

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2009

課題番号：18370031

研究課題名（和文） 昆虫サイトカインレセプターの構造と細胞内情報伝達系因子の解析

研究課題名（英文） Analysis of structure of GBP receptor and its signal transduction

研究代表者

早川 洋一 (Yoichi Hayakawa)

佐賀大学・農学部・教授

50164926

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、動物生理・行動

キーワード：昆虫、サイトカイン、レセプター、GBP、情報伝達

### 1. 研究計画の概要

私達は、昆虫の幼虫発育阻害活性をもつ生理活性ペプチド (Growth-blocking peptide, GBP と命名) が多機能性を示す昆虫サイトカインであることを最近明らかにした。多彩な生理機能を有するこの昆虫サイトカインの活性発現分子機構を明らかにすることが、本研究の最終目標である。具体的には、大きく 2 つの研究目的からなる。(1) 血球細胞から GBP レセプターを単離してその一次及び立体構造を決定すると共に、レセプタータンパク質内の GBP 結合領域を同定しその構造を明らかにする。同様の手法を用いて昆虫培養細胞 High Five (あるいは Sf9) から GBP レセプターを単離、構造決定し、GBP 結合領域の構造を明らかにすることによって血球細胞 GBP レセプター構造との差異を明確にする。(2) GBP 活性発現に関わる細胞内情報伝達因子を明らかにすべく、GBP-GBP レセプター複合体と親和性を持つ細胞質内共役タンパク質 (情報伝達因子候補) を同定し一次構造を決定する。

### 2. 研究の進捗状況

アワヨトウ幼虫血球細胞から GBP レセプター候補として分子量 77kDa タンパク質 (P77) を同定した。この P77 は、単離した血球細胞を GBP と共にインキュベーションすることによって、インキュベーション開始後 1 分以内にそのチロシン残基がリン酸化される細胞膜タンパク質であり、そのリン酸化は約 30 分間持続したのち速やかに脱リン酸化された。このリン酸化は GBP による血球活性化能と明らかな相関があり、リン酸化が観察されるのは GBP 感受性のあるプラズマ細胞のみで、

しかも、血球活性化能を失った変異体 2-23GBP や 3-23GBP によってはリン酸化が起こらないことが確認できた。しかし、レセプター結合実験によって P77 と GBP の直接結合はないと結論した。したがって、P77 は GBP レセプターそのものではなく、GBP による血球活性化経路の細胞内情報伝達因子と予想される。この予想を実証すべく、現在、GBP レセプターの探索と共に、GBP 活性化における細胞内情報伝達系経路に関して解析を進めている。

### 3. 現在までの達成度

2 つ中課題の内一つ (GBP 細胞内情報伝達経路の解析) は当初の予定の以上の成果を得ているが、もう一方 (GBP レセプターの同定) に関しては予定よりも遅れている。

(理由)

GBP 刺激による血球細胞内でのシグナル伝達に關与する細胞膜タンパク質の同定と精製に成功した。したがって、当初の研究目標の一つはほぼ達成したと言える。しかしながら、GBP レセプターは現時点でも同定ができていない。

### 4. 今後の研究の推進方策

以下の研究を並行して進める。

(1) GBP 細胞内情報伝達に関する解析に関しては、引き続き、P77 の生理的役割を中心に、解析を進める。特に、昆虫体腔内へ病原菌が侵入した際に、血球細胞が活性化することは周知の事実である。まずは、この際に、GBP による P77 のチロシンリン酸化が誘起されるかどうかを確認する。さらに、もし、予想通り、チロシンリン酸化が観察された場合には、そ

の反応機序の詳細について解析を進める。

(2)さらに、GBP レセプターの同定も引き続き目指す。これまでは、アワヨトウ幼虫血球細胞を実験材料に用い、種々の実験手法によって GBP レセプターの同定を試みて来たが、いずれの方法によっても目的のレセプタータンパク質あるいは遺伝子の同定には至らなかった。そこで、今後は、特に、ショウジョウバエ GBP に焦点を当てそのレセプターの同定と遺伝子単離に集中する。具体的には、ペプチドレセプター細胞膜タンパク質をコードすると予想される遺伝子の各種変異体ショウジョウバエを用い、GBP 依存的な反応が損なわれるかどうかを指標に遺伝子の同定を目指す。指標としては、現在、表皮真皮細胞における GBP 依存的 tyrosine hydroxylase 遺伝子発現上昇を用いる。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. Nakatogawa, S., Oda, Y., Kamiya, M., Aizawa, T., Kawano, K., Strand, R.M. and Hayakawa, Y. (2009) A novel peptide mediates aggregation and migration of hemocytes from an insect. Curr. Biol. (In press)
2. Ryuda, M., Shimada, K., Koyanagi, R., Tanimura, T. and Hayakawa, Y. (2008). *Drosophila melanogaster* larval central nervous system. Zool. Sci. 25. 746-752.
3. Ryuda, M., Nakayama, H. and Hayakawa, Y. (2008) A novel gene associated with intraspecific predation in *Spodoptera litura* larvae. Appl. Entomol. Zool. 43, 563-568.
4. Tojo, S., Hayakawa, Y., Phaophon P. (2008) Strains in the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) with differing host ranges. 491-496.
5. Ryuda, M., Tsuzuki, S., Tanimura, T., Tojo, S. and Hayakawa, Y. (2008) A

gene involved in the food preferences of larval *Drosophila melanogaster*. J. Insect Physiol. 54, 1440-1445.

〔学会発表〕(計 5 件)

- 日本動物学会 第 79 回大会(2008.9.5-7)
- 1) 田崎彩子、酒井美幸、宮竹貴久、早川洋二、コクヌストモドキの擬死行動誘発に関連する遺伝子の解析
  - 2) 松本均、織田康則、早川洋一、細菌感染による P77 のリン酸化
  - 3) 龍田勝輔、谷村禎一、早川洋一、キイロショウジョウバエの食性・摂食行動に関わる CG33071 遺伝子の解析  
日本生物物理学会, 第 46 回年会 (2008.12.4)
  - 4) Yoichi Hayakawa, Insect cytokines regulating innate immune defences. 日本農芸化学会、2009 年大会(2009.3.29)
  - 5) 早川洋二、新規昆虫サイトカインの構造と生理機能

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕