

平成26年8月25日
独立行政法人農業生物資源研究所

カイコの卵で導入遺伝子を強力に働かせることに成功 －組換えカイコによる有用物質生産技術を使いやすく－

ポイント

- ・ **カイコの卵で遺伝子を強く働かせるプロモーターを発見しました。**
- ・ **これまで、組換えカイコを作出する際、目的の遺伝子が導入された卵の選抜には熟練が必要でしたが、このプロモーターを利用することにより、誰でも素早く正確に目的とするカイコの卵を選抜できます。**

概要

1. カイコはタンパク質生産能力が高く、検査薬などに使われる有用タンパク質を生産する遺伝子組換えカイコを利用した有用物質生産の事業化も始まっています。
2. しかしながら、目的の遺伝子が組込まれた組換えカイコができる確率は数百分の1であり、生育後に選抜する方法では非常に効率が悪いため、卵の段階で目的とするカイコを容易に選抜する技術開発が望まれていました。
3. 卵での選抜には、「マーカー遺伝子」の働きを見ることで選抜を行うことになりましたが、このたび、独立行政法人農業生物資源研究所（生物研）は、マーカー遺伝子を強力に働かせるための**プロモーター¹⁾**を発見しました。また、このプロモーターは卵のほか、幼虫、蛹、成虫の全ての成長段階において強く働くことがわかりました。
4. このプロモーターを利用すれば、マーカー遺伝子の働きを容易に確認することが可能なため、卵の段階で目的とするカイコを容易に判別できるようになり、選抜作業は飛躍的に効率化します。
5. また、このプロモーターは、カイコのどの組織でも同様に強く働くため、さまざまな遺伝子の機能をこれまでよりも容易に調べることが可能となり、有用物質生産の効率化や害虫制御剤の開発などに繋がります。

予算：運営費交付金

特許：特願 2013-168655

問い合わせ先など

研究代表者： (独) 農業生物資源研究所 理事長 廣近 洋彦
研究推進責任者： (独) 農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究センター
遺伝子組換えカイコ研究開発ユニット長 瀬筒 秀樹

研究担当者： (独) 農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究センター
遺伝子組換えカイコ研究開発ユニット 任期付研究員 坪田 拓也
電話：029-838-6091 E-mail：tsubota@affrc.go.jp
(独) 農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究センター
遺伝子組換えカイコ研究開発ユニット 主任研究員 内野 恵郎
広報担当者： (独) 農業生物資源研究所 広報室長 谷合幹代子
電話：029-838-8469

本資料は筑波研究学園都市記者会、農政クラブ、農林記者会、農業技術クラブに配付
しています。

開発の社会的背景

カイコはショウジョウバエやカなどとともに、遺伝子組換え技術が確立している昆虫です。大型昆虫であるカイコでは、この技術により医薬品タンパク質などの有用物質生産が行われており、カイコを用いて生産されたヒトコラーゲンなどはすでに市販されています。一方で、カイコはゲノムや完全長 cDNA の大規模解読に成功しており、チョウ目昆虫に選択的に作用する害虫制御剤の開発につながる遺伝子や、有用物質生産の効率化に資する遺伝子の特定の加速化が期待されています。

研究の経緯

遺伝子組換えカイコを作製する際には、組換えたい遺伝子と同時に、蛍光タンパク質などのマーカー遺伝子とその働きを制御するプロモーターを導入します。そして、卵で蛍光が起こるかどうかを観察し、ねらいとする組換えに成功したかどうかを判別します。これまで使われてきたプロモーターでは、卵のごく一部の領域でしか蛍光タンパク質を働かせることができないことや、組換え体の判別が可能な日が卵の期間(11日間)のうちの約2日間しかないという問題点があり、判別作業が非常に困難でした。このことから、卵の状態で強力かつ長期間働くプロモーターが求められていました。

カイコゲノム情報を活用して有用遺伝子を特定するためには、遺伝子の機能を調べる必要があります。これまでこのような解析には、全身で遺伝子を働かせることができる**アクチンプロモーター²⁾**が主に使われてきました。しかしながら、このプロモーターは働きが弱く、遺伝子の機能を十分に調べることができませんでした。このことから、アクチンプロモーターに代わる、全身で強力に働くプロモーターが求められていました。

研究の内容・意義

1. カイコから卵、幼虫、蛹、成虫といった様々な成長段階でかつ全身で強く働く「*hsp90* (エイチエスピー90) 遺伝子」を発見し、またそのプロモーターを特定しました。
2. このプロモーターを利用して緑色蛍光タンパク質(GFP)遺伝子をカイコで発現させました。その結果、カイコの様々な成長時期において、GFP が全身で非常に強く働くことが分かりました(図1)。特に、卵の時期においてGFPは少なくとも5日間強力に働いたため、このプロモーターを用いることで、卵での組換え体の判別がこれまでよりもはるかに容易になるだけでなく、この5日間ならいつでも判別作業を行えることが分かりました。
3. *hsp90* プロモーターは、アクチンプロモーターに比べ約20倍強い活性を持っていることが分かりました。このことから、*hsp90* プロモーターを用いれば全身でより強く遺伝子を働かせることが可能になることから、これまで働きが弱く機能が分からなかった遺伝子についても、その機能を明らかにすることができます。

今後の予定・期待

今回開発した *hsp90* プロモーターを利用することで、卵で蛍光を強く光らせることができるようになるため、組換え体の判別が格段に容易になります。また、長期間卵を光らせることができるようになるため、長い期間に渡って判別を行うことができます。これらにより、目的とするカイコ組換え体の選抜作業が飛躍的に効率化します。さらに、このプロモーターを利用することで、全身で強力に遺伝子を働かせることが

でき、これまでよりもさらに詳しく遺伝子の機能を調べることが可能になります。以上のことから、*hsp90* プロモーターを利用することで有用物質生産の効率化や害虫の新規制御剤の開発に向けた研究が大きく加速化することが期待されます。

発表論文

Tsubota T, Uchino K, Suzuki K T, Tanaka H, Kayukawa T, Shinoda T, Sezutsu H (2014) **Identification of a novel strong and ubiquitous promoter/enhancer in the silkworm *Bombyx mori***. G3: Genes, Genomes, Genetics DOI:10.1534/g3.114.011643

用語の解説

1) プロモーター

遺伝子がいつ、どこで、どの程度働くのかを決定する制御部位のこと。

2) アクチンプロモーター

全身で働く細胞骨格遺伝子アクチンのプロモーター。

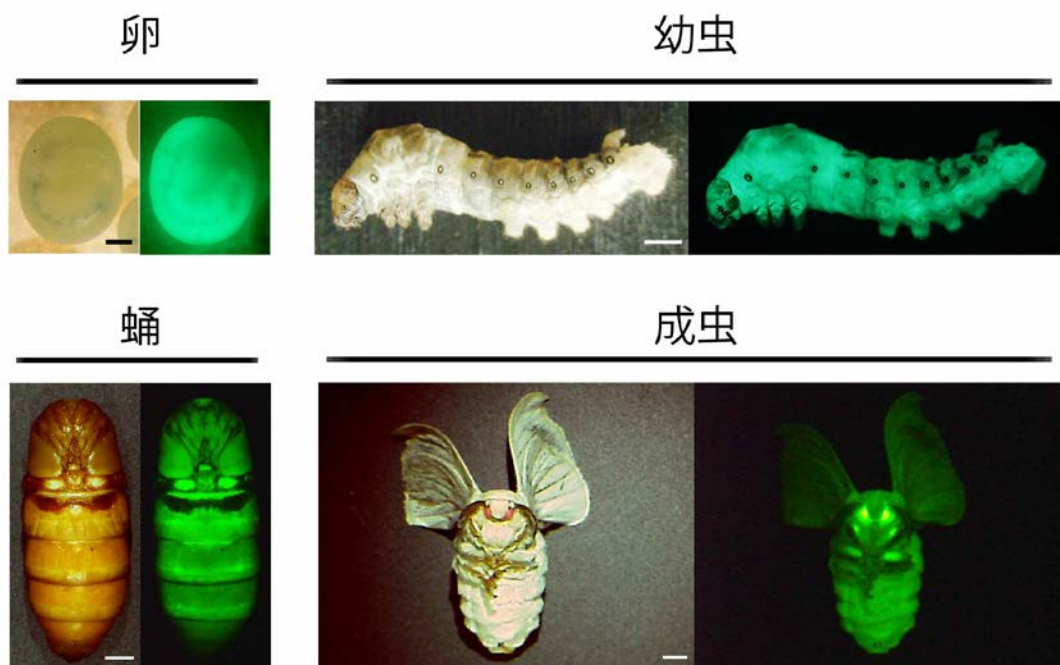


図1 カイコの卵、幼虫、蛹（さなぎ）、成虫での *hsp90* プロモーターの活性
それぞれ左の写真が白色光下、右の写真が蛍光下で撮影したもの。右側の写真で緑色に光っているのが活性がある部分で、*hsp90* プロモーターは各段階の全身で活性をもつことがわかります。スケールバーは卵が 0.3mm、幼虫が 1mm、蛹と成虫が 3mm を示します。