

## 研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

|  |         |  |           |            |               |
|--|---------|--|-----------|------------|---------------|
| 研究テーマ<br>(和文) AB   |         | カイコの休眠性を司る遺伝子の同定   |           |            |               |
| 研究テーマ<br>(欧文) AZ   |         | Identification of the diapause-regulatory gene in the silkworm, <i>Bombyx mori</i> . |           |            |               |
| 研究氏<br>代表<br>名<br>者  | カタカナ CC | 姓)キウチ  | 名)タカシ     | 研究期間 B     | 2015 ~ 2016 年 |
|  | 漢字 CB   | 木内   | 隆史        | 報告年度 YR    | 2016 年        |
|  | ローマ字 CZ | KIUCHI   | TAKASHI   | 研究機関名      | 東京大学          |
| 研究代表者 CD<br>所属機関・職名  |         | 東京大学大学院農学生命科学研究科・助教  |           |            |               |
| 概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)  |         |  |           |            |               |
| <p>カイコの性染色体であるZ染色体上には <i>Late maturity</i>(<i>Lm</i>)と名付けられた遺伝子がある。<i>Lm</i>は90年以上も前に報告された発育を遅延させることで計量形質に影響を与える遺伝子であり、環境に応じて休眠性を支配することが知られている。応用的な利用価値が高い遺伝子であることから、長年にわたり分子実体の解明が望まれてきた遺伝子ではあるが、現在のところ同定には至っていない。なぜなら、計量形質や休眠性に影響を与える遺伝子が常染色体上にも複数存在し、遺伝学的な絞り込みを困難にしているからである。本研究者はこの問題を解決するために、Z染色体の <i>Lm</i> 候補領域以外を非休眠性の系統に置換したコンジェニック系統を4年の歳月をかけて作出した。コンジェニック系統と非休眠性の系統は <i>Lm</i> 候補領域以外に関しては遺伝的なバックグラウンドが同じであるため、<i>Lm</i> が形質に与える影響を正確に評価できる。このコンジェニック系統を用いた解析から、<i>Lm</i> 候補領域はZ染色体上の約1 Mbの範囲に絞られていた。本研究では、候補領域内から <i>Lm</i> 遺伝子を同定することを目的とした。</p> <p>本研究では、コンジェニック系統と非休眠性系統の休眠制御に関与する器官(脳および食道下神経節)におけるトランスクリプトームの比較を行った。コンジェニック系統と非休眠性系統の染色体構成の差はZ染色体の <i>Lm</i> 候補領域に限定されるため、両者を比較することで <i>Lm</i> に直接もしくは間接的に影響される遺伝子のみを比較することが可能である。<i>Lm</i> 候補領域内に存在する遺伝子の配列およびその発現量をリスト化し比較したところ、一つの転写因子の配列がコンジェニック系統と非休眠性系統の間で一部異なり、またその発現量が低くなっていることが判明した。そこでゲノム編集技術であるCRISPR/Cas9システムを用いてこの転写因子をノックアウトしたところ、通常休眠卵を産下するような環境条件で飼育したカイコが非休眠卵を産むようになった。また、計量形質の指標となるボディサイズの減少も確認された。</p> <p>以上の結果から、本研究者は、この転写因子が <i>Lm</i> の実態であると考えている(投稿準備中)。今後は同定した転写因子を足がかりに、休眠制御カスケードの全容を明らかにしたいと考えている。</p> |         |  |           |            |               |
| キーワード FA   | カイコ     | 休眠   | コンジェニック系統 | トランスクリプトーム |               |

(以下は記入しないでください。)

|            |  |  |  |  |           |  |  |  |  |  |  |  |  |
|------------|--|--|--|--|-----------|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 助成財団コード TA |  |  |  |  | 研究課題番号 AA |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 研究機関番号 AC  |  |  |  |  | シート番号     |  |  |  |  |  |  |  |  |

| 発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。） |                    |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|-----------------------------------|--------------------|---|-------------------|--|--|--|--|--------------------|--|
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  |   | 雑誌名 <sup>GC</sup> |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | ～ | 発行年 <sup>GE</sup> |  |  |  |  | 巻号 <sup>GD</sup>   |  |
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  |   | 雑誌名 <sup>GC</sup> |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | ～ | 発行年 <sup>GE</sup> |  |  |  |  | 巻号 <sup>GD</sup>   |  |
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  |   | 雑誌名 <sup>GC</sup> |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | ～ | 発行年 <sup>GE</sup> |  |  |  |  | 巻号 <sup>GD</sup>   |  |
| 図書                                | 著者名 <sup>HA</sup>  |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 書名 <sup>HC</sup>   |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 出版者 <sup>HB</sup>  |   | 発行年 <sup>HD</sup> |  |  |  |  | 総ページ <sup>HE</sup> |  |
| 図書                                | 著者名 <sup>HA</sup>  |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 書名 <sup>HC</sup>   |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 出版者 <sup>HB</sup>  |   | 発行年 <sup>HD</sup> |  |  |  |  | 総ページ <sup>HE</sup> |  |

欧文概要 <sup>EZ</sup>

The *Late maturity (Lm)* gene on the sex chromosome delays the silkworm development and affects the quantitative character. The *Lm* also regulates diapause which is induced by external environment. Since the *Lm* is economically important gene, molecular identification of the gene has been strongly desired. However, no one knows the responsible loci because other autosomal genes, which affect quantitative character and diapause, disturb genetically identification of the gene. In order to solve this problem, we established the congenic strain whose chromosome is replaced by a non-diapause strain except for the *Lm* locus. Because the genetic background of the congenic strain is the same as the non-diapause strain, we can precisely examine the effects of *Lm* locus on quantitative character and diapause. The phenotype of the congenic strain indicated that the candidate region for the *Lm* locus is approximately 1 Mb region on Z chromosome. In this study, we identified the *Lm* gene from this candidate region.

We compared the transcriptome in diapause regulatory-organs (i. e. brain and suboesophageal ganglion) between the congenic strain and the non-diapause strain. We can compare direct or indirect effects of *Lm* gene in the transcriptome because the difference of chromosomal composition in both strains is restricted to the *Lm* locus. The expression levels and the sequences of genes are examined in candidate region and we finally found the possible candidate gene for *Lm* phenotype, which encodes a transcription factor. The N-terminal amino acid sequence of the transcription factor was different in both strains and the mRNA expression was decreased in non-diapause strain. Therefore, CRISPR/Cas9-mediated gene knockout of the transcription factor was performed in a bivoltine strain. Moths of the knockout strain produced non-diapause eggs in diapause condition and their body size, which reflects the quantitative character, was decreased.

From these results, we conclude that the transcription factor is responsible for the *Lm* phenotype. Using this transcription factor, the molecular signaling pathway in diapause regulation will be cleared in the future.