

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 7 月 14 日現在

機関番号：82112

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25850230

研究課題名(和文) 幼若ホルモンが有する変態抑制作用の分子メカニズム解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism underlying juvenile hormone-mediated repression of insect pupation

研究代表者

粥川 琢巳 (Kayukawa, Takumi)

国立研究開発法人農業生物資源研究所・昆虫科学研究領域・昆虫成長制御研究ユニット・主任研究員

研究者番号：70580463

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：幼若ホルモン(JH)は、昆虫の幼虫から蛹への変態(蛹化)を抑制するホルモンとして知られているが、その詳しい抑制分子メカニズムは明らかにされていなかった。本研究では、蛹への変態を誘導する遺伝子(蛹化決定遺伝子)に注目し、培養細胞を用いてJHによる蛹化抑制メカニズムを解析した。その結果、JH誘導性タンパク質(Kruppel homolog 1)が蛹化決定遺伝子の転写を直接抑制することで、昆虫の蛹化を抑制していることを初めて明らかにすることができた。

研究成果の概要(英文)：Juvenile hormone (JH) is known to repress pupal metamorphosis in insects. However, the molecular mechanism underlying the JH-mediated repression of pupation has remained unclear. In this study, I focused on a pupal specifier gene and analyzed the molecular mechanism. As a result, JH-inducible protein (Kruppel homolog 1) directly represses transcription of pupal specifier gene and thereby represses insect pupation.

研究分野：昆虫生理学・生化学・分子生物学

キーワード：juvenile hormone ecdysone Kruppel homolog 1 Broad complex metamorphosis cis-element trans-element Bombyx mori

1. 研究開始当初の背景

幼若ホルモン(juvenile hormone, JH)は、幼虫が蛹に変態するのを抑える働き(変態抑制作用)を有するホルモンである。エクダイン誘導性蛹化決定因子(Broad complex, BR-C)は、JHによって抑制されることが報告されているが、その詳しい分子メカニズムは全く明らかにされていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、蛹化決定因子BR-CのJHによる抑制メカニズムを解析することで、JHが有する変態抑制作用を分子レベルで明らかにする。

3. 研究の方法

カイコ培養細胞を用いたレポーターアッセイ、RNAi、強制発現により、JHによるBR-Cの抑制に関わるシス因子及びトランス因子を特定する。また、ゲルシフトアッセイによりトランス因子のシス因子への結合を生化学的に証明する。

4. 研究成果

カイコ個体と同様に、カイコ培養細胞においても、BR-Cはエクダインによって誘導され、JHによりその誘導が抑制された。この誘導と抑制は、mRNA及びレポーターレベルで観察された。抑制に関わるトランス因子をレポーターアッセイとRNAi及び強制発現を組み合わせた実験手法により探索したところ、JH早期誘導性因子(Krüppel homolog 1, Kr-h1)が見出された。レポーターアッセイによりKr-h1の結合配列(Kr-h1 binding site, KBS)を絞り込んだところ、BR-Cの転写開始点から約4.5Kbpに存在することが明らかになった。また、ゲルシフトアッセイにより、Kr-h1のKBSへの結合を生化学的に証明することができた。

以上の結果から、幼虫期のJHがKr-h1を誘導し、誘導されたKr-h1が蛹化決定遺伝子BR-Cの上流に結合し、結合したKr-h1がBR-Cの転写を抑制することで、JHによる蛹化抑制が引き起こされることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(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 9件)

Kayukawa T, Jouraku A, Ito Y, Shinoda T (2017). Molecular mechanism underlying juvenile hormone-mediated repression of precocious larval-adult metamorphosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114: 1057-1062.

DOI: 10.1073/pnas.1615423114.

菊川琢巳(2016). 標的細胞内JHシグナル経路の解明と新規昆虫成長制御剤の開発. *蚕糸・昆虫バイオテック* 85: 107-115.

Kayukawa T, Nagamine K, Ito Y, Nishita Y, Ishikawa Y, Shinoda T (2016). Krüppel homolog 1 inhibits insect metamorphosis via direct transcriptional repression of *Broad-complex*, a pupal specifier gene. *Journal of Biological Chemistry* 291: 1751-1762.

DOI: 10.1074/jbc.M115.686121.

Kayukawa T, Shinoda T (2015). Functional characterization of two paralogous JH receptors, methoprene-tolerant 1 and 2, in the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Applied Entomology and Zoology* 50: 383-391.

DOI: 10.1007/s13355-015-0345-8.

篠田徹郎, 大門高明, 古田賢次郎, 菊川琢巳 (2015). 生合理的殺虫剤の標的としての幼若ホルモン関連分子. *日本農薬学会誌* 40: 58-67.

DOI: 10.1584/jpestics.W14-37.

Lozano J, Kayukawa T, Shinoda T, Belles X (2014). A role for Taiman in insect metamorphosis. *PLoS Genetics* 10: e1004769.

DOI: 10.1371/journal.pgen.1004769.

Nagamine K, Kayukawa T, Hoshizaki S, Matsuo T, Shinoda T, Ishikawa Y (2014). Cloning, phylogeny, and expression analysis of the Broad-Complex gene in the longicorn beetle *Psacotha hilaris*. *SpringerPlus* 3: 539.

DOI: 10.1186/2193-1801-3-539.

Smykal V, Daimon T, Kayukawa T, Takaki K, Shinoda T, Jindra M (2014). Importance of juvenile hormone signaling arises with competence of insect larvae to metamorphose. *Developmental Biology* 390: 221-230.

DOI: 10.1016/j.ydbio.2014.03.006.

Kayukawa T, Murata M, Kobayashi I, Muramatsu D, Okada C, Uchino K, Sezutsu H, Kiuchi M, Tamura T, Hiruma K, Ishikawa Y, Shinoda T (2014). Hormonal regulation and developmental role of Krüppel homolog 1, a repressor of metamorphosis, in the silkworm *Bombyx mori*. *Developmental Biology* 388: 48-56.

DOI: 10.1016/j.ydbio.2014.01.022.

[学会発表](計 14件)

粥川琢巳, 伊藤由果, 篠田徹郎 (2016). 幼若ホルモンによる成虫化決定遺伝子 *E93* の抑制分子機構. 第 60 回日本応用動物昆虫学会大会.

粥川琢巳, 長峯啓佑, 石川幸男, 西田義憲, 篠田徹郎 (2015). 幼若ホルモンによるエクダイソン誘導性蛹化決定因子 Broad-complex の抑制分子機構 第 59 回日本応用動物昆虫学会大会

粥川琢巳, 篠田徹郎 (2015). カイコの 2 種 Methoprene tolerant パラログの機能解析. 第 59 回日本応用動物昆虫学会大会.

山田直子, **粥川琢巳**, 前田慶, 篠田徹郎, 古田賢次郎 (2015). 1,4-ベンゾジオキサン環を有する幼若ホルモンアンタゴニストの合成探索. 日本農薬学会第 40 回大会.

Kayukawa T, Tateishi K, Shinoda T (2014). Juvenile hormone signalling analysis using *T. castaneum* cell line. 10th International Conference on Juvenile Hormones.

Nagamine K, **Kayukawa T**, Hoshizaki S, Matsuo T, Shinoda T, Ishikawa Y (2014). Broad-Complex zinc finger sequences in the longicorn beetle *Psacotha hilaris* : discovery of the Z6 type in holometabolous insects. 10th International Conference on Juvenile Hormones.

Shinoda T, **Kayukawa T**, Furuta K, Daimon T (2014). JH signalling molecules as targets for developing new IGRs. 10th International Conference on Juvenile Hormones.

Smykal V, Daimon T, **Kayukawa T**, Takaki K, Shinoda T, Jindra M (2014). Importance of JH signaling arises with competence of larvae to metamorphose. 10th International Conference on Juvenile Hormones.

粥川琢巳, 古田賢次郎, 篠田徹郎 (2014). HTSスクリーニングに向けた JH スクリーニング系の開発. 第 58 回日本応用動物昆虫学会大会.

長峯啓佑, **粥川琢巳**, 星崎杉彦, 松尾隆嗣, 篠田徹郎, 石川幸男 (2014). Broad-Complex 遺伝子における zinc finger ドメインの昆虫種間の違い. 第 58 回日本応用動物昆虫学会大会.

篠田徹郎, 大門高明, 古田賢次郎, **粥川琢巳** (2014). 生物合理的殺虫剤の標的とし

ての幼若ホルモン関連分子. 日本農薬学会第 39 回大会.

前田慶, **粥川琢巳**, 舩本将明, 篠田徹郎, 古田賢次郎 (2014). 新規幼若ホルモンアンタゴニストの合成探索. 日本農薬学会第 39 回大会.

Shinoda T, Sezutsu H, **Kayukawa T** (2013). Hormonal regulation of Krüppel homolog 1 and its mechanisms repressing metamorphosis in the silkworm *Bombyx mori*. Insect Hormones (19th Ecdysone) International Workshop, 2013.

Smykal V, Daimon T, **Kayukawa T**, Takaki K, Shinoda T, Jindra M (2013). Development of competence to undergo metamorphosis. Insect Hormones (19th Ecdysone) International Workshop, 2013.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: 有害生物防除剤

発明者: **粥川琢巳**, 篠田徹郎

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特許願 2017-134415 号

出願年月日: 平成 29 年 7 月 10 日

国内外の別: 国内

取得状況(計 0 件)

該当なし

〔その他〕

粥川琢巳, プレスリリース『幼若(ようじやく)ホルモンが成虫化を抑える仕組みを解明 - 昆虫の発育をコントロールする技術に期待 -』,

http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/press/laboratory/nias/073137.html

粥川琢巳, プレスリリース『幼若ホルモンがサナギ化を抑えるメカニズムを解明 - 昆虫のみに効果のある農薬の開発へ -』, <http://www.nias.affrc.go.jp/press/2015/20151201/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

粥川 琢巳 (KAYUKAWA, Takumi)

国立研究開発法人・農業生物資源研究所・昆虫科学研究領域・昆虫成長制御研究ユニット・主任研究員

研究者番号: 70580463

(2) 研究分担者

該当なし

(3)連携研究者
該当なし