

解禁時間は、7月3日（火）
午前4時（新聞は朝刊から）

平成24年6月29日
独立行政法人農業生物資源研究所

プレスリリース

昆虫の『変身』を抑える遺伝子のスイッチのしくみを 世界で初めて解明 —狙いの害虫にのみ作用する薬剤の開発に期待—

ポイント

- ・ 幼若ホルモン（JH）は、「*Kr-h1*」という、昆虫の「変身（変態）」を抑える遺伝子のスイッチをオンにして働かせることが知られています。
- ・ 生物研では、カイコを用いて、そのスイッチのしくみを世界で初めて明らかにしました。
- ・ JHは、「MET」と「SRC」の2種類のタンパク質を介して、「*Kr-h1*」遺伝子の「JH応答配列」に結合し、この遺伝子のスイッチをオンにします。
- ・ このスイッチのしくみは多くの昆虫に共通なものと考えられます。
- ・ 本研究成果を応用し、JHの作用を妨げる物質の効率的なスクリーニング法を開発しました。
- ・ 本法を用いて、狙いの害虫にのみ効果を示し、他の昆虫には悪影響の少ない薬剤（抗JH剤）の開発が期待されます。

概要

1. 幼若ホルモン（JH）¹⁾は、昆虫の幼虫から蛹への「変身（変態）」を抑える作用を持つホルモンです。最近、甲虫の一種であるコクヌストモドキから、変態を抑える作用を持つ遺伝子「*Kr-h1*」が見つかり、JHはこの遺伝子を活発に働かせることによって変態を抑えていることがわかりました。しかし、その詳しいしくみはわかっていませんでした。
今回、（独）農業生物資源研究所（生物研）は、カイコの培養細胞²⁾を用いて、JHが*Kr-h1*遺伝子を働かせるしくみを世界で初めて明らかにしました。
2. カイコの*Kr-h1*遺伝子から、この遺伝子を働かせるスイッチの役割をするDNA配列「JH応答配列」を見つけました。通常、カイコの培養細胞にはJHがないために*Kr-h1*遺伝子は全く働いていませんが、JHを加えると、「MET」と「SRC」という2種類のタンパク質が*Kr-h1*遺伝子のJH応答配列に結合することでスイッチが入り、*Kr-h1*遺伝子が働きだすことがわかりました。
3. ショウジョウバエ、ミツバチ、甲虫、アブラムシなど、他の昆虫の*Kr-h1*遺伝子にも良く似たJH応答配列が見つかりました。また、これらの昆虫はMETとSRCの遺伝子も持っていることから、変身を抑えるスイッチのしくみは、昆虫に共通なものと考えられます。
4. 本研究の成果を応用し、カイコ培養細胞を使って、JHと同じ作用を持つ化合物や、JHの作用を妨げる化合物を、効率的に探す方法（スクリーニング法）を開発しました。この方法は、ヨトウガなど狙いの害虫には効果を示すが、ミツバチや天敵昆虫などには悪影響を及ぼさない、環境に優しい薬剤の開発に役立つものと期待されます。
5. この成果は、平成24年7月2日（月）午後3時（米国東部時間）以降に米国科

学アカデミー紀要で発表される予定です。
予算区分：農研機構・生物系特定産業技術研究支援センター「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」（平成 17-21 年度）

特許出願中(国内)：出願番号 特願 2009-115312、出願日 2009.5.12

問い合わせ先など

研究代表者：	(独) 農業生物資源研究所 理事長	石毛 光雄
研究推進責任者：	(独) 農業生物資源研究所 昆虫科学研究領域 昆虫成長制御研究ユニット ユニット長	篠田 徹郎
	電話：029-838-6075 E-mail：shinoda@affrc.go.jp	
研究担当者：	(独) 農業生物資源研究所 昆虫科学研究領域 昆虫成長制御研究ユニット 任期付研究員	粥川 琢巳
広報担当者：	(独) 農業生物資源研究所 広報室長	井濃内 順
	電話：029-838-8469	

本資料は筑波研究学園都市記者会、農政クラブ、農林記者会、農業技術クラブに配付しています。

研究の社会的背景と経緯

殺虫剤による害虫防除は、農作物の安定的な生産に大きく貢献していますが、その一方で使用を誤ると、環境や人体、またミツバチやテントウムシなどの益虫に悪影響をおよぼす危険性があります。そのため、環境や人体によりやさしく、害虫にだけ作用するような殺虫剤の開発が求められています。

昆虫の幼虫は、卵からかえると、幼虫から幼虫へとほとんど姿形を変えずに脱皮を繰り返して大きくなります。十分に大きくなると、今度は幼虫から蛹、蛹から成虫へと劇的な「変身(変態)」を行います(図1)。「幼若ホルモン(JH)」は、昆虫が幼虫から幼虫へ脱皮するのを維持し、変態するのを抑える働きを持つホルモンです。昆虫が正常に成長するために、昆虫体内のJH量は、発育段階に応じて厳密にコントロールされています。そのため、昆虫の体内にJHがほとんどない時期に、外からJHと同じ作用を持つ化合物(JHアゴニスト:JH剤)を与えたり、逆に、体内のJH量が多い若い幼虫に、JHの作用を阻害するような化合物(JHアンタゴニスト:抗JH剤)を与えると、昆虫は正常に発育することができません。これを逆手に取って、JHアゴニストやJHアンタゴニストを、害虫防除に使おうという試みがなされています。JHの化学構造は昆虫のグループによって差があるため、特定の害虫種のみ作用するJH剤や抗JH剤が作れる可能性があります。

現在、JHアゴニスト(JH剤)は、一部の害虫の防除に利用されていますが、若い幼虫にはほとんど効果がないため、チョウ目昆虫のヨトウムシなどの防除には使えません。JHアンタゴニストがあれば、ヨトウムシなどの幼虫を早く蛹にして農作物の被害を抑えることができると期待されます。しかし、これまでのところ、実用的なJHアンタゴニスト(抗JH剤)は開発されていません。その理由として、JHが変態を抑える分子的なメカニズムに不明な点が多く、そのため、JHアンタゴニストを効率的に探索する方法が開発されていないことがあげられます。

そこで今回、JHアンタゴニストの効率的なスクリーニング法の開発を目指し、チョウ目害虫のモデル昆虫であるカイコを用いて、JHの分子作用機構の解明に取り組みました。

研究の内容・意義

これまでに生物研では、甲虫のモデル昆虫であるコクヌストモドキを用いて、「*Kr-h1*」という遺伝子が変態を抑える働きを持つこと、またJHは*Kr-h1*遺伝子を働かせることで変態を抑制することを明らかにしました。しかし、JHが*Kr-h1*遺伝子を働かせる詳しいしくみは不明でした。

今回、チョウ目のモデル昆虫で、ゲノム情報や培養細胞が利用できる、カイコを用いて調べたところ、コクヌストモドキと同様にカイコでも、JHが*Kr-h1*遺伝子を働かせていることがわかりました。

次に、カイコ培養細胞を用いた生物発光レポーターアッセイ法³⁾により、JHが*Kr-h1*遺伝子を働かせるのに必要なスイッチの役割をするDNA配列「JH応答配列」を見つけました。また、JHが、JH受容体遺伝子(*Met*)が作る「MET」タンパク質に結合し、さらにMETはステロイド受容体コアクチベーター(*SRC*)遺伝子が作る「SRC」タンパク質と結合することがわかりました。このJH/MET/SRCの3つの分子の複合体が、JH応答配列に結合することにより、*Kr-h1*遺伝子が働く(転写が活性化する)こ

とが明らかになりました (図 2)。

ショウジョウバエ、ミツバチ、甲虫 (コクヌストモドキ)、アブラムシなど、ゲノム情報がわかっている他の昆虫にも、「JH 応答配列 (*Kr-h1* 遺伝子)」、*Met* 遺伝子、*SRC* 遺伝子があるかどうか調べたところ、全ての昆虫でこれらの遺伝子が見つかりました。このことから、今回、カイコで明らかにした JH による *Kr-h1* 遺伝子の誘導のしくみは、昆虫に共通なメカニズムであると考えられます。

本成果を生物発光レポーターアッセイ法に応用し、カイコ培養細胞を使って JH と同じ作用を持つ物質 (JH アゴニスト) や、JH の作用を抑える物質 (JH アンタゴニスト) を効率的にスクリーニングする方法を開発しました (図 3)。本法を用いることで、JH アゴニスト剤だけでなく、これまで実現していない、ヨトウガなどの害虫の幼虫を早く蛹にして作物の被害を少なく抑える JH アンタゴニスト剤の開発が可能になると期待されます。

今後の予定・期待

今後、トビイロウンカなどの重要害虫や、ミツバチなどの昆虫等についても、JH 応答配列 (*Kr-h1* 遺伝子)、*Met* 遺伝子、*SRC* 遺伝子を明らかにし、それらの遺伝子を利用して、JH アゴニストや JH アンタゴニストのスクリーニング系を開発する予定です。それらを利用することで、狙いの害虫のみに効果があり、他の昆虫には悪影響がない薬剤の開発につながるものと期待されます。

発表論文

Kayukawa T, Minakuchi C, Namiki T, Togawa T, Yoshiyama M, Kamimura M, Mita K, Shigeo Imanishi S, Kiuchi M, Ishikawa Y, Shinoda T (2012) **Transcriptional regulation of juvenile hormone-mediated induction of Krüppel homolog 1, a repressor of metamorphosis, in *Bombyx mori*.**

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, in press

用語の解説

1) 幼若ホルモン (juvenile hormone, JH)

昆虫に固有の脂溶性ホルモン (セスキテルペノイドホルモン) の 1 種で、昆虫の成長・生殖・休眠等、様々な生理現象を制御しています。最も代表的な作用として、昆虫の変態 (蛹化や成虫化) を抑えることが知られています。JH は脳の近くにあるアラタ体と呼ばれる組織で合成・分泌されて、体液を通じて全身の組織に運ばれ、そこでその作用を発揮します。

2) 培養細胞

動物 (昆虫を含む) の体から取り出した組織に、適当な栄養を含む培地を与えると、シャーレなどの中で長期間増殖する細胞を作ることができます。これを培養細胞と呼びます。培養細胞は、個体に比べて性質が均一で、また遺伝子導入などの操作が容易に行えるため、分子生物学の実験や、薬剤のスクリーニングなどに広く用いられます。

3) 生物発光レポーターアッセイ法

遺伝子の発現状態を化学発光の強度により測定する方法です。遺伝子の発現量を短時間、低コストで解析することができます。

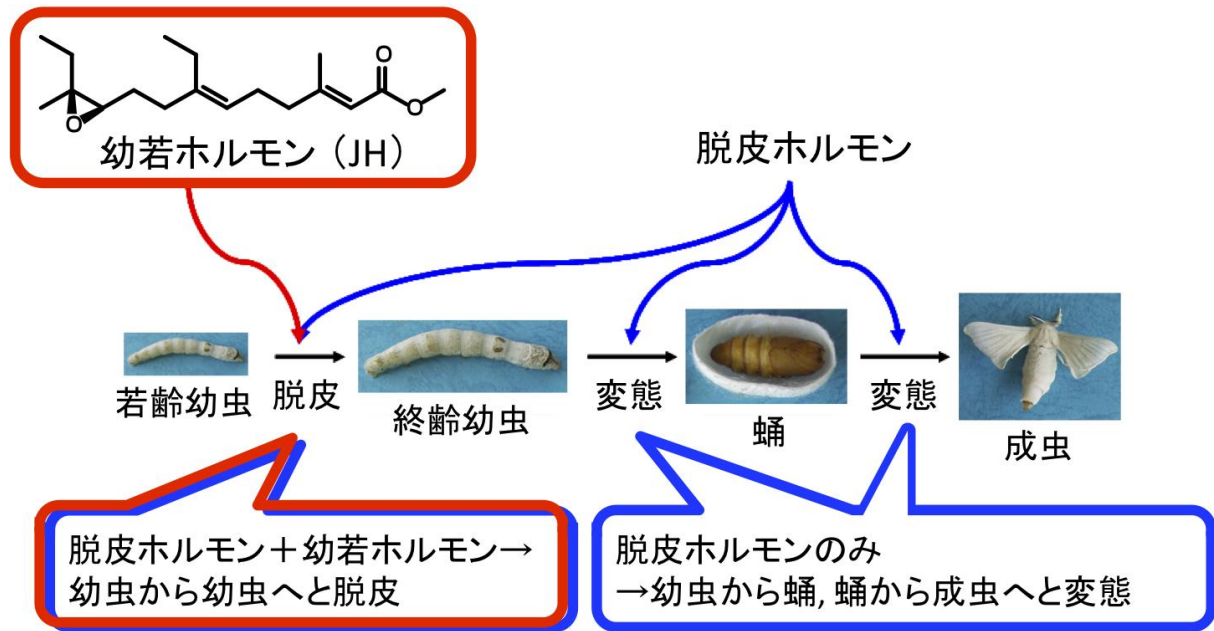


図1 昆虫の脱皮・変態における幼若ホルモン (JH) の役割

昆虫は脱皮を繰り返して成長します。幼虫から幼虫、幼虫から蛹、蛹から成虫へのいずれの脱皮も、脱皮ホルモンによって引き起こされます。一方、幼若ホルモン(JH)には、昆虫の変態を抑える働きがあります。若い幼虫(若齢幼虫)では、体内にJHが多く存在しており、JHは脱皮ホルモンと共同で、幼虫から幼虫への脱皮を繰り返し引き起こします。幼虫が十分に大きくなると、体内からJHがなくなり、脱皮ホルモンが単独で作用すると、幼虫から蛹、蛹から成虫へと変態が起こります。JHが変態を抑える作用を持つことは、今から60年以上前に発見されましたが、その分子的なメカニズムはまだわかっていませんでした。

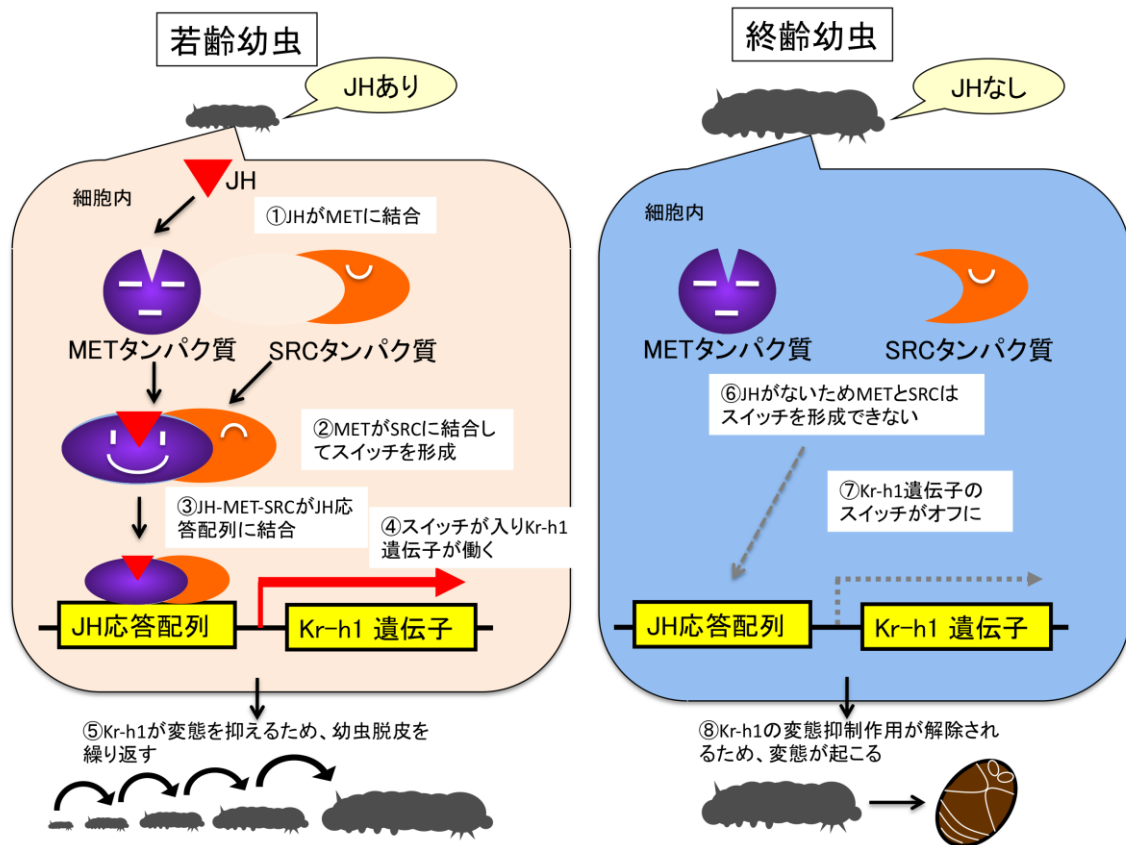


図2 JHが*Kr-h1*遺伝子を働かせるしくみ

(左)細胞内に取り込まれたJHは、まずMETタンパク質と結合します。JHと結合したMETタンパク質は、さらにSRCタンパク質と複合体を形成して*Kr-h1*遺伝子のJH応答配列に結合します。すると、*Kr-h1*遺伝子のスイッチが入って働き出します。(右)細胞内にJHがない時には、METとSRCのスイッチが形成されないため、*Kr-h1*遺伝子が働きません。*Kr-h1*遺伝子には、変態を抑える作用があるため、体内にJHがある若齢幼虫では*Kr-h1*遺伝子の働きにより変態が抑えられています。終齢幼虫になると昆虫の体内からJHが無くなり、*Kr-h1*遺伝子のスイッチが切れて働かなくなり、そのために変態が起こると考えられます。

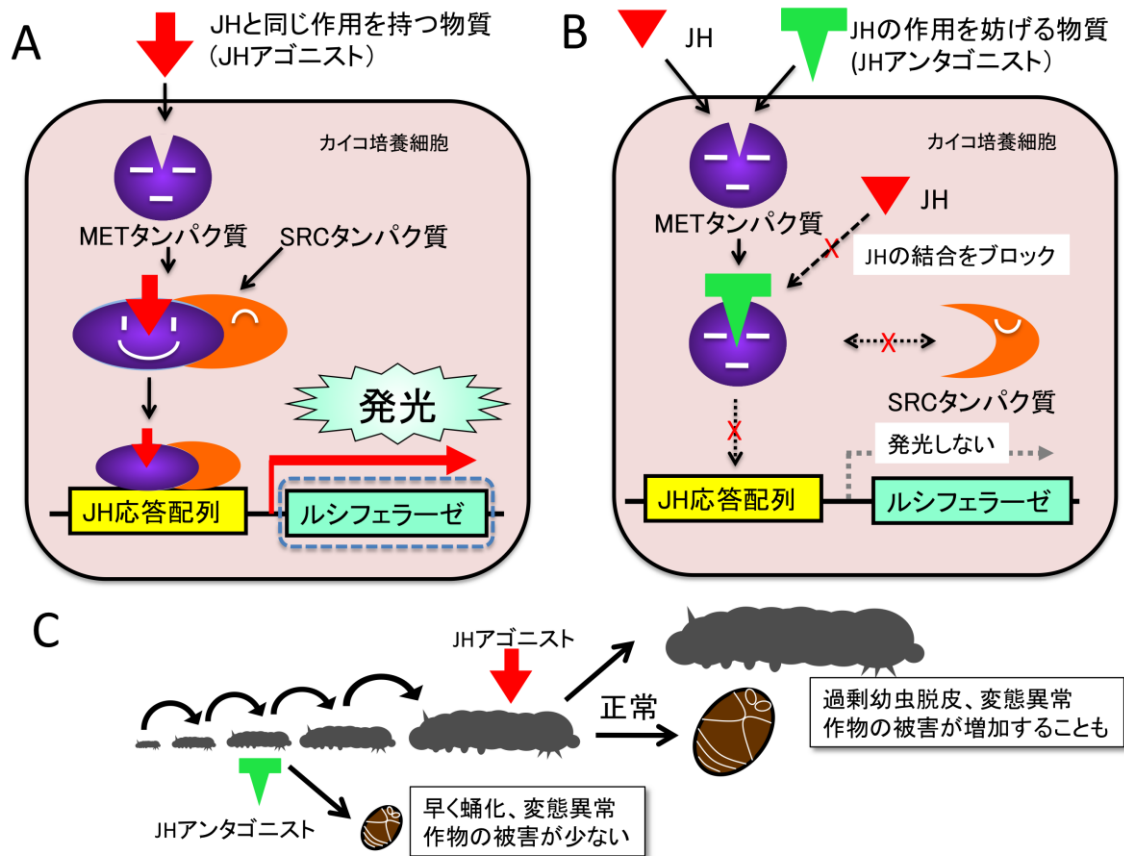


図3 JH 応答配列を利用した新しい薬剤のスクリーニングシステム

カイク培養細胞に、今回見いだした JH 応答配列に、*Kr-h1* 遺伝子の代わりにルシフェラーゼ遺伝子をつないだレポーターを導入することで、JH と同じ作用を持つ物質 (JH アゴニスト) や、JH の作用を抑える物質 (JH アンタゴニスト) を効率的にスクリーニングするシステムを開発しました。調べたい化合物を細胞に与えて、発光すれば JH と同じ活性があることがわかります(A)。また、調べたい化合物と JH を同時に細胞に与えて、発光しなければ、JH を抑える活性があることがわかります(B)。将来的には、この方法を用いて見つけた化合物 (JH アンタゴニスト) から、ヨトウガなどの害虫を小さいうちに早く蛹にして、作物の被害を減らすような新しいタイプの薬剤が開発されることが期待されます(C)。