

*N*ational

*I*nstitute of

*A*grobiological

*S*ciences



# 農業生物資源研究所 ニュース No. 30

## *Contents*

### 研究トピックス

- カイコ濃核病ウイルス抵抗性遺伝子の単離に成功.....2

### 参加・開催報告

- 2008 Silk Summer Seminar in Okayama 第61回製糸夏期大学一を開催して...4

- 国際バイオ EXPO2008 参加報告 ..... 6

- 2008年北杜地区一般公開報告 ..... 7

- 第47回ガンマーフィールドシンポジウム「作物の新しい育種と突然変異」.....8

### 受賞報告

- 日本育種学会賞受賞報告 .....5

# カイコ濃核病ウイルス抵抗性遺伝子の単離に成功 ーウイルスはカイコ中腸の膜タンパク質を利用して感染するー

農業生物資源研究所と東京大学は、カイコの形質突然変異の1つであるカイコ2型濃核病ウイルス抵抗性遺伝子(*nsd-2*)の単離に成功しました。

## 【背景】

カイコ濃核病ウイルスは、パルボウイルス様の1本鎖 DNA を持つ非常に小さなウイルスです。カイコの病気として古くから知られていましたが、他の病原微生物と異なり、抵抗性の品種や系統にはどれだけたくさんのウイルスを与えても全く感染しません。

カイコには、体色、斑紋、体型、休眠性などについて様々な突然変異形質があり、それらが形質マーカーとして連鎖地図上に位置付けられています。これらのマーカーを用いた、カイコ2型濃核病ウイルス抵抗性と感受性のカイコ系統による交配実験の結果から、このウイルス抵抗性が単一の遺伝子によって支配されており、その遺伝子は第17連鎖群上にあることがわかっていました。この遺伝子は劣性遺伝をすることから、正常な遺伝子が何らかの変異を受けたものと予想されていましたが、このウイルスの感染や増殖に関する機構もまだ明らかでないため、その原因遺伝子の本体は全く不明でした。そこで、近年急速に解析が進み、データベースが充実してきたカイコゲノム情報を利用して、この遺伝子の単離を試みました。

## 【成果の詳細】

連鎖地図上の *nsd-2* 遺伝子の近くの分子マーカー(目印)を出発点として、BAC クローンのコンティグ化(整列化)を行い、この領域(5Mb)をカバーする BAC コンティグを作成しました(図1)。その後、ウイルス感受性と抵抗性の系統間での交配実験により、*nsd-2* と密接に連鎖する領域を 400kb 内に限定することができました。この領域内で抵抗性と感受性カイコの系統間で、塩基配列の比較を行った結果、抵抗性に特異的な約 6kb の欠失領域を見出しました。

次に、この 6kb の欠失領域の塩基配列を解析した結果、遺伝子がコードされていることが予測されたので、いくつかの抵抗性と感受性カイコ系統の中腸から調製した RNA を調べたところ、予測された遺伝子のメッセンジャーRNA(mRNA)を確認し、抵抗性ではその mRNA のサイズが小さくなっていることを明らかにしました(図2)。

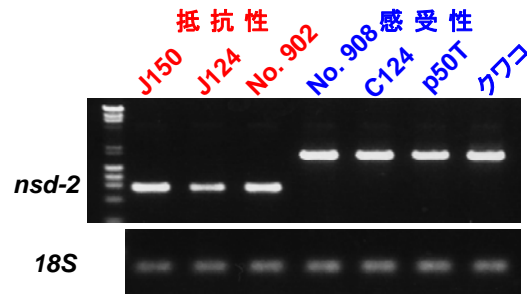


図2 抵抗性と感受性品種/系統/種における *nsd-2* の RT-PCR



図1 染色体歩行による BAC クローンのコンティグ化と絞り込み領域。1回のスクリーニングで得られた BAC クローンを同色で示す。

さらに、この遺伝子の抵抗性と感受性の双方の完全長 cDNA とゲノムの塩基配列を決定し、遺伝子構造を明らかにしました(図3)。その結果、本遺伝子は、14個のエクソンから成り、抵抗性ではエクソン5から13を失っていることが明らかになりました。

本遺伝子の発現場所を特定するため、カイコ4齢1日目幼虫の種々の組織から RNA を調製し

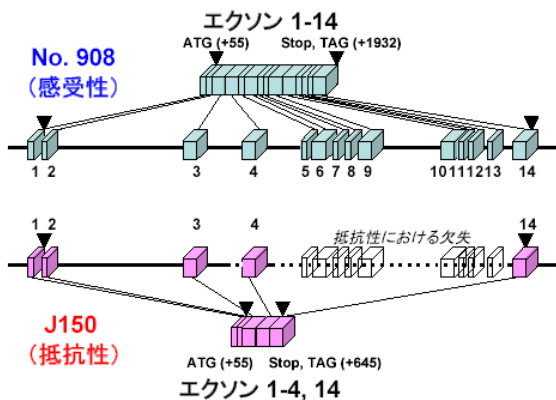


図3 抵抗性と感受性における遺伝子構造

RT-PCR 法で調べたところ、中腸のみで発現していることが分かりました。また本遺伝子の翻訳アミノ酸配列からタンパク質の2次構造を推定した結果、糖鎖の修飾を2カ所に持つ12回膜貫通型の膜タンパク質であることが明らかになりました(図4)。このことからウイルスはこの膜タンパク質を介して中腸細胞に感染すること、逆にこの膜タンパク質が欠損すればウイルスが中腸に感染できなくなることが強く示唆されました。

そこで、この膜タンパク質遺伝子の機能を確認するため、抵抗性のカイコに感受性カイコが持つ遺伝子を遺伝子組換えにより導入したところ、感受性に形質転換したことにより、この膜タンパク質が抵抗性の原因であることが明らかになりました。すなわち、カイコの形質転換系を用いた相補性検定によって、今回単離された遺伝子が *nsd-2* であることが証明されました。

#### 【今後の展開】

今回の成果は、昆虫におけるウイルス完

全抵抗性遺伝子単離の初めての例です。抵抗性の原因遺伝子が単離できたことで、本ウイルスの感染機構の解明が大きく進展すると期待されます。カイコ濃核病にはこの他にも、2つの完全抵抗性遺伝子の存在が知られており、それらについても現在単離を進めています。また、今回の成果は地図情報やゲノム情報を利用した map-based cloning あるいは positional cloning と呼ばれる遺伝子単離法のカイコにおける最初の事例でもあり、今後、カイコが持つ有用遺伝子の単離が加速化するものと期待されます。

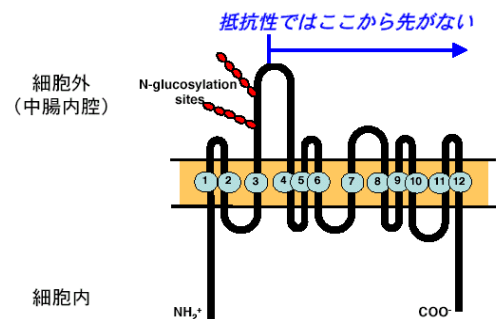


図4 翻訳アミノ酸配列から推定された *nsd-2* の2次構造

この成果の概要は、米国科学アカデミー紀要(PNAS; <http://www.pnas.org/>)の2008年5月19日(米国日時)にオンラインで公表されました。

なお本研究は、農林水産省の受託研究である「昆虫テクノロジー」プロジェクト(平成14~18年度)および「アグリゲノム(昆虫)」プロジェクト(平成19年度~)の一環として実施されました。(昆虫科学研究領域 昆虫ゲノム研究・情報解析ユニット 門野 敬子)

#### 言葉の説明

##### BAC クローン

Bacterial Artificial Chromosome の略で、大腸菌のゲノム DNA から作成したベクターで、150~200kb もの長い DNA 断片を挿入することができる。このため、真核生物(ゲノムサイズが100Mbからヒトの3,000Mb)のゲノム解析に標準的に使われている。

##### BAC コンティグ

BAC に挿入されたゲノム DNA のオーバーラップした部分をつなぎ合わせ、整列化した。

##### 連鎖地図

同一染色体上に乗る2つ以上の遺伝子について、お互いに連鎖しているといい、染色体の交叉における遺伝子乗り換えの頻度による連鎖の強さは遺伝子間の距離に反比例することを利用して、遺伝子間の相対的な距離を一直線上に表したものを連鎖地図(linkage map)と呼ぶ。そのマーカーには、目の色や斑紋など目に見える形で現れるために古くから使われていた形質突然変異と、塩基配列情報をもとにした EST、RAPD、SSR、SNP などがある。いずれも染色体上の特定の場所における塩基配列の多型を利用したものである。

## 2008 Silk Summer Seminar in Okaya — 第 61 回製糸夏期大学 — を開催して

2008年7月24日の午後から25日の午前  
にかけ、岡谷市(ジョイントプラザ マリオ)  
において、今年で61回目となる標記セミナー  
(主催:(独)農業生物資源研究所、製糸技術  
研究会)を開催しました。昨年は、60回  
目の節目の記念セミナーを大変多くの皆  
様に盛大に祝って頂きました。今年  
は、新たなスタートということで、会  
場も変えて新しい雰囲気の中で、約  
120名の参加を頂き盛大に開催  
することができました(写真1)。

今年、本年の4月から始まった蚕糸・絹  
業連携支援事業に多くの方が関心をも  
つていることから、それに関連する課  
題を2課題、「蚕糸・絹業提携支援緊急  
対策事業の取組について」(財団法人  
大日本蚕糸会 常務理事 蚕糸・絹業  
提携支援センター 事務局長 草野  
洋一氏)、「蚕糸・絹業における川上  
・川下連携推進事例」(株式会社千  
總製作部 副部長 俵 武司氏)、遺  
伝子組換え繭や医療用等新素材に関  
して2課題、「遺伝子組換えカイコ  
による機能性シルクの開発」(農  
業生物資源研究所 遺伝子組換え  
カイコ研究センター長 田村 俊樹  
氏)、「フィブロインスポンジによる  
再生軟骨の開発」(東京女子医科大  
学八千代医療センター形

成外科講師 寺田 伸一氏)、そして着  
物の普及、販売について2課題、「日  
本の「着物」と「染織」の美しさ」  
(ハクビ京都着物学院 院長 角谷  
美和子氏; 写真2)、「百貨店にお  
ける絹呉服の動向—時代のニーズと  
変化への対応—」(株)高島屋 MD  
本部 呉服 DV デイビジョン長 池  
田 喜政氏)の計6課題について講  
演をして頂きました。いずれも蚕糸・  
絹業の体制や流通、新しい研究分野  
の時流に合った内容であり、活発な  
質疑応答が行われていました。

1日目の夕刻は、約80名の参加を  
頂き、懇親会を開催し、情報交換を  
行うことができました。また、2日  
目の午後から見学会を行い、約30  
名の参加者で、(株)宮坂製糸所、  
市立岡谷蚕糸博物館、重要文化財  
旧林家住宅(製糸家林国蔵の居宅)を  
見学しました。(株)宮坂製糸所では  
明治の始めから使っている座繰機  
から最近開発した「銀河シルク」、  
「ふい絹」繰糸機に至るまで興味深  
く見学して頂きました。また、市立  
岡谷蚕糸博物館では、世界に1釜し  
かないフランス式繰糸機をはじめ、  
胴繰り、牛首など日本の原点の繰  
糸機等見学しました(写真3)。

この伝統ある製糸夏期大学は、学  
会等の単なる研究発表の場とはその  
趣を異とし、シルク業界の問題点を  
幅広い角度から解決していく場とし  
て、関係者の意見交流の場として、  
またさらに今後の業界のあるべき姿  
を模索する場として、その存在価値  
が認められてきました。時代の移り  
変わりの中で、本製糸夏期大学へ  
の出席者の中には、工房等での絹  
製品作りな



写真1 講演風景

ど地域に根差して活動している方や自らが養蚕から製糸、織物まで手掛けようとされる方、またシルクの新規用途開発をしようとする方、NPO 等で地域の活性化を図ろうとしている方が増えてきました。この製糸夏期



写真2 着物の紹介

大学がこれからもシルク全般に関する技術交流や仲間づくり、情報交換の場となればと思っています。(昆虫科学研究領域 生活資材開発ユニット 高林 千幸)



写真3 市立岡谷蚕糸博物館の見学

## 受賞報告

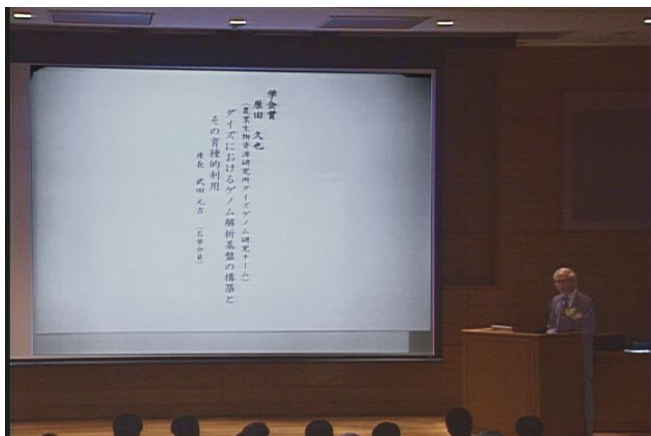
## 日本育種学会賞受賞報告

去る3月28日、日本育種学会2008年春季大会において、学会賞を授与される栄誉に恵まれました。推薦していただきました先生方、選考委員会の皆様、座長の武田元吉先生には心より感謝申し上げます。

今回受賞の対象となった研究は「ダイズにおけるゲノム解析基盤の構築とその育種的利用」で、多方面の方々のご支援、ご協力と多数の方々の努力で成り立ったものです。私はその代表者として受賞させていただいたものと考えています。研究内容は大きく3つに分けることができます。「ダイズのDNAマーカーの開発と連鎖地図の作製」については、その成果を論文とナショナルバイオリ

ソースプロジェクトミヤコグサ・ダイズのサイトで公表すると共に、開発したDNAマーカーの一部は国内外の研究者に提供いたしました。「ミヤコグサとのシンテニーを利用したダイズのゲノム構造の解析」ではダイズゲノムの特異な構造と同祖領域、ミヤコグサとのマイクロシンテニーを解明し、ダイズの遺伝子単離への活用を提案しました。「ダイズの形質遺伝子の同定」では、量的形質を含む多くの形質の座位を解析し、精密マッピングのために残余ヘテロ接合体(RHL)という概念を提唱して、いくつかの形質について、実際にそれを利用した解析を行いました。一部の形質については原因遺伝子の同定を行い、また選抜マーカーを提供しました。

今後はダイズゲノム研究チームが日本において指導的な役割を果たし、国際的にも貢献できるように、研究体制の整備、国際的な連携、若手研究者の育成に努めたいと思います。ダイズも機能ゲノム科学の時代に近づいていますので、長期的なビジョンに基づく戦略を考えようとしています。(基盤研究領域 ダイズゲノム研究チーム 原田 久也)



表彰式での一駒

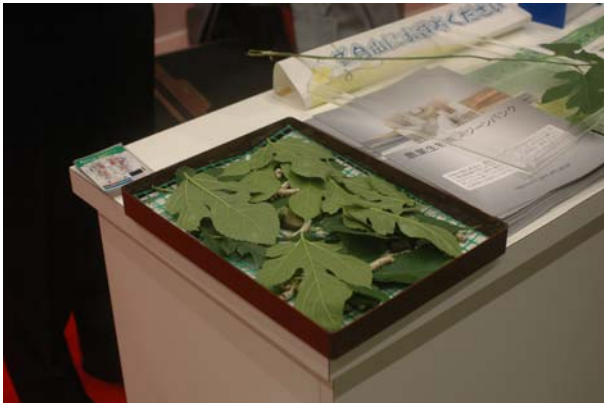
## 国際バイオ EXPO2008 参加報告

農業生物資源研究所は、今年度も7月2日～4日に東京ビッグサイトで行われました『国際バイオ EXPO/第7回国際バイオフォーラム』に参加しました。この行事では展示ブースでのポスター・物品の展示の他、大学・国立研究所による研究成果発表会・フ

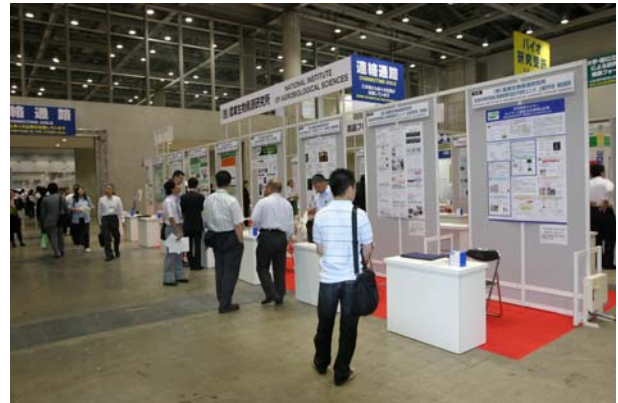
ォーラムも行われ、当研究所からの発表者と発表内容は以下のとおりでした。

3日間の来場者の合計は20,483名(主催者側発表)で、昨年比約1割の増加でした。(広報室)

菊地 和弘:	超低温で保存した体外受精卵から子豚の誕生に成功
西村 実:	水稻の種子蛋白質組成突然変異体の利用とその分子機構
瀬筒 秀樹:	遺伝子組換えカイコを用いたゲノム機能研究・新繊維開発・タンパク質生産
篠田 徹郎:	昆虫幼若ホルモンネットワーク遺伝子の解明と応用
石川 雅之:	ウイルス RNA の複製を直接阻害する植物ウイルス抵抗性遺伝子
河瀬 眞琴:	リソースとリサーチをつなぐ農業生物資源ジーンバンク事業
寺本 英敏:	シルクタンパク質セリシンからの新規バイオ材料の開発
石橋 純:	カブトムシディフェンシン由来改変ペプチドの抗細菌活性と抗がん活性



今回も好評だったカイコ



展示ブース全景



来場者の質問に答える川崎研究主幹



石川 雅之上級研究員の講演

## 2008年北杜地区一般公開報告

2008年7月27日(日)、農業・生物資源研究所北杜地区ではカイコ遺伝資源と北杜地区の研究業務を地域の皆様にご紹介する目的で、第四回一般公開を行いました。当日は103名ほどの来場者を迎えてカイコに親しんで頂きました。展示内容は、生きた突然変異幼虫や、色とりどりの繭標本、職員が製作した繭人形、飼育中の天蚕(ヤママユガ)、180品種を飼育中の蚕室等でした。特に繭人形は、職員がプライベートタイムに半年をかけて製作した力作揃いでした。また展示に加えて、観察用の生きた幼虫や小学生の工作用に色繭殻の配布を行いました。

過去の一般公開の経験から、特別イベントを組むことによって来場者が増えることがわかったので、本年は桜の温湯抽出物で真綿をピンク色に染める草木染めの実演と体験コーナーを開きました。これは、大人の皆様に好

評で、事前申込みなさる熱心な参加者の方もいらっしゃいました。展示されているカイコや繭に触れ、染めも体験することによって、来場者の皆様には、これなら自分で何かを手作りすることが出来そうだという感触を得て頂けたようです。また来場者から、昔なら農家で普通に行って当たり前の、カイコを飼って、生糸(紬糸)をとり、染めて、織って何かを作る、という行為が今はほとんど失われているので、この全工程を子供たちに見せる企画をぜひ開いてほしいという積極的なご意見も頂きました。今後とも、カイコ利用の底辺を広げるため、飼って観察するだけでなく、生産物の繭を利用する方法も併せて一般の人達にアピールしていきたいと思います。(基盤研究領域ジーンバンク 小瀬川 英一)



いろいろなカイコの展示



来場者に配布した繭細工のキーホルダー



繭を使って作った人形



繭を使って作った人形及びその他の小物

## 第47回ガンマフィールドシンポジウム 「作物の新しい育種と突然変異」

2008年7月16日～17日の2日間にわたり、ガンマフィールドシンポジウム委員会・農業生物資源研究所主催による第47回ガンマフィールドシンポジウムが水戸市で開催されました。今回は、標記のテーマで応用研究に重点をおき、農業生物資源研究所の矢野昌裕QTLゲノム育種研究センター長が「作物育種とゲノム選抜へー」の特別講演を行いました。また、一般講演としてゲノム情報を利用したダイズのマーカー選抜やハスモンヨトウ抵抗性の解析、イネの低アミロース、高温登熟性の遺伝解析と育種、コシヒカリのいもち病抵抗性マルチラインや飼料イネ品種の開発、ガンマ線誘発突然変異

体の分子遺伝学的解析、バレイショや野菜の加工適正育種、およびリンゴの単為結実性の育種について、突然変異による有用遺伝子を用いた育種研究に関する最近の成果が話され、活発な討議がなされました。参加者は109名で、そのうち25名がシンポジウム終了後、放射線育種場を視察しました。本シンポジウムの講演内容は、Gamma Field Symposia 47として英文で印刷され、バックナンバーと共に農業生物資源研究所ホームページ <http://www.nias.affrc.go.jp/newsletter/#symposia> に掲載される予定です。(基盤研究領域 放射線育種場 中川 仁)



記念撮影

農業生物資源研究所ニュース No.30

2008年10月3日発行

編集・発行 独立行政法人 農業生物資源研究所

事務局 広報室 TEL029-838-8469

305-8602 茨城県つくば市観音台 2-1-2

<http://www.nias.affrc.go.jp/>

