

## カイコ胚休眠開始期に発現する 酸化抵抗性タンパク質 (OXR1) 相同遺伝子の機能解析

高橋 正樹・新美 輝幸・山下 興亜・柳沼 利信

Masaki TAKAHASHI, Teruyuki NIIMI, Okitsugu YAMASHITA  
and Toshinobu YAGINUMA: Functional Analysis of *Bombyx* Homolog of  
*oxidation resistance gene 1*\*

Laboratory of Sericulture and Entomoresources, Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University,  
Chikusa, Nagoya, Aichi 464-8601, Japan  
E-mail: yaginut@agr.nagoya-u.ac.jp (TY)

カイコ *Bombyx mori* は発生初期 (囊胚期) に休眠する昆虫である。この胚休眠は蛹期の発育卵巣に休眠ホルモンが作用することにより誘導されるが、休眠ホルモン情報の受容から休眠開始に至るまでの分子機構はいまだ不明である。これらを解明する一助として、休眠開始期に特異的に発現する遺伝子を単離することを目指している。

mRNA 発現差異を高感度で検出する SABRE 法を用いたところ、休眠卵により豊富に発現する cDNA (*Bm05*) を単離した。早速、*Bm05* mRNA 量の変動を休眠・非休眠性卵で real time PCR 法を用い詳細に調査したところ、いずれの卵でも産下後 12 時間までは比較的高い値を維持したが、その後減少し、非休眠性卵 (N<sub>4</sub>) では産下後 1 日から極めて低い値となった。これに反し、休眠性卵 (春嶺×鐘月) ではその後も高い値が認められた。これらの変動が、休眠性によるものか、品種の違いによるものかを明らかにする目的で、つぎに休眠性卵 (春嶺×鐘月) を産下後 1 日で塩酸処理し、休眠回避卵 (人工非休眠卵) として、*Bm05* mRNA 量の経時変動を追跡した。塩酸処理後 12 時間以降、明らかに mRNA 量の減少が認められたが、無処理卵ではそれ程減らなかった。以上のことから、*Bm05* mRNA が休眠開始期により高い発現を示すことが明らかとなった。この点はノーザン・プロット実験からも確認された。

*Bm05* cDNA は 1,093 個のアミノ酸残基をコードする ORF をもつ。アミノ酸配列を基に検索したところ、キイロショウジョウバエ L82A、ヒト OXR1 (酸化抵抗性タンパク質) およびマウス C7 と類似する 3ヶ所のドメインをもつことが判明し、ヒト OXR1 の相同体と考え、*BmOXR1* と命名した。

一般に、酸化抵抗性関連遺伝子は寿命に関わると考えられている。また、休眠も生命維持機構の一つとも考えられることから、まず *BmOXR1* 遺伝子をキイロショウジョウバエのゲノム DNA に挿入し、ハエの寿命に対する影響を検討することから *BmOXR1* 遺伝子の機能を考えることにした。発現系としては Gal4/UAS 系を用い、プロモーターとしては *actin* および *heat-shock protein* 系を使用した。

形質転換体は 6 系統が得られ、形質転換効率は約 14 % であった。これらを継代し、特にヒートショックをかけた 30 °C 下で成虫を飼育したところ、*BmOXR1* が挿入されていない個体群 *hs-Gal4* に対し、形質転換された *hs-Gal4/UAS-BmOXR1* 個体群の寿命は少なくとも 1.5 倍以上にのびた。

以上の結果から *BmOXR1* 遺伝子がキイロショウジョウバエ成虫の寿命に関わることが明らかになり、カイコ 休眠開始・維持期での役割を明らかにすることが急務となった。

\* Abstract of paper read at the 39th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, May 30-31, 2003 (Itako, Ibaraki).