

蜘蛛の糸を蚕に吐かせる研究 (遺伝子ターゲティングによる家蚕フィブロイン遺伝子の改造)

○中垣雅雄¹⁾・梶浦善太¹⁾・八森 章²⁾

信州大学 繊維学部 応用生物科学科¹⁾・高分子工業研究施設²⁾

1. 緒言

この研究は、カイコに『クモの巣』を張らせる研究ではなく、カイコの絹タンパク質遺伝子を改造し、『クモの糸』に似た絹糸をカイコにつくらせようとする研究である。「クモの糸は細くて簡単に切れてしまうので、繊維としての利用に向かないのでは？」と考えられがちであるが、クモの巣の放射状に張られた糸(縦糸)は、糸の太さ(断面積)あたりの強さに換算すると、どんな金属の針金よりも強い。縦糸の破壊に要するエネルギーは、鋼鉄繊維の5~10倍、炭素繊維の3.5倍であるといわれている。また、縦糸はとても軽い繊維で、地球一周に相当する4万kmの長さで340gしかない。さらに、縦糸は伸縮性に富み50%位まで伸びるという特徴がある。クモの巣の渦巻き状に張られた糸(横糸)もユニークな糸で、横糸に粘着性を付与する粘球は、クモの巣の弛みを修復する自動巻き取り機能もあるといわれている。

一匹のクモが作る糸には、性質の異なった数種類の糸があるが、どの糸も軽くて丈夫で、弾力性があり、繊維として魅力的な性質をもっている。しかし、一匹のクモが一度に出す糸の量はそれほど多くなく、繊維として利用することはとても難しいといわれている。

クモの糸もカイコの絹糸も「フィブロイン」というたんぱく質からできている。遺伝子組換えの技術を使って、カイコの絹フィブロインをつくる遺伝子をクモ糸の遺伝子に置換えることができれば、その遺伝子組換えカイコは『クモの糸』に似た絹を絹糸腺内に蓄積し、それを吐糸する。つまり、家蚕絹とは一味違った風合いをもつ新しい絹が創出できるはずである。

2. 実験方法

カイコの絹は、フィブロイン分子(分子量約37万)のH鎖(heavy chain)サブユニット(分子量30~35万)にL鎖(light chain)サブユニット(分子量約2.5

万)がSS結合で結合した構造をとる。第25染色体(連関群)にあるH鎖サブユニットの遺伝子*Fib-H*は、介在配列(イントロン)により、生物学的情報を運んでいる部分(エクソン)が2つの単位に分断されている。第14染色体にあるL鎖サブユニットの遺伝子*Fib-L*は、6個のイントロンにより、7つのエクソンに分断されている。蚕と蜘蛛の糸が合いの子になった「新しい絹」(即ち通常の交雑育種法では作り得ない絹)を吐くカイコを作り出すために、このフィブロイン遺伝子のエクソンの一部分に蜘蛛糸の遺伝子を組込んだり、その大部分を蜘蛛糸の遺伝子に置換えることを計画した。

カイコに外来遺伝子を導入すれば、新しい形質や機能をもつカイコを作り出すことが出来る。その導入方法としては、(1)クローン化した外来遺伝子DNAを直接卵や卵核に注入する方法、(2)外来遺伝子DNAを組み込んだ組み換え体ウイルスを使って5齢幼虫の生殖細胞核に外来遺伝子DNAを運び込ませる方法などがある。また、形質転換系としては、(1)カイコ染色体ヘランダムに遺伝子を導入するトランスポゾンを用いた形質転換系、(2)標的とする遺伝子座位に遺伝子としての読み枠を揃えて(in frameに)正しい方向性をもって導入する「遺伝子ターゲティング(gene targeting)法」による形質転換系などがある。

3. 結果と考察

カイコの卵は硬い殻に包まれており、卵への遺伝子の直接導入は簡単ではなく、特殊な注射装置やパワーの強い遺伝子銃などを必要とする。トランスポゾンを用いた形質転換系では、対象遺伝子の目的の場所に外来遺伝子DNAを正確に組み込むことが難しく、フィブロイン遺伝子を意図するように改造・改変する場合には向かないように思われる。そこで、組み換え体ウイルスを使った遺伝子ターゲティングによるフィブ

ロイン遺伝子の改造・改変を現在、次の様な方法で試みている。

カイコの細胞核内に進入するが、カイコで発病しないバキュロウイルスを利用した。バキュロウイルスのゲノム DNA のサイズは約 130kbp であり、直接制限酵素などで処理するには大き過ぎる。そこで、数 kbp のベクターをもとにして「バキュロウイルスの多角体遺伝子の上流配列、カイコの絹フィブロイン遺伝子の上流配列とプロモーター配列、クモ糸遺伝子配列、絹フィブロイン遺伝子の下流配列、多角体遺伝子の下流配列が順に繋がった挿入配列」を組み込んだトランスファーベクター (図 A) を構築した。このトランスファーベクター (図 A) とバキュロウイルス (図 B) を培養細胞に共感染させた。現在、多角体遺伝子の上流配列部分と下流配列部分でそれぞれ相補的組換えを起こさせ、「絹フィブロイン遺伝子の上流配列、絹フィブロイン遺伝子のプロモーター配列、クモ糸遺伝子配列、絹フィブロイン遺伝子の下流配列が順に繋がった配列」を組み込んだ組換え体ウイルス (図 C)

を作成しつつある。今後引き続き、この組換え体ウイルスを 5 齢幼虫に注射して、クモ糸遺伝子をカイコの生殖細胞の核内に運ばせる。さらに組換え体ウイルス (図 C) とカイコ染色体 (図 D) の絹フィブロイン遺伝子の上流配列部分と下流配列部分でそれぞれ相補的組換えを起こさせ、「カイコの絹フィブロイン遺伝子のプロモーターの後にクモ糸遺伝子が繋がった配列」をカイコ染色体 DNA に挿入する (図 E) 予定である。現在、カイコの細胞核内にクモ糸遺伝子を運び込ませるのに必要なリコンビナント・ウイルスを作りつつあるが、あと一歩で完成というところまで進んだと判断される。

ウスタビガやクスサンの繭は、紡ぎ糸にはなるが、繰糸出来ない。また、天蚕の絹は高価であるが、天蚕は年一度しか飼育出来ないなどの不便さがある。クモ糸遺伝子だけでなく、この方法を応用してクスサン、ウスタビガ、天蚕などの絹タンパク遺伝子でも同じような実験を行い、その不便さや問題点を克服し、さらにいろいろな新しい絹をカイコに吐かせることを試みて行きたい。

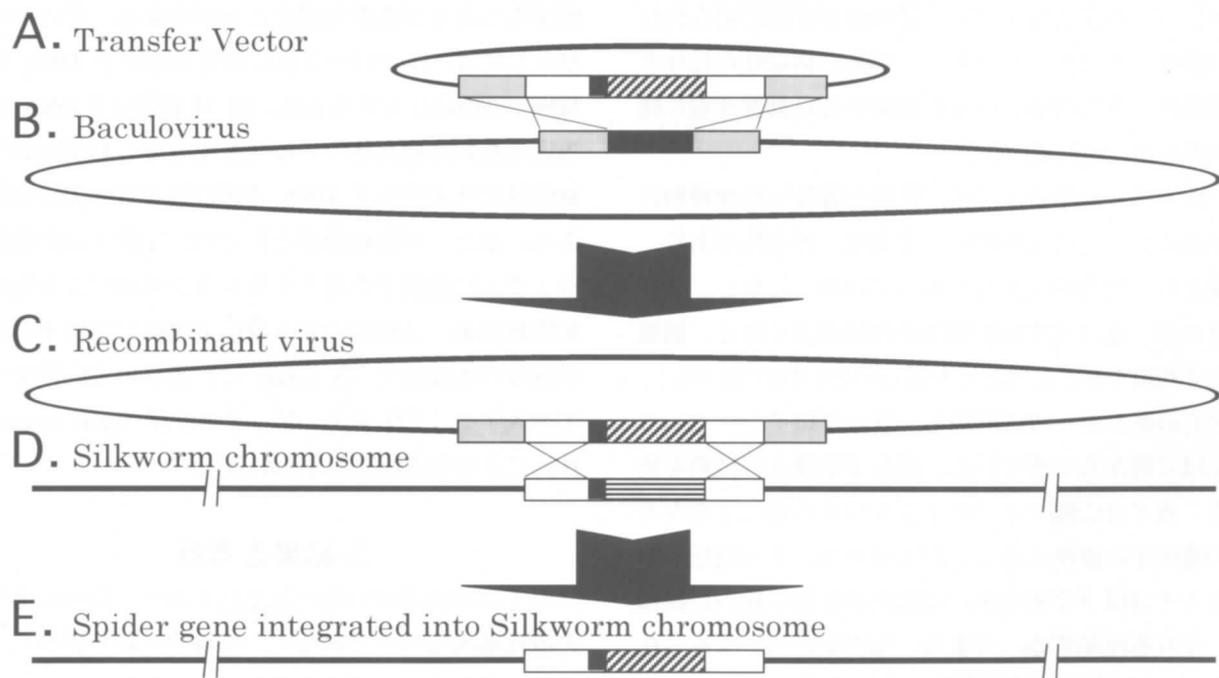


Fig. Gene targeting in the silkworm by use of a baculovirus

