

## 自己評価報告書

平成23年 4月30日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20380033

研究課題名（和文） 多様な季節的多型を誘導するホルモン協働作用の分子解析

研究課題名（英文） Molecular analysis of hormonal orchestration that induces various seasonal polyphenisms

研究代表者

塩見 邦博 (SHIOMI KUNIHIRO)

信州大学・繊維学部・准教授

研究者番号：70324241

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：昆虫生理学、昆虫神経内分泌学

## 1. 研究計画の概要

ヒメシロモンドクガ (*Orgyia thyellina*) は、幼虫期の日長条件の違いによりさまざまな季節的多型を発現する。なかでも、その産下卵においては、長日条件では卵殻の薄い小型の非休眠卵を多数産下し、短日条件では、卵殻が厚い大型の休眠卵を少数産下する。また、長日条件の成虫は、発達した飛翔筋をもつが、短日条件では、短翅型となり決して飛ぶことができない。これらの季節的多型は oogenesis-flight シンドロームに当てはまるトレードオフ戦略であると考えられる。しかしながら、この種をはじめとする昆虫の季節的多型誘導やさまざまな生物に見られるトレードオフ戦略の分子機構の詳細は明らかにされていない。これらの分子機構を解明する目的で (1), (2), (3) のプロジェクトを立ち上げた。

(1) 多型誘導に関わる分子群の同定。

(2) カイコおよびヒメシロモンドクガにおける休眠ホルモン (DH) の血中濃度の測定。

(3) DH および FXPRL アミド受容体遺伝子群のクローニングと細胞生理学的解析。

## 2. 研究の進捗状況

(1) ヒメシロモンドクガの DH をコードする cDNA (*DH-PBAN* cDNA) を RT-PCR 法によりクローニングし、化学合成した DH とその抗体の注射により、この神経ペプチドホルモンが卵の休眠をはじめとする卵形成に関わる季節的多型を誘導することを明らかにした。さらに、RT-PCR および *in situ* ハイブリダイゼーション、免疫組織化学的解析により、ヒメシロモンドクガにおいてもカイコと同様の神経内分泌システムにより DH の分泌が行なわれることが推測された。さらにカ

イコでは、DH と同様の C 末端アミノ酸配列 (FXPRL アミド) をもつ  $\alpha$ -SGNP、 $\beta$ -SGNP、 $\gamma$ -SGNP、PBAN は休眠誘導活性を示さないが、ヒメシロモンドクガにおいては、DH 以外の FXPRL アミドにおいても休眠をはじめとする短日型の表現型が誘導されることが分かった。これらのことより、二種の昆虫では、FXPRL アミド受容体の質・量的な差異が二種における多型誘導の差異をもたらすと予測された。

(2) カイコにおける血液中の DH の測定を可能にする血液の抽出法およびサンドイッチ ELISA 法を確立した。この方法により、血液中の DH の pg/ml レベルの測定が可能となった。さらに一化性（遺伝的に休眠性）および多化性（遺伝的に非休眠性）の系統における蛹発育期の DH 濃度の変動を調査したところ、一化性系統では約 30 pg/ml の濃度で成虫羽化期まで推移するのに対し、多化性系統では約 10 pg/ml の濃度で推移した。これらのことより、これらの系統では血液中の DH 濃度の違いが休眠性を決定する主因であると推測された。

(3) ヒメシロモンドクガの DH および PBAN 受容体オーソログ cDNA を 5 種類クローニングした。さらに、RT-PCR 法により、長日および短日条件の蛹の卵巣における DH 受容体の発現量を予備的に調査したところ、発現量に違いが見られ、短日条件において強い発現を確認した。

## 3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。

(理由)

申請時に掲げた研究計画 (1)-(3) は、概ね一定の結果を得ることができ、昆虫の神経ペプチドホルモンがさまざま季節的多型の誘導を行なう多面作用をもつということをはじめ明らかにした。さらに生活史のトレードオフ戦略にペプチドホルモンが関わることもはじめて明らかにした。但し、ホルモン受容機構を中心とする、その分子メカニズムの解明には及ばず、今度の課題である。さらにこれらの結果を原著論文として公表することが重要であると考えられる。

#### 4. 今後の研究の推進方策

(1) 抗 FXPRL アミド抗体の注射により短日条件下で飼育した成虫の翅の長翅化が観察された。このことは、生活史のトレードオフ戦略の卵形成と翅形成の両方に FXPRL アミドが関与している可能性を示している。抗体注射実験や遺伝子ノックダウン実験により翅形成における FXPRL アミドの関与を検証していく。

(2) カイコの二化性系統の蛹-成虫発育期における血中 DH 濃度の測定を行なう。二化性系統は胚発育期の温度および日長条件により次世代の休眠性を変化させ、胚期の環境条件と蛹期の DH 濃度と休眠性の連関を明らかにする。

(3) 既にクローニングした受容体のリガンドとの親和性を細胞生理学的に解析するとともに、各組織における発現動態を詳細に調査する。

#### 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 3 件)

- ① Ohtsuka, K., Atsuma, T., Fukushima, Y., Shiomi, K.; Identification of a *cis*-regulatory element that directs prothoracicotropic hormone gene expression in the silkworm *Bombyx mori*. *Insect Biochem Mol Biol.* 41, 356-361, 2011, 査読有
- ② Hagino, A., Kitagawa, N., Imai, K., Yamashita, O., Shiomi, K.; Immunoreactive intensity of FXPRL amide neuropeptides in response to environmental conditions in the silkworm, *Bombyx mori*. *Cell Tissue Res.* 342, 459-469, 2010, 査読有
- ③ 塩見邦博「昆虫の季節戦略と私の研究展望」蚕糸・昆虫バイオテック, 日本蚕糸学会, Vol. 79, 25-28, 2010, 査読無

[学会発表] (計 5 件)

- ① 塩見邦博; チョウ目昆虫の季節戦略と感覚センサー; シンポジウム「昆虫の排泄・水分調節の解明と応用展開-アクアポリンファミリーの生理とその破綻-」; 新潟大学大学院, 2010. 12. 27.
- ② 塩見邦博; 昆虫の季節戦略と温度センサー; 特定領域研究「細胞感覚」2010 年夏の班会議 in 札幌, 2010. 7 5.
- ③ 塩見邦博; カイコの休眠誘導と温度・湿度センサー; シンポジウム「昆虫の排泄・水分調節の解明と応用展開-アクアポリンファミリーの生理とその破綻-」; 岡山大学資源生物科学研究所, 2009. 1. 6.
- ④ Sato, A., Uehara, H., Fukushima, Y., Hirabayashi, M., Kajiura, Z., Nakagaki, M., Shiomi, K.; Molecular cloning and expression analysis of thermoTRP homologs of the silkworm, *Bombyx mori*: Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology (APSERI 2008 NAGOYA), 2008. 3. 21-22.
- ⑤ Uehara, H., Sato, A., Fukushima, Y., Shiomi, K., Kato, Y.; Molecular cloning and functional analysis of cDNA encoding the diapause hormone on diapause induction and seasonal polyphenism in the *Orgyia thyellina*: Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology (APSERI 2008 NAGOYA), 2008. 3. 21-22.

[図書] (計 3 件)

- ① 塩見邦博, 加藤義臣 “動物の感覚センサーと環境応答” 「応用生物学入門」(平林公男, 白井孝治 共編) オーム社, pp. 35-60.
- ② 塩見邦博 “昆虫季節戦略を展開する休眠ホルモンと遺伝子” 「虫たちが語る生物学の未来」 pp. 142-145. 2009. 衣笠会
- ③ Shiomi, K. “Molecular Mechanisms of Cell-specific Expression of Neuropeptide Hormone Genes, *DH-PBAN* and *PTTH* in the Silkworm, *Bombyx mori*” In *Developmental gene expression regulation* (Eds Nathan C. Kurzfield) pp. 169-187. 2009. Nova Science Publishers, Inc..

[その他]

ホームページアドレス

<http://soar-rd.shinshu-u.ac.jp/profile/ja.WCnpjFkV.html>