

白井孝治・木口憲爾

目的別テーマ：バイオファイバー生合成機構の解明

17 年度研究テーマ

15-2-15 : 絹糸腺とその相同器官の遺伝子発現制御及び吐糸行動の内分泌制御機構に関する研究

ABSTRACT

While many members of lepidopteran insect produce fibrous materials (silk), only the silk produced by silkworm, particularly those of Bombyx mori, is commonly used in our daily lives. It is therefore important to investigate the properties and production of silk by other insects in order to source novel natural fibers (silks). In this year, we tried to categorize and characterize the luminal proteins in labial glands from 5th instar larva. So, the major luminal contents were isolated and characterized some properties. These luminal proteins had unique repeated amino acid sequences usually shown in fibrous protein, respectively. So they were considered to be fibrous proteins of Agrius larva. Moreover, these proteins could classify into some group (at least three) by the size and sequence. Therefore, the larval silk of A. convolvuli is considered to be made from several fibrous proteins.

研究目的

本研究はエビガラスズメのフィブロイン（繊維状タンパク質、シルク）の性質と合成・分泌制御機構を明らかにすることで、今後更なる進展が期待される新規生物タンパク質の作出に有用な知見を得ることを目的としている。エビガラスズメのシルクの特徴的な点は幼虫期と蛹室形成期（カイコでは繭形成期に相当）で構成するタンパク質成分が異なることである。すなわち幼虫期と蛹室形成期で異なるシルクを作ることで、それぞれのステージで必要とされる目的にあわせていると思われる。本年度は5 齢幼虫期のエビガラスズメ下唇腺内容を調査し、それぞれの成分の特徴を明らかにした。

一年間の研究内容と成果

まず5 齢幼虫期の下唇腺内タンパク質の経時的变化を調査した。5 齢脱皮後から蛹室形成期まで、24 時間毎に下唇腺内容を回収し、発育に伴う成分変化を分析した。その結果、5 齢幼虫期を通してルーメン内成分の変化がほとんど無いことが明らかになった。なお、一部の個体にのみ認められる特有の成分が存在した。このような個体差が認められる原因は今後の課題としたい。

次に5 齢期の主要成分をより詳細に分析するため、まず2 次元電気泳動を行った。その結果、これまで報告してきた主要成分 76k および 70k タンパク質と近い分子量のタンパク質が少なくとも2 種類認められ、計4 種類の成分が存在することが明らかになった。このうち、76k と新たに検出された 74k の N 末端アミノ酸配列が極めて類似していることが分かった。さらに両者のペプチドマップもほぼ同じであった。5 齢幼虫期における他の主要成分である 116k タンパク質も単離し、N 末端アミノ酸配列等を分析したが、76k タンパク質のグループとは大きく異なっていた。さらに本研究で新たに検出された比較的 low molecular weight のルーメン内成分（約 30kDa）についても同様の分析を行ったところ、特徴的な配列をし、それぞれが類似していることが示唆された。以上の結果から、幼虫期のシルクが幾つかのグループに分離可能な複数の成分からなることが明らかになった。

展望

現在、5 齢幼虫期の成分をクローニング中である。現在得られたクローンを分析することでエビガラスズメ 5 齢幼虫期の繊維物質の一端が明らかになると期待される。エビガラスズメのシルクのアミノ酸組成はカイコと大きく異なることがすでに明らかになっており、今年度の研究および過去の研究から、下唇腺ルーメン内の成分は、幾つかのグループに分離することが可能であることが明らかになった。そのため、それぞれ代表的な成分の遺伝子のクローニングを行うことで、エビガラスズメ幼虫の繊維状物質の合成や、幼虫期と変態期の成分の切り替えメカニズムが追究できると予想される。これらの結果は、今後の新規生物繊維のデザインに有用な知見となると期待している。