

## 自己評価報告書

平成23年 4月28日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20380038

研究課題名（和文） カメムシの光周性と休眠を支配する中枢機構

研究課題名（英文） Central mechanism controlling photoperiodism and diapause in stink bugs

研究代表者

沼田 英治 (NUMATA HIDEHARU)

京都大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：70172749

研究分野：動物生理学

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、生体分子、脳・神経、遺伝子

## 1. 研究計画の概要

(1) 本研究の目的は、カメムシの成虫休眠とそれをもたらす光周性について、光入力から卵巣発達の抑制にいたる、中枢神経系および内分泌系による制御機構を細胞レベル、分子レベルで明らかにすることである。

(2) 光周性のための入力部分である複眼の中央部分の個眼から中枢への神経連絡と、その中枢の光周性・休眠における役割を明らかにする。

(3) 脳内の概日時計の位置をつきとめ、その存在および概日時計遺伝子の発現が光周性・休眠に及ぼす影響を調べる。

(4) 脳側方部ニューロンによるアラタ体のJH合成活性の調節機構を明らかにする。

(5) 血リンパ中のJH濃度と休眠の関係を明らかにし、JHによる標的遺伝子の発現を調べる。

(6) これらの結果として、光周性・休眠のしくみにおける入力から出力までを中枢神経系のどこで、どんな分子がどのようなしくみで行っているのかを明らかにする。

## 2. 研究の進捗状況

(1) 光入力部位から中枢への神経連絡については、現在のところ明らかになっていない。その理由として、複眼から中枢への染色方法に問題があると考えられる。

(2) ホソヘリカメムシにおいて脳内の概日時計の候補としてpigment dispersing factorの抗体に反応する神経細胞に注目して、除去実験を行い、光周性と概日リズムにどのような影響が出るかを検討している。

(3) ホソヘリカメムシの雌雄の成虫において、概日時計遺伝子である*period*、*cycle*、さらに哺乳類型*cryptochrome*の発現をRNA干渉法によって抑制すると、光周性とクチクラ形成の

概日リズムの両方に影響することが明らかになった。そして*period*あるいは哺乳類型*cryptochrome*の発現を抑制するのと*cycle*の発現を抑制するのでは、光周性、概日リズムのいずれにおいても反対の結果が得られた。これらの結果は、*cycle*を促進因子、*period*と哺乳類型*cryptochrome*を抑制因子としてもフィードバックループからなる概日時計が光周性に関与することを示しており、これまで不明であった光周性に関与する概日時計の分子機構が明らかになりつつある。

(4) チャバネアオカメムシのアラタ体が合成する幼若ホルモン分子の同定に成功した。この情報をもとに、ホソヘリカメムシの幼若ホルモン分子の同定を試みているが、生産量が予想以上に低かった。そのため、分析がより容易なチャバネアオカメムシにおいて、アラタ体を培養し放射化学アッセイ法を用いて幼若ホルモン合成量を測定し、条件および卵巣ステージごとの合成量を明らかにした。さらに、脳との共培養の結果から、短日条件下で脳がアラタ体の幼若ホルモン合成を液性経路で抑制している可能性が示された。

(5) チャバネアオカメムシの血リンパ中の幼若ホルモン分子を検出する方法を確立した。

## 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)

光周性に関与する概日時計の分子機構の研究については、当初の予想を大きく超えて進展した。ホルモン分子の関係する部分では、対象とする種を変えざるを得なかったが、長年不明であった幼若ホルモン分子が同定され、ほぼ当初の計画通りに進んでいる。光入力関係がやや遅れていることを考慮して、②

に該当すると判断した。

#### 4. 今後の研究の推進方策

- (1) 光入力部位から中枢への神経連絡については、神経染色に用いる分子を工夫するなどして問題点を解消する。
- (2) 光周性に関与する概日時計を神経細胞レベルで同定し、それらの細胞における時計遺伝子発現の変動を調べる。
- (3) チャバネアオカメムシにおいて、短日条件下で脳が分泌してアラタ体の幼若ホルモン合成を抑制する細胞群を明らかにする。
- (4) さまざまな条件の成虫の血リンパ中の幼若ホルモン濃度を測定して比較する。
- (5) 以上の結果をとりまとめて論文を発表する。

#### 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 5 件)

- ① Ikeno, T., Numata, H., Goto, S.G. (2011) Circadian clock genes *period* and *cycle* are indispensable for the photoperiodic regulation of male reproduction in the bean bug *Riptortus pedestris*. *J. Insect Physiol.* **57** 査読有
- ② Ikeno, T., Numata, H., Katagiri, C., Goto, S.G. (2011) Causal involvement of *mammalian-type cryptochrome* in the circadian cuticle deposition rhythm in the bean bug *Riptortus pedestris*. *Insect Molec. Biol.* **20** 査読有
- ③ Kotaki, T., Shinada, T., Kaihara, K., Ohfune, Y., Numata, H. (2011) Biological activities of juvenile hormone III skipped bisepoxide in last instar nymphs and adults of a stink bug, *Plautia stali*. *J. Insect Physiol.* **57**: 147-152 査読有
- ④ Ikeno, T., Tanaka, S. I., Numata, H., Goto, S.G. (2010) Photoperiodic diapause under control of circadian clock genes in an insect. *BMC Biol.* **8**: 116 査読有
- ⑤ Kotaki, T., Shinada, T., Kaihara, K., Ohfune, Y., Numata, H. (2009) Structure determination of a new juvenile hormone from a heteropteran insect. *Org. Lett.* **11**: 5234-5237 査読有

[学会発表] (計 26 件)

- ① 後藤慎介 概日時計遺伝子によって制御されるホソヘリカメムシの光周性 日本昆虫学会第 70 回大会 2010 年 9 月 19 日 山形大学農学部
- ② 沼田英治 昆虫の光周性と概日リズムの振動・光同調機構 第 16 回日本光生物学協会年会 2010 年 8 月 10 日 大阪大学医学系研究科
- ③ 松本圭司 チャバネアオカメムシにおける幼若ホルモン合成の光周期による調節

社団法人 日本動物学会第 81 回大会 2010 年 9 月 23 日 東京大学教養学部

④ 沼田英治 概日時計遺伝子はホソヘリカメムシの光周性において決定的な役割を果たす 第 54 回日本応用動物昆虫学会大会 2010 年 3 月 28 日 千葉大学西千葉キャンパス

⑤ 品田哲郎 カメムシ由来の新規幼若ホルモンの構造決定 第 50 回天然有機化合物討論会 2008 年 9 月 30 日 福岡国際会議場

[図書] (計 1 件)

① Goto, S.G., Shiga, S., Numata, H. (2010) Photoperiodism in insects: perception of light and the role of clock genes. In: *Photoperiodism: The Biological Calendar*. Oxford University Press, pp.258-286.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 光学活性化合物およびその製造方法、ならびに昆虫制御剤

発明者: 小滝豊美、品田哲郎、沼田英治、大船泰史

権利者: 独立行政法人農業生物資源研究所、公立大学法人大阪市立大学

種類: 特許

出願番号: 特願 2008-176363

公開番号: 特開 2010-013410

出願年月日: 2008 年 07 月 04 日

公開年月日: 2010 年 01 月 21 日

国内外の別: 国内

[その他]