

琉球大学学術リポジトリ

東アジア各地に生息するクワコを含む野蚕集団の、 進化地理学・集団遺伝学的考察

メタデータ

言語:

出版者: 中島裕美子

公開日: 2010-10-05

キーワード (Ja): クワコ(*Bombyx mandarina*), 野蚕,
ミトコンドリアCox1遺伝子, ALP遺伝子(Alp-m, Alp-s),
介在配列, ビテロジェニン遺伝子, rDNA遺伝子領域,
(Alp-mとAlp-s), MOKO硫化酵素遺伝子(og),

アルカリフォスファターゼ(ALP),

アルカリフォスファターゼ(ALP)遺伝子,

アルカリ性フォスファターゼ(ALP), クワコ(*Bombyx mandarina*), ミトコンドリア(mt)cox1遺伝子,

ミトコンドリア(mt)cox遺伝子

キーワード (En): mariner-like-elements(MLEs), *Bombyx mandarina*, Wild Silk moth, Mitochondria Cox1 gene, ALP gene (Alp-m, Alp-s), Intergenic region, Vitellogenin gene, rDNA region, (Alp-m,Alp-s), Bmmar6,

Cecropia-ITR-MLE, L1Bm

作成者: 中島, 裕美子, 前川, 秀彰, 行弘, 研司, 伊藤, 雅信,
伴野, 豊, 梶浦, 善太, 日下部, 宜宏, 佐原, 健, Nakajima,
Yumiko, Maekawa, Hideaki, Yukuhiro, Kenji, Itoh,
Masanobu, Banno, Yutaka, Kajiura, Zenta, Kusakabe,
Takahiro, Sahara, Ken

メールアドレス:

所属:

研究成果報告書

東アジア各地に生息するクワコを含む野蚕集団の
進化地理学、集団遺伝学的考察

課題番号：17405023

平成 17 年度～平成 19 年度 科研費研究補助金
(基盤研究(B)) 研究成果報告書

平成 20 年 4 月

研究代表者 中島 裕美子

国立大学法人琉球大学・分子生命科学研究センター・准教授

はしがき

クワコ(*Bombyx mandarina*)はカイコ (*Bombyx mori*) と共通の祖先から約300万年前に分岐したと推察されており、東アジア各地に分布している。クワコとカイコは交雑可能であるが、染色体数に注目してみると、中国、台湾に生息しているクワコは $n=28$ 、日本に生息しているクワコは $n=27$ 、韓国には $n=27$ と $n=28$ の両方の個体が存在して(時には $n=27,28$ のハイブリッド個体も観察される) いるという報告がこれまでなされてきた。カイコは中国で約5000年前に家畜化されて養蚕に使われるようになり、1500年前に中国から日本に移入されたと考えられている。中国、韓国、日本に生息しているクワコの個体形態、染色体数、たんぱく質多型、アシルフォルリン遺伝子の塩基配列などを指標とした地理的変異を含めた比較の結果から、日本のカイコが中国に生息しているクワコおよび飼育されているカイコと同じ性質を持っていることが示されてきた。この結果は日本に生息するクワコが人為的に移入されたカイコと異なるルートで日本に伝播した可能性を支持しているが、日本のクワコの位置づけははっきりしていなかった。

一方クワコ以外の野蚕の中には同じ種と考えられているものでも、生息場所によって、形態や染色体数が異なるいくつかのグループがあることが考えられていたが、詳細な調査はこれまでなされていない。

以上を踏まえて、本研究においては、東アジア各地に生息しているクワコを含む野蚕について日本に生息している集団やカイコと比較しつつ、地域集団ごとの遺伝学的バックグラウンドを総合的に分析することを目的として、まず代表者を中心として、各地から個体を採集し、ゲノム DNA を抽出、染色体標本作製後、分担者が各領域を比較解析してそれを総合的に評価する方針で計画を進めた。

主な解析担当は以下である。

中島裕美子(代表者)が MLE (*mariner-like-element*) とそれに挿入された配列の解析、行弘研司が *Og*(*Organdy* 遺伝子)とミトコンドリアの *Cox1* 遺伝子領域の解析、伊藤雅信が縦列重複した2つの *Alp* (アルカリフォスファターゼ) 遺伝子とそれらに挟まれた介在配列領域、梶浦善太が *Vg* (ピテロジェニン) 遺伝子とそのプロモーター領域の解析、前川秀彰が *28SrDNA* 領域の解析、伴野豊が染色体数の比較解析、佐原健が野蚕における FISH と GISH 解析、日下部宜宏が有望なマーカー領域の検索を行った。

これらの結果を統合的にまとめると、日本産のクワコは明らかに大陸のクワコとは異なる遺伝的な性質を有していること、野蚕はカイコガ属よりも遠い関係にあることが示唆された。

研究組織

- 研究代表者： 中島 裕美子 (琉球大学・遺伝子実験センター・准教授)
研究分担者： 前川 秀彰 (琉球大学・遺伝子実験センター・教授)
研究分担者： 行弘 研司 (独立行政法人農業生物資源研究所・主任研究官)
研究分担者： 伊藤 雅信 (京都工芸繊維大学・農学研究院・准教授)
研究分担者： 伴野 豊 (九州大学大学院・大学院工芸科学研究科・准教授)
研究分担者： 梶浦 善太 (信州大学・繊維学部・准教授)
研究分担者： 日下部 宜宏 (九州大学大学院・農学研究院・准教授)
研究分担者： 佐原 健 (北海道大学大学院・農学研究科・助教)

交付決定額 (配分額)

	直接経費	間接経費	合計
平成17年度	5,600,000	0	5,600,000
平成18年度	3,500,000	0	3,500,000
平成19年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
総計	12,700,000	1,080,000	13,780,000

※ 研究発表

(1) 原著論文

1. Yoshido, A., Marec, F., and **Sahara, K.** (2005): Resolution of sex chromosome constitution by genomic in situ hybridization and fluorescence in situ hybridization with (TTAGG) n telomeric probe in some species of Lepidoptera. *Chromosoma*, 114, 193-202.
2. Takahashi M., Lee J., Mon H., Yoshida H., Kawaguchi Y., **Maekawa H.**, Koga K., and **Kusakabe T.** (2006): Radiation resistance and its inheritance in the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 51, 261-264.
3. Kawaguchi Y., **Kusakabe T.**, Lee J. M., **Nakajima Y.** and K., Koga. (2006): Micropylar structure of chorion of the female sterile mutation, bd, in *Bombyx mori*. *J. of Insect Biotechnology and Sericology*, 75(1): 9-14.
4. Takada N., Yamauchi E., Fujimoto H., **Banno Y.**, Tsuchida K., Hashido K., **Nakajima Y.**, Tu Z., Takahashi M., Fujii H., Fugo H., and **Maekawa, H.** (2006): A novel indicator for

- radiation sensitivity using the wing size reduction of *Bombyx mori* pupae caused by X-ray irradiation. J. of Insect Biotechnology and Sericology, 75(1): 161-165.
5. Yoshido, A., Yamada, Y., **Sahara, K.** (2006): The W chromosome detection in several lepidopteran species by genomic *in situ* hybridization (GISH). J. of Insect Biotechnology and Sericology, 75 (3), 147-151.
 6. Taniguchi, M., Atiwetin, P., Hirai, T., **Itoh, M.**, Harada, S., Hara, S., and Kamei, K. (2006): Interaction of Subtilisin BPN' and recombinant Fungal Protease Inhibitor F from silkworm with substituted P1 site residues. Biosci. Biotechnol. Biochem.,70, 1262-1264.
 7. Meng, Y., Liu, C., Shiomi, K., Nakagaki, M., **Banno, Y.**, and **Kajiura, Z.** (2006): Genetic variations in the vitellogenin of Japanese populations of the wild silkworm *Bombyx mandarina*. J. of Insect Biotechnology and Sericology, 75(3), 127-134.
 8. Meng, Y., Liu, C., Zhao, A., Shiomi, K., Nakagaki, M., and **Kajiura, Z.** (2006): Vitellogenin gene organization of *Antheraea yamamai* and promoter activity analysis. Int. J. of Wild Silkworm & Silk., 11, 29-40.
 9. **Yukuhiro, K.**, Miyazawa, M., Mita, K. (2007): Six different silk protein genes homologous to those of *Nephila clavipes* expressed in the Joro spider, *Nephila clavata* silk glands. Entomological Research, 37(s1):A89.
 10. Kawanishi, Y., Takaishi, R., **Banno, Y.**, Fujimoto, H., Nho, S. K., **Maekawa, H.**, and **Nakajima, Y.** (2007) : Sequence comparison of *mariner*-like elements among the population of *Bombyx mandarina* inhabiting China, Korea, and Japan. J. of Insect Biotechnology and Sericology ,76 (2):79-87.
 11. Yoshido, A., Yasukochi, Y., Marec, F., Abe, H., **Sahara, K.** (2007): FISH analysis of the W chromosome in *Bombyx mandarina* and several other species of Lepidoptera by means of *B. mori* W-BAC probes. J. of Insect Biotechnology and Sericology, 76(1), 1-7.
 12. Lee, J., Mon, H., Takahashi, M., Kawakami, N. Aoki, Y., Yoshida, Y., **Banno, Y.**, Koga, K., Kawaguchi, Y., **Kusakabe, T.** (2007): Screening of high-permissive silkworm strains for efficient recombinant protein production in *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AcNPV). J. of Insect Biotechnology and Sericology, 76,(3), 101-106.
 13. Zhang, P., Aso, Y., Jikuya, H., **Kusakabe, T.**, Lee, J., Kawaguchi, Y., Yamamoto, K., **Banno, Y.**, Fujii, H. (2007): Proteomic profiling of the silkworm skeletal muscle proteins during larval-pupal metamorphosis. J. of Proteome research, 6, 2295-2303.
 14. Meng, Y., Liu, C., Shiomi, K., Nakagaki, M., **Banno, Y.**, and **Kajiura, Z.** (2008): Purification and cDNA Cloning of Vitellogenin of the Wild Silkworm, *Saturnia japonica* (Lepidoptera: Saturniidae) , J. of Insect Biotechnology and Sericology, 77(1), 35-44.

15. Kawanishi, Y., Morimoto, M., **Banno, Y.**, Nho, S. K., **Maekawa, H.**, and **Nakajima, Y.** (2008) : A novel *maT*-type transposable element, *BmamaT1*, in *Bombyx mandarina*, homologous to the *B. mori mariner*-like element *Bmmar6*. Journal of Insect Biotechnology and Sericology , 77 (1), 45-52
16. Lee, J., Takahashi, M., Mon, H., **Nakajima, Y.**, Koga, K., Kawaguchi, Y., **Kusakabe, T.** (2008) : Construction of gene expression systems in insect cell lines using promoters from the silkworm, *Bombyx mori*. J. of Biotechnology, 133, 9-17.
17. **Itoh, M.**, Nishimura, M., **Yukuhiro, K.**, Yoshioka, Y., Miyata, S., and Yamaguchi, M. (2008) Duplicated alkaline phosphatase genes in the wild silkworm *Bombyx mandarina* inhabiting Japan: phylogenetic relationship to the orthologs in *Bombyx mori*. J.of Insect Biotechnmology and Sericology, 77(2), in press.
18. Kawanishi, Y., **Banno, Y.**, Fujimoto, H., Nho, S. K., Tu, Z., Mita, K., Tshuchida, K., Takada, N., **Maekawa, H.**, and **Nakajima, Y.** (2008): Method for rapid distinction of *Bombyx mandarina*(Japan) from *B. mandarina*(China) based on rDNA sequence. J. of Insect Biotechnology and Sericology, 77(2), in press.
19. 川西祐一, 伴野 豊, 藤本浩文, 中島裕美子, 前川秀彰(2008) : =カイコとクワコの進化的繋がり = 転移因子研究との関わりを含めて =, Entomotech, 32, 79-86.

(2) 著書

1. 中島裕美子 (2006): 転移性配列を利用した亜熱帯域生物の集団遺伝学的解析 (琉球大学21 世紀COE プログラム編集委員会編)「美ら島の自然史ーサンゴ礁島嶼系の生物多様性」東海大学出版会, 87-100

(3) 総説

1. 行弘研司、河本夏雄、小瀬川英一、廣川昌彦、立松謙一郎、伊藤雅信、伴野豊。(2007) : 家畜化された昆虫であるカイコともっとも近縁な野生種である日本産クワコの塩基配列を比較する。 昆虫 DNA 研究会ニュースレターp22-24.
2. 中島裕美子(2007) : 水平伝播型転移因子 *mariner*-like-element (MLE) 研究への新たな観点. 蚕糸・昆虫バイオテック, 76(2): 141-142.

(4) Proceedings

1. Kawanishi, Y., Takaishi, R., **Banno, Y.**, Fujimoto, H., **Maekawa, H.**, and **Nakajima, Y.** (2005): Sequence Comparison of *mariner*-like-elements and inserted sequences into them among *Bombyx mandarina* inhabiting in China, Korea and Japan. 5th Asia-Pacific Congress of Entomology (Insects, Nature and Humans): 60 (Symposia).

(5) 学会発表等-口頭発表およびポスター発表)

1. 吉戸敦生, 佐原健. (2005): GISH と telomereFISH を用いた鱗翅目昆虫の性染色体構成と進化について. 蚕糸・昆虫機能学術講演会, 平成 17 年度日本蚕糸学会第 75 回大会 (東京大学, 4 月 3 日~4 日)
2. 川西祐一, 高石礼子, 伴野豊, 藤本浩文, 前川秀彰, 中島裕美子. (2005): 日本, 韓国, 中国に生息するクワコにおける *Cecropia*-ITR-MLE の多様性とその地理的分布の解析, および MLE への挿入配列間比較からの考察. 蚕糸・昆虫機能学術講演会, 平成 17 年度日本蚕糸学会第 75 回大会 (東京大学, 4 月 3 日~4 日)
3. 西村美香, 行弘研司, 伊藤雅信. (2005): カイコとクワコにおける *Alp* 遺伝子の重複と塩基置換. 蚕糸・昆虫機能学術講演会, 平成 17 年度日本蚕糸学会第 75 回大会 (東京大学, 平成 4 月 3 日~4 日)
4. 行弘研司, 河本夏雄, 小瀬川英一, 廣川昌彦, 立松謙一郎. (2005): カイコの MITE 様トランスポゾン *Organdy* のサイズクラス毎の挿入頻度の違い. 蚕糸・昆虫機能学術講演会, 平成 17 年度日本蚕糸学会第 75 回大会 (東京大学, 平成 4 月 3 日~4 日)
5. 行弘研司, 河本夏雄, 小瀬川英一, 廣川昌彦, 立松謙一郎. (2005): *og* 遺伝子の塩基多様性からみたカイコの起原と日本産クワコの関わり. 日本野蚕学会第 11 回大会講演 (横浜市, 神奈川県民ホール, 5 月 10 日~11 日)
6. 行弘研司, 河本夏雄, 小瀬川英一, 廣川昌彦, 立松謙一郎. (2005): モイブデン補酵素硫化酵素をコードする *og* 遺伝子の遺伝的多様性からみたカイコの家畜化. 第 7 回日本進化学会大会 (平成 17 年 8 月) p100, (2005)
7. 行弘研司, 河本夏雄, 小瀬川英一, 廣川昌彦, 立松謙一郎. (2005): カイコにおけるモリブデン補酵素硫化酵素をコードする *og* 遺伝子およびミトコンドリア *cox 1* 遺伝子の遺伝的多様性. 日本遺伝学会第 77 回大会 (東京, 国立オリンピック記念青少年総合センター, 9 月 26 日~29 日)
8. 中島裕美子. (2005): 進化系統樹からみた遺伝子の水平伝播. 離散事象システム研究会 (平成 17 年 9 月 30 日, 那覇市, 自治会館) (招待講演)
9. Kawanishi, Y., Takaishi, R., Banno, Y., Fujimoto, H., Maekawa, H., and Nakajima, Y. (2005): Sequence Comparison of *mariner*-like-elements and inserted sequences into them among *Bombyx mandarina* inhabiting in China, Korea and Japan. 5th Asia-Pacific Congress of Entomology (Insects, Nature and Humans): (Symposia) (韓国, Cheju, 10 月 18 日~21 日) (招待講演)
10. **Yukuhiro, K.**, Kômoto, N., Kosegawa, E., Hirokawa, M, and Tatematsu, K. (2005): Genetic

diversity within *Bombyx mori* and between *B. mori* and *B. mandarina*. 5th Asia-Pacific Congress of Entomology (Insects, Nature and Humans): (韓国, Cheju, 10月18日～21日)

11. Meng, Y., Zhao, A., Liu, C., Shiomi, K., Nakagaki, M. and Kajiura, Z. (2005): vitellogenin gene cloning of the wild silkworm, *Antheraea yamamai*. 日本蚕糸学会中部支部大会 (信州大学, 11月)
12. 行弘研司, 河本夏雄, 小瀬川英一, 廣川昌彦, 立松謙一郎. (2005) : カイコ*Bombyx mori*の遺伝的多様性への家畜化の効果. 第28回日本分子生物学会年会 (福岡市, 福岡ヤフードーム, 12月7日～10日)
13. **Sahara, K.**, Yoshido, A. and Yasukochi, Y. (2006): BAC-FISH analysis of *Bombyx mori* chromosomes. International symposium on insect genetics and genomics, 2006.1.9-11. Centre for DNA fingerprinting and diagnostics, Hyderabad, India. (招待講演)
14. Kawanishi, Y., Takaishi, R., **Banno, Y.**, Fujimoto, H., **Maekawa, H.**, **Nakajima, Y.** (2006): The relationship between the mariner-like sequences classified into the Cecropia-MLE-ITR (*Bmmar2*) and the inserted elements *L1Bm* and *Bmmar6* among the populations of *Bombyx mandarina* inhabiting in Japan, Korea and China. International symposium on insect genetics and genomics, 2006.1.9-11. Centre for DNA fingerprinting and diagnostics, Hyderabad, India. (招待講演)
15. **Kusakabe, T.**, Mon, H., Tsukioka, H., Lee, J.M., Kawaguchi, Y. (2006): DNA repair and recombination in insect cells. International symposium on insect genetics and genomics, 2006.1.9-11. Centre for DNA fingerprinting and diagnostics, Hyderabad, India. (招待講演)
16. 川西祐一, 高石礼子, 伴野豊, 藤本浩文, 前川秀彰, 中島裕美子 (2006): 日本, 韓国, 中国に生息するクワコにおけるCecropia-ITR-MLEの多様性とその地理的分布の解析, およびMLEへの挿入配列間比較からの考察. 蚕糸・昆虫機能学術講演会, 平成18年度日本蚕糸学会第76回大会 (京都工芸繊維大学, 3月30日-31日)
17. 行弘研司, 河本夏雄, 小瀬川英一, 廣川昌彦, 立松謙一郎. (2006) : カイコと日本産クワコそれぞれに内在する遺伝的変異をDNAレベルで推測する. 蚕糸・昆虫機能学術講演会, 平成18年度日本蚕糸学会第76回大会 (京都工芸繊維大学, 3月30日-31日)
18. 行弘研司, 河本夏雄, 小瀬川英一, 廣川昌彦, 立松謙一郎. (2006) : 日本産クワコのモリブデン補酵素硫化酵素遺伝子(*og*)で観察される挿入多型. 日本野蚕学会第12回大会 (東京, 東京農大世田谷キャンパス, 6月17日)

19. Kawanishi, Y., Takaishi, R., **Banno, Y.**, Fujimoto, H., **Maekawa, H.**, **Nakajima, Y.**
(2006) : The relationship between the *mariner*-like elements classified into the *Bmmar2* and the inserted elements *L1Bm* and *Bmmar6* among the populations of *Bombyx mandarina* inhabiting in Japan, Korea and China. 2006年度第29回日本分子生物学会年会m20thIUBMB／第20回国際生化学・分子生物学会議, (京都, 京都国際会館, 6月18日-23日)
20. Mitsunobu, H. Mon, H., Takahashi, M., Lee, J. M., Kawaguchi, Y., **Kusakabe, Y.** (2006): Molecular cloning and characterization of HP1a, HP1b in the silkworm, *Bombyx mori*. 2006年度第29回日本分子生物学会年会m20thIUBMB／第20回国際生化学・分子生物学会議, (京都, 京都国際会館, 6月18日-23日)
21. **Yukuhiro, K.**, **Itoh, M.**, **Banno, Y.**, Komoto, N., Kosegawa, E., Hirokawa, M., Tatematsu, K., Nishimura, M., **Maekawa, H.**, Kawanishi, Y., **Nakajima, Y.** (2006): Molecular evolutionary comparison among some populations of *B. mandarina* distributing in China, Korea, and Japan while as comparing with some strains of *B. mori* by analyzing *og* gene, mitochondrial *cox1* gene, *Alp* genes, and *mariner*-like elements. The seventh International Workshop on the Molecular Biology and Genetics of the Lepidoptera (Orthodox Academy of Crete, Kolimpari, Crete, Greece, 8月20日-26日) 口頭発表
22. 川西祐一, 高石礼子, 伴野豊, 藤本浩文, 前川秀彰, 間野修平, 中島裕美子. (2006) : 転移因子*mariner*-like element (MLE) およびMLEに挿入されたレトロトランスポゾンの配列比較に基づくカイコとクワコの分岐経路の推定 日本進化学会2006年大会 (東京, 国立オリンピック記念青少年総合センター, 8月29日～31日)
23. 行弘研司, 河本夏雄. (2006): 日本産クワコのモリブデン補酵素硫化酵素遺伝子(*og*)で観察される挿入多型および挿入のキメラ様構造. 日本遺伝学会第78回大会 (つくば市, つくば国際会議場, 9月25日～27日)
24. 川西祐一・藤本浩文・伴野豊・前川秀彰・中島裕美子(2007): カイコの *mariner*-like element (MLE) を含む *BmTNML* 遺伝子座に注目したクワコとの分岐解析への利用. 平成 19 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 日本蚕糸学会第 77 回大会 (つくば: 農林水産技術会議事務局筑波事務所 4 月 3 日～4 日)
25. 松橋崇行・吉戸敦生・佐原健 (2007): カイコ BAC プローブを用いたクワコへの ZOO-FISH. 平成 19 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 日本蚕糸学会第 77 回大会 (つくば: 農林水産技術会議事務局筑波事務所 4 月 3 日～4 日)
26. 西村美香・伊藤雅信・行弘研司 (2007): *Alp* 遺伝子によるカイコとクワコの系統解析. 平成 19 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 日本蚕糸学会第 77 回大会 (つ

くば：農林水産技術会議事務局筑波事務所 4月3日～4日)

27. 行弘研司, 河本夏雄, 三田和英. (2007) : 日本産クワコのもリブデン補酵素硫化酵素遺伝子の仮想的転写開始点近傍における転移因子の挿入. 平成 19 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 日本蚕糸学会第 77 回大会 (つくば：農林水産技術会議事務局筑波事務所 4月3日～4日)
28. 行弘研司・河本夏雄・小瀬川英一・廣川昌彦・立松憲一郎・伊藤雅信・伴野豊(2007): 家畜化された昆虫であるカイコともっとも近縁な野生種である日本産クワコの塩基配列を比較する. 昆虫DNA研究会第4回研究集会 (松本市, 信州大学理学部, 5月3日)
29. **Maekawa, H.**, Mori, S., Ogura, T., Izumi, S., Mita, K., Tsuchida, K., Fujimoto, H., Kawanishi, Y., Imanishi, S., and **Nakajima, Y.** (2007): Evolution of hemolymph protein, 30k, genes in *Bombyx mori* and relating analysis to LSP and microvitellogenin. International Congress of Insect Biotechnology & Industry (**ICIBI**), Daegu, Republic of Korea. (EXCO, 8月19日～24日)
30. Kawanishi, Y., Takaishi, R., Banno, Y., Fujimoto, H., Nho, S. K., Tanaka, C., Tanaka, J., **Maekawa, H.**, and **Nakajima, Y.** (2007): Sequence comparison of the *mariner*-like-elements (MLEs) and their inserts among the populations of some species inhabiting in East Asian region. International Congress of Insect Biotechnology and Industry (**ICIBI**), Daegu, Republic of Korea. (EXCO, 8月19日～24日) 招待講演
31. 行弘研司, 河本夏雄, 三田和英. (2007): カイコとクワコにみられる 2 種のクラス 2 トランスポゾンの特性の比較. 日本遺伝学会第 79 回大会 (岡山, 岡山大学, 9月19日～21日)
32. **Kajiura, Z.**, Meng, Y., Liu, C., Shiomi, K., **Banno, Y.** and Nakagaki, M. (2007): Polymorphic Analysis of silkworm vitellogenins. Proceedings, CISC-6, SEP 2007.
33. 川西祐一, 伴野豊, 藤本浩文, 中島裕美子, 前川秀彰. (2007): カイコとクワコの進化的繋がりー転移因子研究との関わりを含めてー. 日本蚕糸学会第 73 回関西支部・第 63 回九州支部合同大会、昆虫機能・利用学術講演会 特別講演 (京都工芸繊維大学, 11月8日～9日)
34. 川西祐一, 大西一志, 笠原啓人, 辻和希, 前川秀彰, 中島裕美子. (2007): 南西諸島およびアフリカに生息するツヤオオズアリからの *mariner*-like element (MLE) 単離と系統解析. 日本蚕糸学会第 73 回関西支部・第 63 回九州支部合同大会、昆虫機能・利用学術講演会 (京都工芸繊維大学, 11月8日～9日)
35. 西村美香, 寺門真希, 行弘研司, 伊藤雅信 (2007): アルカリ性フォスファターゼ遺

伝子によるカイコとクワコの系統解析. 日本蚕糸学会第 73 回関西支部・第 63 回九州支部合同大会、昆虫機能・利用学術講演会（京都市，京都工芸繊維大学，11 月 8 日～9 日）

36. 寺門真希, 西村美香, 行弘研司, 伴野豊, 伊藤雅信 (2007): アルカリ性フォスファターゼ遺伝子クラスター介在配列によるカイコ品種の系統解析. 日本蚕糸学会第 73 回関西支部・第 63 回九州支部合同大会、昆虫機能・利用学術講演会（京都市，京都工芸繊維大学，11 月 8 日～9 日）
37. 酒部真里奈, 伊藤雅信. (2007): カイコの糸状菌プロテアーゼインヒビター F 型 (FPI-F) 遺伝子の探索. 日本蚕糸学会第 73 回関西支部・第 63 回九州支部合同大会、昆虫機能・利用学術講演会（京都市，京都工芸繊維大学，11 月 8 日～9 日）
38. Fujimoto, H., Pinak, M., Bunta, J.K., Nemoto, T., Takada, N., **Maekawa, H.** and Tsuchida., K. (2007): Structural analysis of the interaction between the Ku protein and DNA by using a molecular dynamics simulation technique. New Nuclear Research Symposium, Radiation responses to low dose radiation. （東京，11 月）
39. 川西祐一, 中島裕美子, 前川秀彰. (2007): 日本産クワコの由来 クワコ特有の染色体の探索とカイコとの比較. 生命誌研究館ワークショップ「チョウの翅から見る、生きものの機能・発生・進化」特別講演. （高槻市，11 月）
40. 川西祐一, 伴野豊, 盧時甲, 間野修平, 前川秀彰, 中島裕美子. (2007): *mariner*-like element (MLE) に挿入されたレトロトランスポゾン *L1Bm*、*MLEBmmar6* 領域、および rDNA クラスターの特性に基づく、クワコ集団間の比較、およびカイコとの分岐経路の考察. 第回日本分子生物学会大会（横浜，パシフィコ横浜 12 月日～ 日）
41. 行弘研司, 河本夏雄, 小瀬川英一, 廣川昌彦, 立松謙一郎, 伴野豊. (2008): 複数の遺伝子座におけるカイコ、日本産クワコそれぞれの種内変異および両者の種間変異. 平成 20 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会日本蚕糸学会第 78 回大会（名古屋，3 月 20 日～21 日）
42. 川西祐一, 屠振力, 伴野豊, 藤本浩文, 三田和英, 中島裕美子, 前川秀彰. (2008): リボゾーマル DNA を指標にした日本産クワコへのカイコ染色体侵入状況の解析. 平成 20 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会日本蚕糸学会第 78 回大会（名古屋，3 月 20 日～21 日）
43. 屠振力, 川西祐一, 伊等雅信, 伴野豊, 藤本浩文, 三田和英, 中島裕美子, 前川秀彰. (2008): 日本産クワコとカイコゲノムから特定遺伝子をスクリーニングする

ときの差を利用した家畜化関連遺伝子迅速単離方策への提言. 平成 20 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会日本蚕糸学会第 78 回大会 (名古屋大学, 農学部, 3 月 20 日～21 日)

44. 西村美香, 寺門真希, 行弘研司, 伴野豊, 伊藤雅信. (2008): アルカリ性フォスファターゼ遺伝子 (*ALP*) 領域によるカイコとクワコの系統解析. 平成 20 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会日本蚕糸学会第 78 回大会 (名古屋大学, 農学部, 3 月 20 日～21 日)
45. Kawanishi, Y., Takaishi, R., Morimoto, M., **Banno, Y.**, Nho, S. K., **Maekawa, H.** and **Nakajima, Y.** (2008): A novel *maT*-type transposable element, *BmamaT1*, in *Bombyx mandarina*, homologous to the *B. mori mariner*-like element *Bmmar6*. Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology (APSERI2008). (名古屋大学, 野依記念会館, 3 月 21 日～22 日) 口頭発表
46. Matsushashi, T., Yasukochi, Y., **Sahara, K.** (2008): ZOO-FISH mapping in *Bombyx mandarina*. Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology (APSERI2008). (名古屋大学, 野依記念会館, 3 月 21 日～22 日)
47. Yoshido A, Matsuda Y, **Sahara K** (2008): Comparative genome mapping in geographic population of the silkworm, *Samia cynthia*. Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology (APSERI2008). (名古屋大学, 野依記念会館, 3 月 21 日～22 日)
48. **Itoh, M.**, Nishimura, M., Terakado, M., **Banno, Y.**, and **Yukuhiro, K.** (2008): Phylogenetic analysis of *Bombyx mori* and *B. mandarina* by alkaline phosphatase gene regions. Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology (APSERI2008). (名古屋大学, 野依記念会館, 3 月 21 日～22 日)
49. 川西祐一, 大西一志, 辻和希, 前川秀彰, 中島裕美子. (2008) : 南西諸島およびアフリカに生息するツヤオオズアリからの *mariner*-like element (MLE) の単離と系統解析. 琉球大学 21 世紀 COE プログラム「サンゴ礁島嶼系の生物多様性の総合解析」成果発表会. (沖縄, 琉球大学 3 月 1 日)

(6) 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

なし

研究成果

1) 韓国、中国、日本に生息しているクワコについて、水平伝播型転移因子 *mariner* 様配列 (*mariner-like-element*: MLE) の解析を行った。MLE は色々のタイプがあるが、その中でも *Cecropia* 蚕の *mariner* 様配列、末端逆位繰り返し配列をプライマーとして PCR をすることによって単離されてくるタイプの MLE (*Cecropia*-ITR-MLE と命名) の解析を行った。その結果、このタイプの MLE は、日本に生息するクワコからの MLE の多くの配列が属する系統的に相同性の高いグループと、中国と韓国のクワコからの大半の配列が属する別の相同性の高くないグループと、2つのグループに分かれた。韓国や中国に生息するクワコの *Cecropia*-ITR-MLE は多様性が大きいのに対し、日本の本州に生息するクワコの MLE は近縁な集団であり、クワコにおける MLE のタイプ分布に地理的な違いがあることが示された。さらに、大陸に近い北海道や福岡、対馬のクワコは本州型と大陸型の MLE とを併せ持っており、MLE のタイプ分布が大陸と日本列島の地理的な位置関係を反映していることが示された。

2) 蚕の *BmTNML* (*Cecropia*-ITR-MLE にレトロトランスポゾン *L1Bm* が挿入され、更に、これにレトロトランスポゾン *BMC1* が挿入された3重構造のユニット) 部位に相当する領域を日本と韓国のクワコで調べたところ、MLE に *L1Bm* が挿入された配列は確認されたが、カイコで見られた、更にこれに *BMC1* が挿入した配列は単離されなかった。以上のことから、3つの転移因子がお互い挿入して構成された3重ユニットは、クワコとカイコを区別するマーカーの一つと考えることができた。

3) 2) の分析過程で、日本と韓国のクワコから、MLE に、*maT* ファミリーに属する転移因子 (*BmamaT1* と命名) が挿入されているクローンが単離された。この *BmTNML* 相当座位に挿入された *BmamaT1* 配列は、別の部位に単独で挿入されているものや、カイコゲノム中から単独に単離されたクローンに比べ、個体間ではるかに高い相同性を保持していた。また *BmamaT1* の挿入がないクローンの中に、*BmamaT1* が切出されたときに残るフットプリントが存在するものがあることから、ごく最近挿入と切出しが起り、現在も動いている可能性が示唆された。

4) 中国産、韓国産クワコのミトコンドリア *cox1* 遺伝子の部分塩基配列を決定した。これらをカイコおよび日本産クワコと比較したところ、両者ともカイコと極めて近縁であるが中国産のものがよりカイコに近いことが判明した。更に新たに解読したものと公開済みの配列をあわせたカイコ 63、中国産、韓国産クワコそれぞれ 2、日本産クワコ 75 クローンのミトコンドリア *cox1* 遺伝子の 693bp の配列を比較した。その結果以下のことが分かった。①日本産クワコとそれ以外は、少なくとも 15 サイトで異なる。②カイ

コでは4ハプロタイプが観察され、もっとも多いタイプと中国産、韓国産クワコのはそれぞれ2塩基異なっていた。③日本産クワコではハプロタイプが13種確認されたが、そのうちの2つが全体の80%を占めた。

5) 野蚕における GISH を行い WZ 染色体対の同定を行った。また、クワコにおけるカイコ BAC を用いた FISH により日本クワコの M 染色体に対応するカイコ染色体を特定した。しかし、カイコ BAC を用いた FISH はクワコ以下の他種野蚕には適応できないことが明らかとなった。

6) カイコの2つの *Alp* 遺伝子(*Alp-m* と *Alp-s*)は祖先遺伝子の重複によって生じたと考えられる。遺伝子の構造解析と免疫組織化学的手法により、同様の重複構造が日本産クワコにも存在することを明らかにした。さらにこれらの構造比較からカイコ *Alp* 遺伝子の進化を推定した。その結果、遺伝子部分の塩基配列は高度に保存されているのに対し、介在配列には大規模な構造上の改変(重複や挿入/欠失)が生じていた。カイコ介在配列の多型中もっとも出現頻度が高い C タイプが、クワコ介在配列と最も高い相同性を示した。カイコ C タイプは最も祖先的なタイプである可能性が示唆された。

7) カイコとクワコの分岐、進化の研究を進める過程で、28S rDNA 遺伝子のある特定の領域で、制限酵素 *EcoRI* による切断可否によって、日本クワコを効率的に見分ける方法を見出した。

8) ビテロジェニン遺伝子配列(非翻訳領域を含む cDNA618bp)を用いて、日本各地に生息するクワコ、中国 Hefei 系統のクワコについて既に登録されているカイコ (Kinshu× Showa)、野蚕 (サクサン、ヤママユガ、シンジュサン) との系統関係を解析した。その結果まず、野蚕と、カイコ・クワコの大きく2つのグループに分かれた。また、カイコはクワコのグループの中には入らず、更に、Hefei 系統のクワコは山形のクワコと最も相同性が高かった。この結果は、ビテロジェニン遺伝子が、カイコとクワコが分岐した後に、クワコの集団の中で多様化したことを支持している。

9) ヤママユガのビテロジェニン遺伝子の構造とプロモーター領域の活性を調べた。7個のエクソンと6個のイントロンから構成され、その構造は、カイコやマイマイガなどと類似していた。

10)台湾に生息するクワコの染色体数は28本であることが確認された。