

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 王 凌 燕

カイコ幼虫の皮膚が白色に見えるのは、真皮細胞で尿酸が結晶化して多数の顆粒を形成するからである。カイコの突然変異体には、幼虫の皮膚が白くならず透明になる系統が存在し、油蚕あぶらこと総称される。油蚕形質を支配する遺伝子は数 10 個が知られており、カイコの遺伝マーカーとして広く使われている。油蚕の原因が、幼虫真皮での尿酸顆粒の欠如ないし減少であることは知られているが、個々の変異体がなぜ尿酸顆粒を形成しないのか、十分に解明されていない。本研究は、特徴的な 3 つの油蚕変異体について、ゲノム情報に基づいて原因遺伝子を探索するとともに、遺伝子の機能を追求したものである。

1. ヴァル斑油まだらあぶら (*ov*) におけるディスベンディン遺伝子の発現量の低下

ov および *ov^p* は別々に発見された変異体で、第 20 連鎖群 15.2 に占座する遺伝子の複対立形質である。いずれも、真皮に透明な部分がモザイク状に現れる。*ov^p♀ × (ov^p × +) ♂* の戻し交雑世代の 2016 頭から DNA を抽出し、DNA マーカーを用いて連鎖解析を行い、第 20 染色体の 179kb の範囲に原因を絞った。この範囲に、タンパク質コード遺伝子は 9 個存在し、そのうち 6 個が皮膚で mRNA を発現していた。これらがコードするアミノ酸配列は、変異系統と正常蚕の間で差がなかったが、1 つの遺伝子 *Bmdysb* だけは、*ov*・*ov^p* 両系統での mRNA の発現量が正常蚕よりも顕著に少なかった。そこで、*Bmdysb* の転写量の減少が油蚕形質の原因であると推定した。*Bmdysb* は、哺乳動物のディスベンディンに相同なタンパク質をコードしている。ディスベンディンは、哺乳動物では細胞内の小胞輸送に必須の分子であるので、尿酸顆粒の形成には、小胞輸送と共通する機構が関与すると推察された。

2. 金鶏竜油きんしりゅうあぶら (*ok*) の原因遺伝子領域に存在する新規の ABC トランスポーター遺伝子の異常

金鶏竜油と大草油おおくさあぶら は透明度が高い油蚕である。両者は独立に発見され、第 5 連鎖群 4.7 に占座する遺伝子 *ok* の複対立形質である。大草油と正常系統との間で、*ok♀ × (ok × +) ♂* の戻し交雑を行い、次代 480 頭の DNA を用いて連鎖解析を行った結果、原因領域を 700kb の範囲に絞り込んだ。そこには 25 個のタンパク質コード遺伝子が予測されていたが、皮膚で発現するものは

14 個であった。うち 2 つの遺伝子では、変異体特異的な mRNA 量の減少が見られた。これら 2 つは実際には同一遺伝子であり、ABC (ATP-Binding Cassette) トランスポーターをコードしていた。この遺伝子を *Bm-ok* と名付け、mRNA の構造を調べたところ、金鷄竜油では 233 塩基の重複が、大草油では 49 塩基の欠失がそれぞれ発見され、いずれも途中で終止コドンを生じていた。それらは染色体上の *Bm-ok* 遺伝子の変異が原因であった。一方、*Bm-ok* の siRNA を正常系統の初期胚に注射したところ、注射した卵から孵化した 1 齢幼虫の皮膚が透明になり、油蚕形質が再現された。よって、*Bm-ok* の構造の異常が *ok* の油蚕形質の原因であると結論した。*Bm-ok* は、カイコ幼虫の真皮細胞に存在する尿酸トランスポーターであると予想される。

3. 優性短節油 (*Obs*)^{ゆうせいたんせつあぶら} におけるクチクラタンパク質遺伝子 *BMCPA* の変異

Obs は、現存する油蚕のなかで唯一遺伝的に優性である。その幼虫は、皮膚が透明で光沢を帯び、体軀は全体的に短くかつ太い。また、*Obs* は褐円^{かつえん} (*L*) をはじめ幼虫斑紋に関する複数の変異体の形質発現を強く抑制する。遺伝子座は第 18 連関群 6.2 にある。原因遺伝子を単離するため、*Obs* 系統と正常系統との間で、 $+♀ \times (Obs \times +)♂$ の戻し交配を行い、次代 288 頭の DNA を解析した結果、原因領域を第 18 染色体の末端 300kb に絞った。この領域には、15 個のタンパク質コード遺伝子が予測されているが、うち 9 個のみが真皮で転写されていた。特に、その 1 つであるクチクラタンパク質遺伝子 *BMCPA* のシグナルペプチドコード配列が、*Obs* 個体で特異的に 24 塩基の欠失を生じていた。この変異は、タンパク質前駆体の小胞体への移行を妨げると推定される。*Obs* では多くの遺伝子の転写物の量が有意に変化していたので、合成量の多いタンパク質である *BMCPA* の分泌障害が、核の遺伝子発現に影響を与え、その結果油蚕など多面的な形質発現をもたらすと考察した。

要するに、本研究は 3 つの油蚕 *ov*、*ok* および *Obs* について、原因遺伝子の有力候補を発見するとともに、形質発現の分子機構に踏み込んだ解析と考察を行ったものである。得られた知見は、昆虫の分子細胞生物学や生理学の上で重要であるだけでなく、カイコの遺伝育種学を通して産業にも貢献する。したがって、審査委員一同は、本論文を博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。