

中垣雅雄

目的別テーマ：天然繊維の高機能化と応用

研究テーマ

16-2-18：水中で繊維化するトビケラ絹タンパク質の遺伝子解析

ABSTRACT

Larvae of water moth form a net of silk in the water. The silk is expected as textile materials of new biofiber. The purpose of this study to clarify the silk property. It became clear that the silk which water moth made consisted of one main protein and several minor proteins. The silk of water moth seemed to include sericin-like protein by preliminary investigation. The cDNA library from mRNA of a water moth silk gland has been analyzed to study a silk protein gene of water moth.

研究目的

バイオ繊維としての新しい素材を探索が注目されている。本テーマは、この新しいバイオ繊維素材の候補として、人類がその有効利用に未だ成功していない水生昆虫の生産する繊維を研究対象とした。研究河川に生息する水生昆虫ヒゲナガカワトビケラの幼虫は、水中で繊維化する絹で網を張る。この絹は流速の早い環境で石壁表面に強く付着し、この絹の網にしがみつくとビケラ幼虫が流水で流されないようにしている。トビケラの絹は水中で糊タンパク質として働いているが、この絹については全く調査されていない。新しいバイオファイバーの繊維素材として期待される。トビケラ幼虫は、蚕と違い一気に絹を作ることはしない。トビケラの絹タンパク質解析と遺伝子解析が出来れば、他生物で大量生産させることも可能になる。そこで、本研究はこの絹の性質を明らかにすることである。

5年間の研究内容と成果

● 研究目標

本テーマの研究目標は以下の通りである。

- ヒゲナガカワトビケラの幼虫が作る絹の性質を明らかにすること
ヒゲナガカワトビケラの幼虫が作る絹は、水中で繊維化する絹であるがその性状については、ほとんど調べられていない。この絹で作られる網は、流速の早い環境で石壁表面に強く付着して張られる。この絹の網にしがみつくとビケラ幼虫が流水で流されないようにしている強い繊維で、トビケラの絹は水中で糊タンパク質としても働く。この絹の性質を明らかにすることが、本テーマの最初の研究目標である。
- ヒゲナガカワトビケラ絹遺伝子のクローニングすること
ヒゲナガカワトビケラの幼虫が作る絹の性質を明らかにするためには、遺伝子配列の情報を正確に把握し、その遺伝子から作られるタンパク質配列を解明するのが研究の近道である。このために、ヒゲナガカワトビケラ絹遺伝子のクローニングする必要がある。また、このクローニングは、ヒゲナガカワトビケラの絹を、ヒゲナガカワトビケラ以外の生物で大量生産する上で是非とも必要となる。
- ヒゲナガカワトビケラ絹遺伝子の配列解析をすること
ヒゲナガカワトビケラの幼虫が作る絹の性質を明らかにするために、ヒゲナガカワトビケラ絹遺伝子の配列解析を行う。

● 研究内容及び研究範囲

1. ヒゲナガカワトビケラの幼虫の作る絹タンパク質の組織学的分布調査
蚕の繭糸は、フィブロイン、セリシンという2種類のタンパク質から作られる。ヒゲナガカワトビケラの幼虫の作る絹について、このような2種類のタンパク質が存在するのか否かについてこれまで、調査した報告が無く、全く不明である。まず、これを明らかにするために、ヒゲナガカワトビケラの幼虫の作る絹タンパク質について組織学的な分布調査を行い、2種類のタンパク質が存在す

るのかを詳細に検討する。組織学的手法による調査により、タンパク質の染色性の違いなどからの分布解析を行う。

2. ヒゲナガカワトビケラ絹タンパク質の種類と分子量分析

ヒゲナガカワトビケラ絹タンパク質の種類を発育段階別に調査し、電気泳動法などによってその分子量分析を行う。ヒゲナガカワトビケラ絹タンパク質のサイズが蚕の絹や蜘蛛の糸を構築するタンパク質と似ているかどうかについて検討する。

3. ヒゲナガカワトビケラ絹タンパク質のアミノ酸組成分析

ヒゲナガカワトビケラの幼虫の作る絹タンパク質は、水中で糸化するタンパク質であるので、蚕の繭糸とは異なったアミノ酸が使用されている可能性が高い。そのアミノ酸の組成についての分析調査を行う。

4. ヒゲナガカワトビケラ絹タンパク質のN末端分析

絹タンパク質のN末端の遺伝子コードは、絹タンパク質遺伝子のcDNAの5'末端側に含まれるため、ヒゲナガカワトビケラの幼虫の作る絹タンパク質のN末端分析を行うこの分析結果により、ヒゲナガカワトビケラ絹タンパク質のcDNAの選抜が出来る。ガカワトビケラ絹タンパク質のcDNAについては、既知の報告が無く、未解析の配列であるため、このN末端分析の結果が、cDNAの同定の決め手として有効となる。

5. ヒゲナガカワトビケラ絹遺伝子のクローニングと配列解析

ヒゲナガカワトビケラの幼虫の作る絹タンパク質の遺伝子をクローニングする。そして、その配列解析を行い、ほかの昆虫や蜘蛛で報告されている配列との相違を調査する。水中で糸化するタンパク質を生産する水性昆虫であるので、蚕の繭糸などとは異なった遺伝子コドンを使用している可能性が高い。

● 研究成果

水生昆虫ヒゲナガカワトビケラの吐く絹は、1本の主要タンパク質と複数の微量タンパク質から構成されていることが明らかになった。この主要タンパク質の遺伝子解析を行うため、トビケラ絹糸腺のmRNAから作成したcDNAライブラリーを解析中である。ヒゲナガカワトビケラの吐く絹のタンパク質を二次元電気泳動し、絹タンパク質のスポットをMALDI-TOF-MAS分析した結果、細胞間接着に役割を果たすカドヘリン・タンパク質との類似性を示唆する結果が得られた。水生昆虫ヒゲナガカワトビケラの吐く絹は、水中で巣を作るため水中の石などに接着する絹であるので、興味をそそられる結果であるが、その結果の再現性について再確認して、さらなる分析を行う必要がある。