

平成21年5月22日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006－2009

課題番号：18380043

研究課題名（和文） 昆虫の光周性と概日振動の分子生物学

研究課題名（英文） Molecular Biology of Circadian Clocks and Photoperiodism in Insects

研究代表者

竹田 真木生 (TAKEDA MAKIO)

神戸大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：20171647

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・応用昆虫学

キーワード：概日時計、光周性、メラトニン、NAT

1. 研究計画の概要

生物が時間を測る能力を持つことは、よく知られている。しかし、どのような分子的な機構によってそれが行われるかという点については、未だ研究が端緒に着いた段階である。様々な測時機構の中心に概日振動がかかわることが示唆されているが、光の入力から、行動、発生などの出力にいたる詳細な研究は未だ存在しない。我々は、光周性をにらみながら、個々のモデル昆虫を用いてこの問題にアプローチする。

2. 研究の進捗状況

概日振動を担うさまざまな遺伝子をクローニングし、その発現場所や変動の様子を明らかにした。この過程でインドールアミン代謝系が重要な働きをすることを示した。昨年は、入力系の探索をし、インドールアミン代謝の鍵になるNアセチル転移酵素（NAT）活性を調節するアクション・スペクトルと鳥それに対応する2つのオプシンのクローニングと発現解析をおこなった。この結果、光入力、概日時計によるNAT制御、メラトニン変動、その受容体をへて、細胞内のリン酸化、エキソサイトシスによるペプチド放出、休眠解除のルートがつながった。大雑把に言うとうと、光の情報は450 nmと550nmにピークを持つアクションスペクトルで、時計に入力する。時計の転写因子Cyc/Clk 2量体は*nat*遺伝子上流プロモーター領域に結合し、転写レベルでNATの概日リズムを作る。これがメラトニンの概日リズムをつくり、PTTHを生産する神経細胞のメラトニン受容体に結合すると、何らかの形でカルシウムイオンの動員がおこり、PKCを活性化し、Rab 蛋

白質をリン酸化し、その結果PTTHの放出が起こる。光周性の出力機構は多様であり、個々の調節機構が存在すると考えられるが、ひとつの代表的な例として、蛹休眠を制御する光周性について概日振動に基づいた説明がひとつは提出されたということである。

3. 現在までの達成度；

②おおむね順調に進展している。

進捗に記したように、光周性に概日振動が関与し、その中枢にインドールアミン代謝系が重要な役割を果たすということについては、様々なデータがこれを指示している。大筋で、当初考えたシナリオが確認された。

4. 今後の研究の推進方策

メラトニン受容体を無脊椎動物で初めてクローニングしたが、未だ機能解析をおこない切れていない。この点に焦点を集めて最終年度にはすっきりした成果を示したい。

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 17 件）

（以下すべて査読有り）

① Hiragaki, S., Kawabe Y., Takeda M. Molecular cloning and expression analysis of two putative serotonin receptors in the brain of *Antheraea pernyi* pupa. International Journal of Wild Silkworms and Silk (accepted for publication)

②Matsui, T., Matsumoto, Sakai T., Satake H. and Takeda M. (2009) The pars intercerebralis as a modulator of locomotor rhythms and feeding in the American cockroach, *Periplaneta americana*. *Physiology & Behavior* 96: 548-556.

③Izawa N, Suzuki T, Watanabe M, Takeda M. (2009) Characterization of arylalkylamine *N*-acetyltransferase (NAT) activities and action spectrum for suppression in the band-legged cricket, *Dianemobius nigrofasciatus* (Orthoptera: Grillidae) *Comparative Biochemistry and Physiology B* 152, 346-351

④Hiragaki, S., Uno T., Takeda M. (2009) Putative regulatory mechanism of prothoracicotropic hormone (PTTH) secretion in the American cockroach, *Periplaneta americana* as inferred from co-localization of Rab8, PTTH and protein kinase C in neurosecretory cells. *Cell and Tissue Research* 335, 607-615

⑤Iwai S, Trang LTD, Takeda M. (2008) Expression analyses of casein kinase 2alpha and casein kinase 2alphan the silkworm, *Bombyx mori*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 149: 38-46

⑥Shao, Q-M, Hiragaki, S, Takeda, M (2008) Co-localization and unique distributions of two clock proteins CYCLE and CLOCK in the cephalic ganglia of the ground cricket, *Allonemobius allardi* *Cell and Tissue Research* 331, 435-446

⑦Shao, Q-M, Hiragaki, S, Takeda, M (2008) Molecular structure, expression patterns and localization of the circadian transcription modulator CYCLE in the cricket, *Dianemobius nigrofasciatus* *Journal of Insect Physiology* 54, 403-413

⑧Bembenek J., Tsugehara T., Ichihara N., Takeda M., 2007. Arylalkylamine *N*-acetyltransferase in insects and its regulatory role in circadian oscillation. *Trends in Entomology*; 4, [An Invited Review] 1-17

⑨Iwai S, Takeda M., 2007. Expression analysis of two types of transcripts from circadian output gene lark in *Bombyx mori*. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 146: 470-476.

⑩Tsugehara T, Iwai S, Fujiwara Y, Mita K, Takeda (2007) M Cloning and

characterization of insect arylalkylamine *N*-acetyltransferase from *Bombyx mori*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*. 147, 358-366.

⑪Bembenek J, Itokawa K, Hiragaki S., Shao Q.M, Tufail M., Takeda M. (2007) Molecular characterization and distribution of cycle protein from *Athalia rosae*. *J. Insect Physiol.* 53, 418-427.

⑫Sehadova H., Shao Q.-M., Sehna F, Takeda M. (2006) Neurohormones as putative circadian clock output signals in the central nervous system of two cricket species. *Cell Tiss. Res.* 328:239-255

⑬Tsugehara T, Tsenkova R, Takeda M. (2006) A non-invasive monitoring of developmental changes in pupal case of *Antheraea pernyi* by near infrared spectroscopy. *International Journal of Wild Silkworms and Silk*. 11, 14-20 (2006)

⑭Le Thi Dieu T, Sehadova H., Ichihara N., Iwai S, Mita K, Takeda M. (2006) Casein kinase I in the silkworm, *Bombyx mori*: Structure and possible roles in circadian timing and development. *J. Biol. Rhythms* 21:335-349

⑮Iwai S, Fukui Y, Fujiwara Y, Takeda M. (2006) Structure and expressions of two circadian clock genes, period and timeless in the commercial silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* 52, 625-637

⑯Shao Q.-M., Sehadova H., Ichihara N, Sehna F., Takeda M. (2006) Immunoreactivities to 3 circadian clock proteins in 2 ground crickets suggest interspecific diversity of the circadian clock structure. *J. Biol. Rhythms* 21, 1-14

[学会発表] (計 8 件)

[図書] (計 2 件)

①Le Thi Dieu Trang, Shao Q.-M., Takeda M. Molecular Structure of Insect Circadian Clock In: "Short Views on Insect Molecular Biology" (Editors, Chandrasekar R, Krishnan, M), Published by Insect Molecular Biology Unit, Bharathidasan Uni, India Chapter 2. pp21-48 (印刷中)

②竹田真木生 (2008) ナンダ・ハムナー・プロトコールなどー光周性研究のためのツール。108-111頁. 時間生物学事典. 石田直理雄・本間研一編 朝倉書店 340頁。