

所属・資格 生命科学科・准教授

申請者氏名 外川 徹

研究課題		昆虫クチクラタンパク質の機能多様性の解析
報告の概要	研究目的 および 研究概要	<p>昆虫の体表を覆うクチクラは、昆虫種、体の部位、発生段階により様々な性質をもち、それが昆虫の大繁栄の原因の1つだと考えられている。クチクラの主成分はキチンとクチクラタンパク質であり、クチクラタンパク質の多様性がクチクラの性質の多様性に重要な意味をもつと考えられている。しかしながら、クチクラの性質決定における各クチクラタンパク質の具体的な役割については知見が乏しい。そこで、クチクラの多様性発現のメカニズムを理解する目的で、クチクラタンパク質に注目し研究を行った。</p> <p>CPRファミリーは、クチクラタンパク質最大のグループであり、キチンに結合することが示されている。CPRにはRR-1とRR-2の2つのサブファミリーが存在し、これらの機能分担が注目されている。これらのタンパク質の性質を解析するために、カイコガのRR-1/2に属するタンパク質の組換えタンパク質を合成し、それらのキチン結合性を比較した。</p>
	研究の結果	<p>カイコガのRR-1タンパク質であるCPR41とRR-2タンパク質であるCPR104について、これらのキチン結合部位をGST融合タンパク質として大腸菌内で合成した。これらの組換えタンパク質はHisタグが付加されているため、Ni+アフィニティークロマトグラフィーで精製した。精製したタンパク質のキチン結合性をキチンアフィニティークロマトグラフィーで解析した。その結果、CPR41のキチン結合部位をもつタンパク質はキチンに対し高い結合性を示したのに対し、CPR104のキチン結合部位をもつタンパク質はキチンに対し、非常に弱い結合性しか示さなかった。キチンアフィニティークロマトグラフィーで使用するbinding bufferの塩濃度など、いくつか条件を変更して解析してみたが、同様の結果が得られた。このことから、少なくとも今回用いた条件においては、RR-1であるCPR41のキチン結合部位の方が、RR-2であるCPR104のキチン結合部位より、強いキチン親和性をもつことが明らかになった。</p>
	研究の考察・反省	<p>RR-1タンパク質とRR-2タンパク質は、性質の異なるクチクラから見出される傾向にある。今回の結果から、RR-1とRR-2のキチン結合性の違いがクチクラの性質を決定する1つの要因である可能性が示された。</p> <p>しかしながら、今回用いた組換えタンパク質は、Ni+イオンアフィニティークロマトグラフィーで精製したものの、夾雑物が含まれていた。そのため、より精製度の高いタンパク質を用いて解析を行う必要がある。また、RR-1、RR-2ともに多くのクチクラタンパク質を含むが、今回はそれぞれ1種類のタンパク質のみを用いて解析したために、得られた結果が各グループに共通しているかどうかはわからない。そこで、RR-1、RR-2に属する他のクチクラタンパク質の組換えタンパク質を調製し、同様の解析を行うことで、RR-1/2の性質の相違とそれらが構成するクチクラの性質の関係を議論する必要がある。</p>
研究発表 学会名 発表テーマ 年月日/場所	研究発表	<p>※この欄は、本報告書提出時点で判明している事項についてご記入ください。</p> <p>&lt;研究発表&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>4th International Insect Hormone Workshop Tissue dependent induction of hairy gene by juvenile hormone in <i>Bombyx mori</i> 2019年7月1日/ギリシャ, クレタ, コリンバリ</li> <li>4th International Insect Hormone Workshop Functional study of PTEN-like phosphatase (Plip) in silkworm, <i>Bombyx mori</i> 2019年7月1日/ギリシャ, クレタ, コリンバリ</li> <li>Eighth International Symposium on Molecular Insect Science Cuticular protein genes are expressed not only in epidermis but also in endocrine organs 2019年7月8日/スペイン, バルセロナ, シツェス</li> <li>Eighth International Symposium on Molecular Insect Science Functional analyses of <i>PTEN-like phosphatase (Plip)</i> in silkworm, <i>Bombyx mori</i> 2019年7月8日/スペイン, バルセロナ, シツェス</li> <li>日本蚕糸学会第90回大会 CPRクチクラタンパク質のサブファミリー間でのキチン結合性の比較 2020年3月6日/長野県, 上田市</li> </ul>
研究成果物 テーマ 誌名 巻・号 発行年月日 発行所・者	研究成果物	

<研究成果物>

- Identification of novel genes expressed highly and selectively in the corpora allata of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae)  
Applied Entomology and Zoology  
55 卷, 45-54 ページ  
2020 年