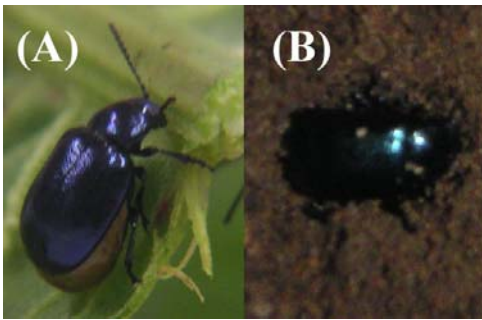


報告年月日	2005 年 4 月 11 日
報告者氏名	藤田 幸輔
職種 (○で囲む)	○研究員 (日本学術振興会特別研究員 COE 枠) RA
所属 (RA のみ)	連合農学研究科生物環境科学専攻 (岩手大学配属 15 年度入学)
担当 (指導) 教員氏名	鈴木 幸一
申請研究テーマ (50 字以内)	休眠越冬に関連したコガタルリハムシの活動期特異的タンパク質の分子機構
採用によって得られた成果	<p>研究背景</p> <p>コガタルリハムシは、鞘翅目ハムシ科に属する年一化性の昆虫であり、極めてユニークな生活史をもっている。春、越冬成虫が産下した卵から孵った幼虫は、エゾノギシギシを摂食して成長する。十分に成長した幼虫は、潜土し、蛹化する。羽化した新成虫は、一週間ほど地上で活動したのち再び潜土し、翌年の春まで成虫休眠越冬を行う。そして、休眠から覚醒した成虫は、交尾、産卵し、一生を終える。この休眠は、遺伝的に確定した休眠であり、その長い休眠越冬期間中には夏期の高温と冬期の寒冷に耐える生存システムを有しており、他にあまり例のない生活史戦略を展開している。この休眠に関して、いくつかの休眠関連タンパク質が見つかったが、このうち活動期特異的タンパク質 (71kDa) に着目した。</p> <p>目的</p> <p>昆虫の成虫休眠越冬の分子機構を解析するためには、コガタルリハムシの生活環が適切な素材となっている。この休眠に関して、活動期特異的タンパク質 (71kDa) の発現をノックアウトすることにより、休眠行動を制御できることから (図 1)、休眠の導入と覚醒に活動期特異的タンパク質が重要な役割を果たしていると示唆される。すなわち、コガタルリハムシの休眠越冬機構において、このタンパク質の長期間に渡る発現停止が成虫休眠を意味し、このタンパク質の発現が休眠しない、すなわち活動期を進行させる働きになっていると推測した。そこで、このタンパク質の生体内における新規の機能を明らかにすることで、昆虫から休眠越冬の新しい理解を提案することを目的とする。</p> <p>図 1. コガタルリハムシの (A) 通常の生殖期個体と (B) 活動期特異的タンパク質の発現をノックアウトした個体</p> 

研究方法

コガタリハムシの休眠は低温刺激により打破へ誘導される。そこで、冬季野外から休眠中のコガタリハムシをサンプリングし、ウエスタンブロットおよびノーザンブロットにより自然条件下での活動期特異的タンパク質の変動を解析した。

活動期特異的タンパク質はセルラーゼに相同性があることから、その酵素活性の測定を行った。基質にCM-cellulose および Cellodextran (Cellotriose, Cellotetraose, Cellopentaose) を用いて活動期特異的タンパク質と反応させ、Glucose の定量と薄層クロマトグラフィーによる分解産物の解析を行なった。

成果と考察

休眠越冬から覚醒後の生殖ステージへの迅速な移行における活動期特異的タンパク質の役割を解析するため、冬期間の野外での変動を調査した。その結果、1~3月の越冬個体において、このタンパク質が発現していないことがわかった。しかしながら、夏期間の休眠期にはないmRNAの存在は確認できることから、mRNAが低温で誘導され翻訳レベルの制御を受けていることが示唆される。

活動期特異的タンパク質はセルラーゼ様タンパク質であることから、CM-cellulose および β 1-4 グルコシド結合を持つ数種の Cellodextran (Cellotriose, Cellotetraose, Cellopentaose) を用いて詳細な解析を行なったところ、酵素活性は認められなかった。一方、現在までに、活動期特異的タンパク質遺伝子の発現停止で休眠行動を制御できる現象を発見している。しかしながら、活動期特異的タンパク質が生体内において、どのような生理作用で活動維持システムに関わり、その作用が停止すれば休眠化を引き起こすのかについては、残された大きな問題となっている。そこで新たにアミノ酸配列データを詳細に検討したところ、セルラーゼとは異なるいくつかの酵素機能が類推された。現在、この酵素活性の解析を進めている。

発表論文など

Ojima, N., Ikeda, S., Koike, O., Fujita, K. and Suzuki, K. (2005) Continuous rearing of an entomoresource, the leaf beetle, *Gastrophysa atrocyanea* (Coleoptera: Chymomelid) on artificial diets. *Applied Entomology and Zoology* **40**:119-124.

学会発表など

藤田幸輔・鈴木幸一. 2004. コガタリハムシの成虫活動期特異的タンパク質の構造, 遺伝子発現, 機能解析. 第49回日本応用動物昆虫学会講演.

下村久美子・藤田幸輔・田中弘正・鈴木幸一. 2004. コガタリハムシ成虫休眠関連タンパク質の越冬期発現変動. 第49回日本応用動物昆虫学会.