号
掲載ページ	p. 37-41
発行年月	2011年4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





カイコ・野蚕の遺伝資源に関する研究 —蚕糸業・野蚕糸業の復興にむけて—

梶浦 善太

(信州大学繊維学部応用生物学系生物資源・環境科学課程)

学生時代にカイコの研究を始めて以来、研究だけでなくいろいろなことが以前と比べて著しく変化した。残念な変化は日本の蚕糸業が歴史的な衰退をしていること、そのことが教育・研究などに大きく影響していることである。一方、うれしい変化は、最近のカイコの研究はたいへんレベルが高くなったとことである。カイコゲノム情報、カイコゲノムリソース、970のカイコ系統、遺伝子組み換えカイコの利用などが、20年前とは比べ物にならないほど研究の次元を上げている。カイコは日本が世界に誇る生物資源であることは間違いない。

ここでは脱皮・変態、精子形成、卵黄形成、野蚕遺伝資源などの研究をしてきた中から二つ紹介しようと思う。

昆虫ホルモンによるカイコの発育統御に関する研究

学生だった1980年代では山下興亜先生に指導していただきカイコの脱皮・変態の機構を研究した。当時、一番知りたかったことは、ホルモンによって発現調節される遺伝子、すなわち脱皮・変態の分子機構だった。脱皮ホルモンの作用機構では、Ashburner (1974) のモデルはあったが、遺伝子クローニング技術さえ普及していなかったので、まだホルモンによって誘導される遺伝子を扱うことはできなかった。

昆虫ホルモンの作用機構を解明するために、脱皮と変態を制御する実験系を作り出した。カイコ4齢幼虫にメトプレン (JH 類縁体) 投与し、5齢期を延長かつ変態を阻止して永続幼虫化した後、脱皮ホルモンを投与することで変態を誘起する系である。永続幼虫は脱皮ホルモンの欠如によってもたらされるので、脱皮ホルモンを補えば変態して生活史を全うすることができる。用いたカ

イコは錦秋鐘和と N4 だった。試行錯誤して永続幼虫化できるようになった。永続幼虫の5齢期間は15日以上になり、平均体重は対照区6gに対し、永続幼虫10.5gだった。最大の幼虫は14.7gになり、40日以上生存した (Kajiura *et al.*, 1987; Kajiura and Yamashita, 1989)。さらに永続幼虫に変態を誘起するため、脱皮ホルモン投与の実験をした。脱皮ホルモンで蛹化するのは成功率20%程度で100%を達成することは難しかった。それでも、平均繭層重0.83gになり、中には1g以上になるものも多くあった。平均蛹体重は♂2.7g、♀3.3gであり、対照区の1.3~1.6倍になった (Kajiura and Yamashita, 1992)。中部絹糸腺は5齢18日頃まで大きくなっていくが、液状絹は粘度を増して最後には白く固まってしまっていた。そのため営繭行動はしても十分糸を吐くことができない個体があった。完全に蛹脱皮を誘導するためには、絹糸腺が白色硬化する前に脱皮ホルモン処理しなければならなかったのである。そのため繭の大きさはおのずと限界になった。カイコの大きさは従来の育種法によると現在のカイコ実用品種以上に大きくならないといわれている。ホルモン処理によってこのように大きくできるということは、まだ遺伝的に大型化する方法があるのではないかと思う。

当時作った繭が残っていたので写真をとった (図1)。



図1. 幼若ホルモン類縁体と脱皮ホルモンを組合せて作った大型のカイコ繭
対照区の錦秋鐘和の繭 (左)、永続幼虫化処理した幼虫が脱皮ホルモンを投与によって作った繭 (右)。

〒386-8567 上田市常田3-15-1
信州大学 繊維学部 応用生物学系 生物資源・環境科学課程
E-mail: zkajiur@shinshu-u.ac.jp
Tel: 0268-21-5337 Fax: 0268-21-5331

当時はホルモンの作用機作に興味が行き、大きな繭からとれる糸長、織度、解じょ率などは検査しなかった。信州大学繊維学部にて採用していただいていたからこの分野から遠ざかった。毎年、講義でこの研究を学生に紹介している。最近ではホルモンの作用機構について多くのことが明らかにされているが、マイクロアレイなどの最先端の方法で永続幼虫を調べてみれば、何か新発見があるのではないかと思う。

野蚕の遺伝資源に関する研究

1990年（平成2年）に繊維学部応用生物科学蚕遺伝疫学講座（現応用生物学系生物資源・環境科学課程）に赴任して武井隆三先生と中垣雅雄先生にご指導いただき、カイコの遺伝・発生・病理の研究を始めた。ここはカイコ遺伝学の講座だったため、赴任当時は突然変異系統を50系統ほど飼育していた。系統保存はたいへんだったが、学生時代には春嶺鐘月、錦秋鐘和、N4しか使ったことがなく、カイコの突然変異系統は全く知らなかったもので、いろいろな蚕を飼育してたいへん興味がわいたことを覚えている。また、付属農場のクヌギ圃場で大量に飼育されていた天蚕（ヤママユガ、*Antheraea yamamai*）の幼虫を見た時、その大きさと美しい緑色の体色に驚いた。当時、ヤママユガはまだ生理・生化学的な研究がカイコと比べて少なかったため、実験材料に使ってみようと思い、学生時代からカイコで調べていた貯蔵タンパク質、雌付属腺タンパク質、脂肪体タンパク質、卵

黄タンパク質などを研究した。最近ではビテロジェニン（Vg）遺伝子の遺伝子発現を調節する因子について研究している（梶浦，2009；Meng *et al.*, 2006b；徳野ら，2010）。この内容については総説（梶浦，2009）で述べているので、ここでは総説で触れていないビテロジェニンからみた野蚕の系統関係とヤママユガの遺伝資源について紹介する。

昆虫 VgcDNA は 1990 年代からこれまでに 20 数例が報告されており、私たちの研究室ではそれらの 4 分の 1 にあたる、ヤママユガ、柞蚕、エリサン、シンジュサン、クスサン、クワコ（中国種と日本種）の完全長 VgcDNA を決定した（Liu *et al.*, 2001; Meng *et al.*, 2006a, 2008）。さらに、ヤママユガ Vg 遺伝子構造を明らかにした。これらのデータをもとに、Meng *et al.* (2008) は鱗翅目のビテロジェニン野系統樹を作成し、ビテロジェニンの相同性は昆虫分類学にもとづく近縁関係と一致することを示した（図2）。カイコガ上科では、ヤママユガ科とカイコガ科がそれぞれグループを形成した。シンジュサンとエリサンは 98.9% で最も相同性が高く、クワコとカイコでは 97.5% であった。また、サクサンとヤママユガでは 93.6% であった。それら以外のヤママユガ科昆虫間では 80.7% ~ 82.3% の相同性であった。カイコ・クワコとヤママユガ科の間では 58.0% ~ 60.0% の相同性であった。マイマイガとカイコガ上科の昆虫との間では 43.0% ~ 45.1% の相同性であった。系統樹では *Antheraea* 属、*Samia* 属と *Saturnia* 属がほぼ等距離で配置され

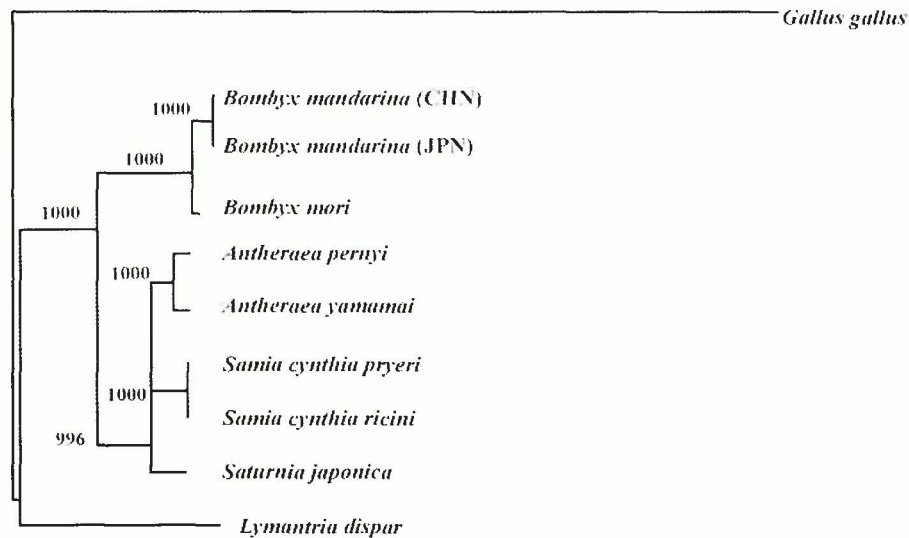


図2. ヤママユガ科のビテロジェニンの分子系統樹
 系統樹は ClustalW によるビテロジェニンのシグナルペプチドを含む全長アミノ酸配列のアライメントから近隣結合法で作成した。ニワトリ (*Gallus gallus*) を外群にした。ノードの数値はブートストラップである。学名と和名は次のとおりである。ヤママユガ (*Antheraea yamamai*)、サクサン (*A. pernyi*)、クスサン (*Saturnia japonica*)、シンジュサン (*Samia cynthia pryeri*)、エリサン (*S. c. ricini*)、カイコ (*Bombyx mori*)、クワコ (*B. mandarina*) の日本産 (JPN) と中国産 (CHN)、マイマイガ (*Lymantria dispar*)。Meng *et al.* (2008) 参照。

ることがわかった。これはヤマムユガ科昆虫の進化を物語っているようである。分岐年代まではわからないが、同じころに分岐したのではないかと想像している。日本では野蚕の種類が少ないが、世界の野蚕はたいへん種類が多いので、ここに載せたビテロジェニンの系統樹ではまだまだ情報が足りない。

相同性の最も高いエリサンとシンジュサンはカイコとクワコの関係よりもさらに近縁の関係にあると考えられる。エリサンはインド原産で1938年ごろに日本に輸入された。一方、シンジュサンは在来種である。エリサンとシンジュサンの交雑は可能で交雑後代が得られる。ヤマムユガとサクサンの交雑の確率は低いが F_1 を得ることができる(図3)。繊維学部では小林勝博士がこの交雑個体の研究をされていた。小林(1995)は、交雑種では染色体の分離異常があってさらに後代を得ることは難しいこと、サクサンはヤマムユガ核多角体病ウイルス(NPV)に対してヤマムユガよりも耐性であること、交雑育種でサクサンのNPV耐性をヤマムユガへ導入することを試みたが、後代が得られないためこの交雑育種は不可能であること、さらに、ヤマムユガの交雑育種にはサクサン以外の *Antheraea* 近縁種を用いる必要があることなどを述べている。

ヤマムユガのNPV抵抗性やその他の諸形質を向上するため、ヤマムユガの優良系統を作出することは私にとって長年の目標である。天蚕糸生産に及ぼすNPVの被害は最も大きく、ヤマムユガの生産地では対策に困っ

ている。なかなか天蚕糸の生産が増えないのは、NPVの被害の他に解じょ率や糸長などの種々のヤマムユガ持つ形質にも原因がある。これらの要因を解決するために交雑育種は有効な手段であるが、海外の *Antheraea* 近縁種は入手できないので、国内産のヤマムユガを使うほかない。ちなみに、インドではタサールサン (*Antheraea mylitta*) とムガサン (*A. assamensis*) などが生息しており、しかも、タサールサンには44もの商業用品種があるとされている (Reddy *et al.*, 2009)。 *Antheraea* 属は熱帯～温帯にかけて広く分布しているのだからかなりの種類数になるだろう。それに対して日本のヤマムユガには三つの亜種 (*A. yamamai yamamai*, *A. yamamai ussuriensis*, *A. yamamai yoshimotoi*) が知られているが、商業用品種は登録されていない。

私はヤマムユガだけで30ほどの産地の違うものを持っていたが、現在は整理して10産地のヤマムユガとそれらの交雑、他のシンジュサンやウスタビガなど、合わせて約30種類ほど保存している。これはナショナルバイオリソープロジェクト“カイコ”(中核機関：九州大学)の一環である。このプロジェクトは、日本のライフサイエンスの高度な研究のために生物資源を効率よく収集・保存し、研究者へ提供することを事業としている。野蚕遺伝資源については、第1期(2002～2006)では収集を中心に行い、変種の探索のため各地へ採集に出掛けた。第2期(2007～2011)では、保存数は現状を維持し、品質の向上に勤め、提供を中心に行っている。ヤ



図3. ヤマムユガ, サクサン, およびそれらの交雑個体
ヤマムユガ♀成虫と繭(左上, 右上, 右下), サクサン♀♂成虫と繭(左中, 左下), ヤマムユガ×サクサン成虫と繭(中上), サクサン×ヤマムユガ成虫と繭(中下)。1989年に作製された標本を研究室で保存している。交雑種の場合、繭色はどちらかというところサクサンに近い色、成虫と繭の大きさは両親とほぼ同じ、成虫の翅の色はサクサンに近い色となった。小林勝博士によって1989年に作製された標本である。

表1 ヤママユガの形質変異

形質	変異	変種数
掃立てから羽化までの期間	約70日, 約80日, 約110日	3
幼虫	2齢幼虫の斑紋有無, オレンジ体色*	2
繭	黄色*, エメラルドグリーン	2
成虫	眼状紋無*	1
ミトコンドリア DNA	塩基置換	5

*: 信州大学繊維学部では保有していない。

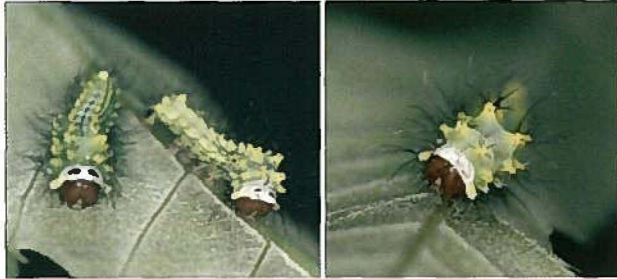


図4. ヤママユガ2齢幼虫の斑紋変異

左右一対の斑紋が頭部と胸部の節間に現れる個体(左)と斑紋がない個体(右)。2齢幼虫で特異的に現れる顕著な斑紋だが、3齢起蚕で消失する。まだ系統として固定できていない。

ママユガの形質の違いについて、これまで見つけたものと既知のものを表1にまとめた。丸山(1984)によって夏眠期間の系統分離、蛾体色の系統分離、および幼虫体色の異常系統の分離が行われていた。また、各県の試験場でもヤマユガの系統選抜は行われていたが、残念ながらこれらの系統は途絶えていると思われる。現存しているものは、三田村敏正博士(福島県)によって発見されたオレンジ色の幼虫と成虫翅の眼状紋がないもの、北海道大学で得られたエメラルドグリーン(斎藤ら, 1995)、群馬県蚕業試験場で選抜された黄繭、ミトコンドリアチトクロームCオキシダーゼの塩基配列の置換(梶浦ら, 2005)、私が独自に選抜した掃立てから羽化までの期間が異なるもの、2齢幼虫の斑紋変異(図4)のみである。これまでのヤマユガの選抜は系統選抜であった。カイコでは交雑育種が有効であり、商業用品種はすべて交雑種である。このようなことから、ヤマユガの優良系統育成には交雑育種が有効と考えられるので、総当たり交雑で雑種強勢を発揮する組合せを研究している。

昨年安曇野天蚕振興会の方から依頼があり、飼育や病害防除のアドバイスを始めた。穂高天蚕糸は安曇野市のブランド品であり、その年間生産量は約10kgとのことである。過去に天蚕用人工飼料が市販されていたが、現在は市販されていない。過去に途切れた技術の復活と改良を試み、天蚕糸の増産と後継者育成に役立つことがで

ければ幸いと考えている。

謝辞

これまでご指導下さった多くの先生方と研究者の方々に心から感謝を申し上げる。研究室の学生諸君の努力が積み重なって成果となったのでここに深謝したい。用いた野蚕は文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)によって保存されている。また、利用した蚕系統の一部はNBRP(九州大学)から分譲されたものである。

引用文献

- Ashburner, M., Chihara, C., Meltzer, P., and Richards, G. (1974) Sequential gene activation by ecdysone in polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*. The effects of inhibition of protein synthesis. *Develop. Biol.* **39**, 141-157.
- 梶浦善太(2009)野蚕のピテロジェニンの構造と遺伝子発現。蚕糸・昆虫バイオテック, **78**, 13-16.
- 梶浦善太・長谷川雄一・塩見邦博・中垣雅雄(2005)ミトコンドリアから見た天蚕 *Antheraea yamamai* の多様性について, 日本蚕糸学会中部支部講演要旨集 **61**, 30.
- Kajiura, Z., Kadono-Okuda, K. and Yamashita, O. (1987) Induction of dauer larvae by a juvenile hormone analogue and their response to ecdysteroids in the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Seric. Sci. Jpn.*, **56**, 398-406.
- Kajiura, Z. and Yamashita, O. (1989) Super growth of silkglands in the dauer larvae of the silkworm, *Bombyx mori*, induced by a juvenile hormone analogue. *J. Seric. Sci. Jpn.*, **58**, 39-46.
- Kajiura, Z. and Yamashita, O. (1992) Induction of metamorphosis of the methoprene-induced dauer larvae of the silkworm, *Bombyx mori*, by ecdysteroids. *Comp. Biochem. Physiol.*, **101A**, 277-280.
- 小林勝(1995)ヤマユガとサクサンの種間雑種の作出と利用に関する研究. 学位論文信州大学
- 劉朝良・梶浦善太・武井隆三・中垣雅雄(2000)柞蚕と天蚕の卵巣相互移植と卵黄タンパク質の取り込み特性. 日蚕雑, **69**, 251-260.
- Liu, C., Kajiura, Z., Shiomi, K., Takei, R. and Nakagaki, M. (2001) Purification and cDNA Sequencing of vitellogenin of the wild silkworm, *Antheraea pernyi*. *J. Insect Biotechnol. Sericol.*, **70**, 95-104.
- 丸山誠(1984)天蚕の系統選抜. 蚕糸試験場彙報, **123**, 9-30.
- Meng, Y., Liu, C., Shiomi, K., Nakagaki, M. and Kajiura, Z. (2008) Purification and cDNA cloning of vitellogenin of the wild silk-

worm, *Saturnia japonica* (Lepidoptera: Saturniidae). *J Insect Biotechnol. Sericol.*, **77**, 35-44.

Meng, Y., Liu, C., Shiomi, K., Nakagaki, M., Banno, Y. and Kajiura, Z. (2006a) Genetic variations in the vitellogenin of Japanese populations of the wild silkworm *Bombyx mandarina*. *J Insect Biotechnol. Sericol.*, **75**, 127-134.

Meng, Y., Liu, C., Zhao, A., Shiomi, K., Nakagaki, M. and Kajiura, Z. (2006b) Vitellogenin gene organization of *Antheraea yama-mai* and promoter activity analysis. *Int. J. Wild Silkmoth & Silk.*, **11**, 29-40.

Reddy, R. M., Suryanarayana, N., Sinha, M. K., Gahlot, N. S., Hansda, G., Ojha, N. G. and Prakash, N. B. V. (2009) Silk filament progression with backcross breeding generations in tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta* D. I. *J. Indust. Entomol.* **19**, 187-192.

齋藤寛・菊池邦夫・佐原 健・飯塚敏彦・三田村敏正・山岸

渉・瓜田章二 (1995) エメラルドグリーン色 (EG) 天蚕繭の繭質. 北海道大学農学部付属農場研究報告, 29, 1-6.

徳野秀尚・長坂美才絵・鈴木 翔・峰村貴也・中垣雅雄・梶浦善太 (2010) カイコビテロジェニン遺伝子の発現調節にかかわる因子の研究. 日本蚕糸学会中部支部講演要旨集第66号 58頁.



【略歴：梶浦善太】

1989年 名古屋大学大学院農学研究科
博士課程満期退学

1990年 農学博士 (名古屋大学)

1990年 信州大学繊維学部助手

1999年 同助教授

2007年 同准教授

2010年 同教授