

平成 22 年 4 月 24 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19380033

研究課題名（和文） 昆虫のホルモン応答及び変態に関するシスエレメント、トランス因子の解析

研究課題名（英文） Analysis of cis-element and trans-factors relating with responsiveness and metamorphosis of insect

研究代表者 川崎 秀樹 (KAWASAKI HIDEKI)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号：00134263

研究代表者の専門分野：昆虫機能利用学
 科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学
 キーワード：養蚕・蚕糸

1. 研究計画の概要

遺伝子銃によるカイコの翅原基、翅組織への遺伝子の導入法を、器官の時期、培養条件について検討し、様々な条件で可能になるように検討していく。クチクラタンパク質遺伝子は、エクダイソンが上昇後の下降で誘導される *BMWCP2*, *5* 及びエクダイソンが上昇するときに誘導される *BMWCP10*、さらに、最終齢の初期に発現しエクダイソンにより発現が抑制される *BMWCP11* について発現の時期及びホルモン応答性の異なるこれらクチクラタンパク質遺伝子がどのような因子に誘導され、これらの発現調節領域がどのようになっているかを解析する。

2. 研究の進捗状況

研究は順調に進んでおり、翅原基における遺伝子導入システムは様々な遺伝子に適用できた。

平成 19 年度は、エクダイソンパルスで誘導されるクチクラタンパク質遺伝子 *BMWCP2* と *BMWCP5* の上流域をクローニングし、エクダイソンパルスに反応する配列を明らかにした。また、遺伝子銃によるカイコの翅原基、翅組織への遺伝子の導入法を、器官の時期、培養条件について検討した。平成 20 年度は、エクダイソンに直接誘導される *BMWCP10* 遺伝子のプロモーター解析を行い、エクダイソンに反応する初期遺伝子である *BRC-Z2* が実際にクチクラタンパク質遺伝子のの上流に結合して発現誘導に関わることを明らかにできた。平成 21 年度は、*BMWCP10* 遺伝子のプロモーター部に存在するエクダイソンレスポンスエレメント (EcRE) を見いだし、ゲルシフトアッセイ、レポーターアッセイにより、クチクラタンパク質遺伝子のの上流に、EcRE が存在し、EcRE が結合することを初めて見いだした。また、

カイコの EcRE もこれにより始めて配列を明らかにした。発現時期及びエクダイソン応答性が異なる *BMWCP10* と *BMWCP2*, *5* の発現調節に関わる上流の配列や、そこに結合するエクダイソンに誘導される転写因子を明らかにすることにより、カイコのゲノム情報と実際の遺伝子の発現様式を結びつけることが出来た。これらの結果は、エクダイソンのシグナルカスケードを明らかにする上で貢献を果たした。また、エクダイソン応答性の転写因子が実際に発現する遺伝子のの上流部に結合し、プロモーター活性を高めることを明らかにした事で、このような研究に実験方法として新たな活路を切り開くことが出来た。

これらの結果は、国際誌に発表し、評価を受けている。当初の予定したものでは *BMWCP11* の解析がまだ終了していないが、現在解析を行っているところである。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している

予定していた内容の 7 割がたは完了している。

4. 今後の研究の推進方策

BMWCP11 について解析を進めるとともに、クチクラタンパク質以外の、転写因子の解析を本システムを適用することが可能であることが明らかとなったので、種々の転写因子の解析、それぞれの相互作用の解析も行う予定である。

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 12 件)

Angiotensin-converting enzyme activity in the hemolymph during last larval and pupal stages of the silkworm, *Bombyx mori* J. Insect Biotech. Seric., (2007) 76, 17-23. H.-Y., Yan, M. Iwanaga, H. Kawasaki.

The degradation of the basement membrane in the metamorphic organs during the larval-pupal transformation of *Bombyx mori*. J. Insect Biotech. Seric. Manickam, Iwanaga, Kawasaki. 77, 133-139. (2008)

The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm *Bombyx mori*. Insect Biochem. Mol. Biol. (2008). 38, 106-1045. Xia et al Genome-wide identification of cuticular protein genes in the silkworm, *Bombyx mori*. Insect Biochem. Mol. Biol. (2008). 38, 1165-1173. Futahashi, Okamoto, Kawasaki, Zhong, Iwanaga, Mita and Fujiwara.

平成18年に養蚕農家で生じた不結繭蚕の原因追跡. 大日本蚕糸会研究報告. (2008) 56, 15-21. 小川・代田・岩永・川崎.

Analysis of ecdysone-pulse responsive region of BMWCP2 in wing disc of *Bombyx mori*. Comp. Biochem. Physiol. 153, 101-108. 2009. Nita, Wang, Zhong, Mita, Iwanaga and Hideki Kawasaki

Identification and functional characterization of the Rad23 gene of the silkworm, *Bombyx mori*. Bioscience report. 30, 19-26. 2009. Xu, Xu, Wang, Kawasaki

Activation of BMWCP10 promoter and regulation by BR-C Z2 in wing disc of *Bombyx mori*. Insect Biochem. Mol. Biol. (2009). 39, 615-623. Wang, Iwanaga, Kawasaki

β FTZ-F1 and Broad-Complex positively regulate the transcription of the wing cuticle protein gene, *BMWCP5*, in wing discs of *Bombyx mori*. Insect Biochem. Mol. Biol. (2009). 39, 624-633. Wang, Iwanaga, Kawasaki

Purification and expression analysis of imaginal disc growth factor in the silkworm, *Bombyx mori*. J. Insect Physiol. 2009. 55, 1065-1071. Wang, Sakudoh, Kawasaki, Iwanaga, Araki, Fujimoto, Takada, Iwano, Tsuchida.

Establishment and characterization of the *Bombyx mandarina* cell line. J. Invert. Pathol. 2009. 101, 124-129. Iwanaga, Arai, Shibano, Kawasaki, Imanishi.

Ecdysone directly and indirectly regulates a cuticle protein gene, *BMWCP10*, in the wing disc of *Bombyx mori*. 2010. Insect Biochem. Mol. Biol. (in press) Wang, Iwanaga, Kawasaki

[学会発表] (計 16 件)

平成18年に農家で発生した不結繭蚕の原因追跡. 小川・代田・岩永・川崎. 日本蚕糸学会第58回関東支部大会. 2007.11.17.

東京。

Promoter activity of the silkworm cuticle protein *BMWCP5* gene is mediated by FTZ-F1. Wang, Nita, Iwanaga, Kawasaki. 第30回日本分子生物学会年会. 2007. 12. 12. 横浜。

エクダイソンに誘導されるカイコ翅原基細胞分裂に伴う細胞周期関連遺伝子の解析. 長内・岩永・川崎. 日本蚕糸学会第78回大会. 2008. 3. 22. 名古屋。

Transcriptional regulation of the *BMWCP2* and *BMWCP5* genes. Wang, Nita, Iwanaga, Kawasaki. APSEI2008. 2008. 3. 22. Nagoya.

カイコの翅原基でクローニングされた6グループのクチクラ蛋白質遺伝子-発現パターン、ホルモン応答能、ゲノム構造、進化-。川崎・鐘・岩永・三田. 第52回日本応用動物昆虫学会. 2008. 3. 27. 宇都宮。

β FTZ-F1 and Broad-Complex positively regulate the transcription of the wing cuticle protein gene, *BMWCP5*, in the wing disc of *Bombyx mori*. Wang, Nita, Iwanaga, Kawasaki

日本分子生物学会 2008. 12. 8~12. 神戸。

エクダイソンはカイコ翅原基でE2F4を抑制し、cyclin E・E2F1を活性化して細胞周期を進行させる。大吉, 長内, 岩永, 川崎. 日本分子生物学会 2008. 12. 8~12. 神戸。

Activation of *BMWCP10* promoter and regulation by BR-C Z2 in wing disc of *Bombyx mori*. Wang, Iwanaga, Kawasaki. 日本蚕糸学会. 2009. 3. 20~22. 東京。

カイコにおける成虫原基成長因子の発現解析. 王・作道・川崎・荒木・岩野・岩永・藤本・高田・土田. 日本蚕糸学会. 2009. 3. 20~22. 東京。

エクダイソンはカイコ翅原基でE2F4を抑制し、cyclin E・E2F1を活性化して細胞周期を進行させる。大吉, 長内, 岩永, 川崎. 日本蚕糸学会. 2009. 3. 20~22. 東京。

カイコゲノム情報から導かれる遺伝子発現制御研究の始まり。川崎。日本蚕糸学会、関東支部会。2009. 11. 6-7. 宇都宮

Activation of *BMWCP10* promoter and regulation by Ecdysone receptor and BR-C Z2 in wing disc of *Bombyx mori*. Wang, Iwanaga Kawasaki. 日本分子生物学会. 2009. 12. 9~12. 横浜。

カイコの翅原基細胞でエクダイソンは細胞周期関連遺伝子の発現を調節している。大吉・長内・岩永・川崎. 日本分子生物学会. 2009. 12. 9~12. 横浜。

カイコ翅原基でエクダイソンに誘導されるクチクラ蛋白質遺伝子 *BMWCP10* のプロモーター解析. Wang, Iwanaga, Kawasaki. 日本蚕糸学会. 2010. 4. 3~4. 上田。

5齢期のカイコ翅原基にみられる2度の細胞分裂ピークの解析. 森山・大吉・長内・岩永・川崎. 日本蚕糸学会. 2010. 4. 3~4. 上田。