

令和 3 年 8 月 24 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14770

研究課題名（和文）変態抑制因子Kr-h1の転写調節機構から紐解く昆虫の変態進化

研究課題名（英文）Evolution of the insect metamorphosis to lead from transcriptional regulatory mechanisms of metamorphic repressor Kr-h1

研究代表者

増岡 裕大（MASUOKA, Yudai）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・研究員

研究者番号：80816950

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：昆虫が示す特異な発生様式である変態の進化機構は未だ不明である。そこで本研究では変態が生じる完全変態昆虫と生じない不完全変態昆虫において変態制御因子であるKr-h1とBr-Cの作用機序を比較した。Kr-h1によって制御される蛹化決定因子Br-Cの標的遺伝子をチャバネゴキブリ、カイコで比較し、それぞれ特異的な遺伝子を見出した。またその解析過程では大規模な発現データを解析可能な共発現遺伝子ネットワーク構築プログラムを確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

特に農業分野において昆虫は利害を伴う重要な生物群である。本研究で見いだされた知見は昆虫の発生経路の理解につながるものであり、その発生経路の解明は昆虫類のコントロール技術を介して持続可能な農業生産につながると期待される。また解析の過程で作成した新規遺伝子ネットワークの構築プログラムは汎用性があり、今後より活発化するであろうデータ駆動型研究にも貢献できると期待している。

研究成果の概要（英文）：Insect metamorphosis is unique developmental system. However, evolutionary mechanism of metamorphosis is until unknown. Therefore, in this study, I compared functional mechanisms of Kr-h1 and Br-C between holometabolous and hemimetabolous species. To analyze target genes of Br-C, NGS analysis was performed using silk worm and german cockroach. In this process, novel program was made to generate gene co-expression network.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：変態 Br-C 共発現遺伝子ネットワーク

## 1. 研究開始当初の背景

昆虫特異的な発生様式である変態の進化機構の解明は生命史における重大テーマである。これまでは、特にモデル種においては昆虫一般に変態に関わる幼若ホルモン (Juvenile hormone: JH) のシグナル経路による変態制御機構が明らかにされつつある。一方で系統情報に基づいた比較解析の例はなく、進化的な考察はされていない。

研究代表者はこれまで社会性昆虫のカースト分化に関する研究に従事しており、その過程で特に劇的な形態改変を伴うシロアリの兵隊分化機構の進化について研究を進めてきた。その過程では兵隊分化時には JH の下流で完全変態昆虫の蛹化に関わる遺伝子が兵隊分化決定因子として働くことを見出した。このことから劇的な形態改変を伴う個体発生には分類群に関わらず分子的な類似性がある可能性が示された。そこで兵隊分化システムの進化機構を考察する上では、完全変態昆虫における変態システムの進化機構との比較が重要であると考えに至った。

先行研究により、完全変態昆虫では JH の下流で働く変態抑制因子 *Kr-h1* が蛹化決定因子である *Br-C* の発現を抑制しており、終齢幼虫においては体内 JH 量の減少に伴って *Kr-h1* の発現が低下することで *Br-C* の発現が促進し蛹化が開始される。一方で不完全変態昆虫においては幼虫期には完全変態昆虫同様に *Kr-h1* は発現すものの *Br-C* も発現しており、翅形成に関わることが知られている。つまり完全・不完全変態昆虫では *Kr-h1* による *Br-C* の発現制御作用が逆転しており、*Br-C* 自身の機能も異なることが示唆されている。そのため *Br-C* の制御因子 *Kr-h1* による制御機構の変化と *Br-C* の機能変化が変態の進化に関わった可能性がある。

そこで本研究では完全変態昆虫と不完全変態昆虫で蛹化決定因子 *Br-C* の発現制御機構とその機能の比較解析を試みた。

## 2. 研究の目的

変態進化の分子機構に迫るため、変態抑制因子である *Kr-h1* と蛹化決定因子として働く *Br-C* について完全・不完全変態昆虫での比較解析を試みることを目的とする。両者で発現時期が異なる *Br-C* の発現制御機構を比較するため *Br-C* の発現制御因子 *Kr-h1* のコファクター及び *Br-C* の標的遺伝子を探索し、完全・不完全変態昆虫での比較解析を試みる。また *Br-C* の機能を比較するため標的遺伝子を探索し比較を試みた。以上の解析により、完全変態昆虫と不完全変態昆虫の変態制御因子の作用機序を明らかにし、両者の比較から変態の進化機構にアプローチすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究課題ではゲノムが解読済みの完全変態昆虫と不完全変態昆虫のモデルとしてそれぞれカイコ (*Bombyx mori*) とチャバネゴキブリ (*blattella germanica*) においてゲノム情報を利用し、*Br-C* の上流領域を比較する。更にレポーターアッセイによりカイコにおいて *Kr-h1* の結合に働く *Br-C* の上流領域を絞り込み、該当領域を不完全変態昆虫であるチャバネゴキブリとの比較を試みた。またタンパク質の相互作用を検出する pull down 法及び yeast two hybrid 法を用いて *Kr-h1* タンパクと相互作用するコファクター探索を行い、発現制御機構の比較を試みた。一方で *Br-C* の機能を解析するためカイコ、チャバネゴキブリの両種において、*Br-C* のノックダウン個体を用いた NGS 解析による標的遺伝子の探索及び種間比較を行った。解析の過程では大量のデータを用いて *Br-C* の発現と類似した挙動を示す遺伝子を探索するため、共発現遺伝子ネットワークの構築プログラムを新規に作成し、これを用いて *Br-C* の標的遺伝子の候補の絞り込みを行った。

## 4. 研究成果

*Br-C* の発現制御に関わる *Kr-h1* タンパクを用いた解析ではポジティブな結果を得ることができなかった。今回は *Kr-h1* と相互作用する因子を pull down 法及び yeast two hybrid 法により探索を試みたが、さらなる手法を検討する必要がある。そこで、*Br-C* の機能解明を優先する方針に変更した。まず *Br-C* の標的遺伝子を探索するため、チャバネゴキブリにおいて *Br-C* 遺伝子の詳細な発現プロファイルを行った。その後、終齢個体において *Br-C* 遺伝子の RNAi によるノックダウン個体を用いた RNA-seq 解析を行った。*Br-C* 遺伝子の発現抑制によって発現が低下した遺伝子を標的遺伝子の候補としてスクリーニングを行った。得られた候補遺伝子は RNAi を用いた機能スクリーニングを行い *Br-C* のノックダウン個体と類似した表現型を示す遺伝子の探索を行った。一方で本研究課題の最終年度は新型コロナウイルス蔓延による影響で在宅勤務を余儀なくされ、実験計画を大幅に変更する必要があった。実験室内で行う生体や実験系を用いた分子解析の実施は限られたため、上記の NGS 解析によって得られたデータや公共データベースで公開済みのオミックスデータを用いたデータ駆動型の解析に注力した。まず、大規模データを扱うにあたり遺伝子発現パターンの類似性を抽出することができる共発現遺伝子ネットワークの構築プログラムを作製した。これにより従来プログラムでは実施が難しい大規模データを用いた共発現遺伝子ネットワークの構築が可能となった。これを用いてチャバネゴキブリを含む複数

の不完全変態昆虫の発現解析データから、Br-C 遺伝子の発現と類似した発現パターンを示す遺伝子を標的遺伝子の候補として絞り込んだ。カイコにおいても同様に過去の遺伝子発現データを用いて変態機において Br-C 遺伝子の発現パターンと類似する遺伝子のスクリーニングを行った。本課題では新型コロナウイルス蔓延による影響下において実験室内での解析が制限される中で、遺伝子発現データを用いた新規の候補遺伝子の抽出法を確立し、今後の解析の基礎となる重要データを多数取得できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 増岡裕大, 坪田拓哉, 横井翔, 瀬筒秀樹	4. 発行年 2021年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 11
3. 書名 ゲノム編集技術を応用した製品開発とその実用化(第4章4節)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------