カイコ胚休眠の分子機構

休眠ホルモンの合成と受容，休眠開始期に発現する遺伝子を中心に

柳沼利信^{*1}，新美輝幸^{*1}，塩見邦博^{*2}

^{*1}名古屋大学大学院生命農学研究科，^{*2}信州大学繊維学部

昆虫およびカイコの休眠の一般的な現象と意義については、これまでにいくつかの総説があるので、それら^(1~4)を参照いただくこととして、ここでは、カイコの胚休眠研究の中で特に筆者らが進めている3つの課題を中心に最近の知見を紹介したい。

カイコの胚休眠とは

カイコ卵は、産卵・受精後に核・細胞分裂を続け、囊胚期（産卵後2~3日）に至って胚細胞の分裂を停止し、休眠に入る。この時期の胚は約15,000個の細胞から構成されている⁽²⁾。昆虫にとって形態形成に適した温度は25℃前後であるが、休眠卵が25℃に保護される限り、1年後でもほとんどが休眠状態にあり、幼虫が孵化する卵は数%に過ぎない（図1-aのA）⁽⁵⁾。発育に適した温度であっても、休眠にいったん入ると休眠から覚めないのがカイコ休眠の特徴である。

図1は、産卵から30日後まで25℃に保護し、卵を完全な休眠状態とし、その後、人工越冬の影響を検討したものである。様々な期間冷蔵処理し、再び25℃に保護した場合に、発育が再開されるかどうか（休眠から覚醒したかどうか）を調査した実験である。51日間5℃に処理すると、24%の卵から幼虫が孵化する（図1-aのD）が、

その発育は斉一ではない。ところが、61日間の5℃処理後であると、58%の卵で幼虫孵化が認められ、発育も斉一化し始める（図1-aのE）。5℃処理73日間を超えると、25℃での胚発育は斉一になり、あたかも非休眠卵と同様に10日後には一斉に幼虫が孵化する（図1-aのF）。それでは、低温であれば0℃に近い温度でも休眠覚醒に有効かという、そうではなく（図1-b、たとえば80%以上の孵化率をもたらすためには、5℃処理では73日間を要するが、0.5℃処理では321日間を要する）、5℃がきわめて有効である。

これらの結果から、カイコ卵（胚）には温度シグナルに対して巧みな処理能力が備わっていることが頷ける。名古屋の戸外を考えた場合、カイコの餌である桑葉が登場するのは4月以降である。それまでに孵化した幼虫は餌にありつけず、死を待つほかない。昆虫は変温動物であるので、発育は外部温度に依存する。秋に産み落とされた卵は、4月まで休眠状態や外部温度に依存した発育遅延を組み合わせることで、幼虫孵化時期を桑葉登場時期に一致させるように調節していることになる。

休眠卵内で進行する生化学的な出来事

休眠中には、胚細胞がさらに分裂することはなく、形

図1 ■ 卵齢30日のカイコ卵の休眠覚醒と冷蔵期間との関係

休眠卵を産卵後30日まで25°Cで保護し、その後5°C (a) または0.5°C (b) で冷蔵した後、25°Cで胚発育を促進し、幼虫孵化した卵数をパーセントで示した。アルファベットは低温処理から25°Cに戻した日卵齢(産卵後の日数)を示す。A: 連続25°C保護卵(冷蔵0日), B: 96日(冷蔵66日), C: 73日(冷蔵43日), D: 81日(冷蔵51日), E: 91日(冷蔵61日), F: 103日(冷蔵73日), G: 110日(冷蔵80日), H: 122日(冷蔵92日), I: 131日(冷蔵101日), J: 143日(冷蔵113日), K: 164日(冷蔵134日), L: 185日(冷蔵155日), M: 215日(冷蔵185日), N: 250日(冷蔵220日), O: 164日(冷蔵134日), P: 222日(冷蔵192日), Q: 351日(冷蔵321日)。たとえば、産卵後F日の場合、(F-30)日が冷蔵期間を示し、F孵化曲線が対応する25°Cでの発育再開後の孵化状況を示す。

態的に大きな変化は認められないが、炭水化物代謝は劇的に変動する⁽²⁾。休眠開始とともに卵内に蓄積されたグリコーゲンからソルビトールが合成される。ソルビトールに遅れてグリセロールも蓄積されるが、グリセロールの約30%はトリアシルグリセロールに由来する。これら糖アルコールは耐寒性分子として機能する。60日間の5°C処理により、ソルビトールはグリコーゲンへと変換される⁽²⁾。この時期は休眠覚醒の時期と一致する。遅れてグリセロールも減少する。このような炭水化物代謝の変化は、酵素活性の変動によって説明される。休眠開始期にはグリコーゲンホスホリラーゼ“α”活性が、また休眠覚醒期には5°C処理によりソルビトールデヒドロゲナーゼおよびグリセロールキナーゼ活性が出現すること

で、それぞれの変換は達成される(図2)。これら律速酵素がすべて最初の基質を触媒する酵素であることは注目すべきことである(図2)。このようなカイコの胚休眠をひき起こす分子が休眠ホルモン(diapause hormone: DH)である。

DHはなぜ食道下神経節中の7対の神経分泌細胞で合成されるか?⁽⁶⁾

DHは24個のアミノ酸残基から構成され、C末端がアミド化されている(図3)。このアミド化はホルモン活性に必須である。DHは母親の食道下神経節(subesophageal ganglion: SG)の7対の14個の神経分泌細胞(DH producing neurosecretory cells: DHPCs)でのみ

図2 ■ カイコ胚休眠と密接に関連する炭水化物代謝

休眠ホルモン (DH) は蛹期の発育卵巣に作用し、卵巣トレハラーゼ遺伝子発現を促進して、トレハラーゼ活性を上昇させ、血糖トレハロースをグルコースに変換して取り込み、高グリコーゲン量状態をつくり出す。休眠開始に伴いグリコーゲンホスホリラーゼ活性が上昇し、グリコーゲンを分解して、ソルビトールおよびグルセロールが蓄積する。60 日間の 5°C 処理によりソルビトールデヒドロゲナーゼおよびグルセロールキナーゼ活性が出現し、ソルビトールおよびグルセロールは減少する。ソルビトールデヒドロゲナーゼは転写のレベルで調節される。

図3 ■ カイコ胚休眠の誘導機構

血液中への DH の放出を脳が調節していると考えられる。2 化性のカイコでは、母親の胚期に受けた温度や日長条件が蛹期の DH の放出を決定する。DH は SG の 14 個の神経分泌細胞 (DHPCs) でのみ合成され、CA-CC 連合体から放出される。

合成され、アラタ体 (corpus allatum : CA)-側心体 (corpus cardiacum : CC) 連合体まで運ばれて、血液中に放出され、發育卵巣に作用し、卵母細胞に DH シグナルを伝達する。

まず1つ目の課題は、なぜ SG 内の 14 個の DHPCs のみ DH が発現するかを解明することである。

1. 遺伝子導入系としての核多角体病ウイルスの開発⁽⁶⁾

DH 遺伝子の 5'-上流域で DHPCs の特異的発現に関わるシス制御領域を決定するために、組換え AcNPV を作出し、レポーターアッセイを行なった。AcNPV とはキンウワバの一種 *Autographa californica* の核多角体病ウイルス (nucleopolyhedrovirus) のことで、これをカイコ蛹に接種した場合には、カイコ細胞の核内までウイルス・ヌクレオカプシドは到達するが、子孫を増やすことはないと考えられているので、AcNPV は核内への遺伝子の運び屋として有望である。DH 遺伝子の約 -7 kb の下流に緑色蛍光タンパク質 (EGFP) cDNA を、カイコ *actin A3* プロモーターの下流に赤色蛍光タンパク質 (DsRed) cDNA を挿入した組換え AcNPV を作出した (図 4-A)。蛹化直後に組換え AcNPV を接種し、数日後に SG を解剖し、観察すると、SG 内の 14 個の細胞に強い EGFP の発現が認められた (図 4-B)。その細胞群は DH 特異抗体で染色される細胞 (DHPCs, 図 4-C) と一致した (図 4-D)。DsRed の発現は、すべての細胞に認め

られたことから、この組換え AcNPV を用いて DHPCs での特異的な遺伝子発現を誘導するシス制御領域を解析することが可能と判断された。

2. DH 遺伝子発現のシス制御領域の決定

次に、DH 遺伝子の 5'-上流域 -7 kb を部分的に欠失させた組換え AcNPV をいくつか作出し、蛹に接種後、DHPCs での EGFP 発現を指標にシス制御領域を検討した。その結果、上流域 -5,421~-4,250 の間には DHPCs での DH 遺伝子の発現を増強する領域が存在し、-1,123~-1,104 の 20 塩基間には DH 遺伝子の DHPCs での発現のオン/オフを決定する領域が含まれることが明らかとなった (図 4-A, E~H)。

3. DH 遺伝子発現調節因子の同定

DHPCs での発現のオン/オフを決定する領域に関わるトランス因子を同定するためにゲルシフトアッセイを行なった。まず、-1,117~-1,088 までをコードする 30 塩基の 2 本鎖 DNA (DC1, 図 5-A) を標識プローブとして、蛹の脳-SG の抽出物と反応させたところ、DC1 に特異的に結合するシフトバンドが確認された (図 5-B; レーン 1)。MatInspector (<http://www.genomatix.de/>) によるトランス因子予測を行なったところ、DC1 を認識する因子の候補として哺乳類の脳下垂体の分化に重要な役割を果たす転写調節因子の Pituitary homeo-

(A) DH 遺伝子のプロモーター領域約 -7 kb の下流に EGFP cDNA をもつ発現カセットと全身での発現を誘導するアクチン A3 プロモーターの下流に DsRed cDNA を繋いだ発現カセットをもつ組換え AcNPV を作製した。EGFP の蛍光が観察される細胞 (B) は抗 DH 抗体を用いた免疫陽性細胞 (C) と完全に一致した (D)。-1,123~+1 までをもつ AcNPV では、DHPCs での EGFP の発現が観察されたが (E)、-1,104 から +1 までをもつ AcNPV では観察されなかった (G)。AcNPV 感染の陽性コントロールの DsRed の発現は両 AcNPV で観察された (F, H)。DH 遺伝子のプロモーター領域約 -7 kb 中には少なくとも遺伝子発現の増強に関わるシス制御領域 (-5,421~-4,250) (データ未掲載) と発現のオン/オフを決定する領域 (-1,123~-1,104 付近) が存在することがわかった (A)。

図 4 ■ DH 遺伝子のレポーター遺伝子解析

(B~D) DH 遺伝子上流域 (−1,117 ~ −1,088, DC1) の標識プローブと蛹の脳-SG 抽出物のゲルシフトアッセイ。矢印で示した部分に特異バンドが検出され (レーン 1), 非標識の DC1 添加によりバンドが消失した (レーン 2 と 3)。 (A) Pituitary homeobox 1 (Pitx1) の結合配列との比較。Ma~Mc では大文字アルファベットが置換塩基。 (C, D) DC1, Ma, Mb, Mc と競合させたゲルシフトアッセイと抗 Pitx1 抗体の添加によるスーパーシフトアッセイ。NRI: ウサギ IgG, aPx: ウサギ抗 Pitx1 抗体。 (E~H) DH 遺伝子を Ma~Mc に置換した AcNPV によるレポーター遺伝子解析

図 5 ■ ゲルシフトアッセイとレポーター遺伝子解析によるトランス因子の推定

box 1 (Pitx1) が見いだされた。4 塩基が DC1 の配列と一致しないものの 14 塩基にわたって配列が保存されていた (図 5-A; ボックス)。そこで、DC1 の塩基配列の一部に変異を入れた組換え AcNPV によるレポーターアッセイ (図 5-E~H) とゲルシフトアッセイ (図 5-C) を行ない、DC1 と Pitx1 との関連を検討した。

レポーターアッセイでは、Pitx1 認識配列のコア配列 (図 5-A; 赤字) をもつもの (Mb, Mc) は DC1 と同様に強い EGFP の発現が観察されたが (図 5-G, H), 完全に Pitx1 認識配列に一致させた場合 (Ma) では、DC1 と比べて蛍光強度は弱かった (図 5-F)。ゲルシフトアッセイでも同様に、Mb と Mc ではバンドが消失し (図 5-C; レーン 7, 8), Ma を競合に用いた場合、シフトバンドの強度に変化は認められなかった (図 5-C; レーン 6)。さらに、Pitx1 のホメオドメインを認識する抗体を反応液に加えるスーパーシフトアッセイを行なった。未免疫のウサギの IgG ではシフトバンドに変化は見られなかったが (図 5-D; レーン 10), 抗 Pitx1 抗体を添加するとバンドが消失した (図 5-D; レーン 11)。以上の結果から、DC1 に結合するタンパク質はカイコにおける Pitx1 相同体の可能性が高く、このタンパク質が DH 遺伝子の発現を決定していることが示唆された。さらにその結合配列は、コア配列は保存されているものの、その周辺の塩基は既知のものとは異なることがわかった。

4. カイコの *Pitx* 相同体 (*BmPitx*) のクローニングと発現抑制

そこで、カイコ (*Bombyx mori*) の *Pitx1* 相同体 (*BmPitx*) cDNA を相同性 PCR 法により単離した。 *BmPitx* は 387 個のアミノ酸残基をコードし、アミノ酸残基 146 ~ 205 まではホメオドメインであり、C 末端付近には Pitx タンパク質に特徴的な OAR ドメイン (otp, aristaless, *rax* に共通したドメイン) があった (図 6-A)。

次に、*BmPitx* が DH 遺伝子の発現にどのような影響を与えるかを調べるために、DH 遺伝子上流域 −7 kb の下流に *BmPitx* cDNA を逆方向反復配列に繋いだ組換え AcNPV を新たに作出した。この RNAi 誘導型の AcNPV の注射により、*BmPitx* の発現抑制を期待した (図 6-B)。実際に、このウイルスを休眠卵を産むように運命付けた 2 化性^{*1} の蛹に注射し、数日後に SG 中の DH 遺伝子の発現量を調べたところ、ノーザンブロットの結果では、無処理の SG と比べて DH 遺伝子の発現量が減少していた (データ未掲載)。また、この蛹が成虫となって産んだ卵は非休眠性となり、幼虫が孵化するものが現われた (図 6-D)。以上の結果から、RNAi 誘導型の AcNPV は DH 遺伝子の発現を抑制する働きがあり、非休眠卵産生に至るものと考えられた⁽⁶⁾。

*1 1 年間に二世代を過ごす系統のこと。図 3 のように、母親の胚期を 25°C、長日条件にすることにより次世代を休眠卵にすることができる。

(A) BmPitx1 の構造. (B~D) DH 遺伝子プロモーターの下流に *BmPitx1* cDNA を逆方向反復配列に繋いだ AcNPV (B) を休眠性の蛹に注射した. 無処理のカイコは茶色の休眠卵を産下したが (C), AcNPV を注射したカイコの一部は非休眠卵を産下した (D). 矢印は孵化幼虫を示す.

図 6 ■ BmPitx1 の発現抑制による非休眠卵の誘導

哺乳類の Pitx1 は他の転写調節因子をパートナーに従えて遺伝子発現を誘導する. BmPitx1 は様々な組織に存在するので, カイコの DHPCs の最終分化過程においても BmPitx1 と結合する特異的な転写因子が存在し, DH 遺伝子の発現を誘導していると考えられる. DH 遺伝子が SG の 14 個の DHPCs でのみ発現する現象を説明する特異的なパートナー因子の単離が次の課題である.

DH 受容体⁽⁷⁾

2 つ目の課題は, 卵母細胞による DH シグナルの受容機構の解明である. DH が SG の 7 対の DHPCs で特異的に合成される仕組みはすでに述べた. まず, DH mRNA から前駆体タンパク質が合成される. これがプロテアーゼによって切り出され, C 末端にアミド化が生じ, DH, PBAN (フェロモン生合成活性化神経ペプチド, pheromone biosynthesis activating neuropeptide) ならびに 3 種類の SGNP (食道下神経節神経ペプチド, subesophageal ganglion neuropeptide) の計 5 種類の神経ペプチドが生成される⁽⁸⁾ (配列については図 7 の説明参照). 興味深いことは, これらすべてが C 末端側に FXPR/KL アミドという配列をもち (C 末端の配列から今日これらを FXPRL アミド・ペプチドと呼ぶ), それぞれの有効濃度は異なるものの休眠卵産生活性およびフェロモン生合成活性化の能力を有することである⁽⁸⁾.

休眠卵産生能力としては当然 DH が最も有効であるが, 活性のためには C 末端側の最小構造 PRL アミドが必須であることから, 卵母細胞の受容体はこの部分を認識すると考えられる. 血流に放出された DH のシグナルがどのように卵母細胞に受容されるかを理解するためには, 受容体を単離同定することが急務であった.

1. ヒト neuromedin U25 受容体との類似性を利用した DH 受容体 cDNA の単離

上で述べたように, DH は FXPRL アミド・ペプチド・ファミリーの一員である. キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) の FXPRL アミド・ペプチドは哺乳類の neuromedin U に類似するといわれている. そこで改めて検索すると, DH がヒト neuromedin U25 にきわめてよく似ていることが判明した. リガンドどうしの類似性から, 受容体どうしも構造的に類似していると考えられた. そこで, 哺乳類の neuromedin U 受容体と *D. melanogaster* の FXPRL アミド・ペプチド受容体候補を比較し, 共通して保存されているアミノ酸配列部分をいくつか見だし, 対応する PCR のプライマーを作製した. 鋳型としてカイコ休眠卵産生蛹の发育卵巢から調製した cDNA を用い, PCR 増幅を繰り返した. 何度かの試みの後で, 目的とする PCR 産物を得ることができ, 続けて全長鎖の cDNA を単離した. 推定されるアミノ酸配列から, 7 回膜貫通型/G タンパク質共役型受容体であり, neuromedin U 受容体および *D. melanogaster* の FXPRL アミド・ペプチド受容体と類似することが明らかとなった.

2. アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 卵母細胞発現系による DH 受容体の解析

単離した G タンパク質共役型受容体のリガンド特異性を解析するために, *Xenopus* 卵母細胞発現系を用いた. この受容体の cRNA を卵母細胞に注射し, 細胞表面に発現した受容体の機能を, リガンド添加後に細胞内に生じる Ca^{2+} 依存性 Cl^- 電流値をモニターすることで解析した. 100 nM の DH を培養液中に添加した場合には明らかに Cl^- 電流値が増加したが, C 末端側がアミド化されていない DH-COOH を 10 μM まで添加しても Cl^- 電流値は増加しなかった. 当然, 受容体の cRNA を注射

図7 ■ *Xenopus* 卵母細胞発現系における DH 受容体とリガンドの相関解析

DH 受容体の cRNA を *Xenopus* 卵母細胞に注射し、各リガンド添加後の Ca^{2+} 依存性 Cl^- 電流値を測定した。αSGNP: IIFTPKLamide, βSGNP: SVAKPQTHESLEFIPRLamide, γSGNP: TMSFSPRLamide, PBAN: RLSEDMPATPADQEMYQPDPEEMESRTRYFSPRLamide, DH: TDMKDESDRGAHSERGA LWFGPRLamide

図8 ■ DH 受容体の免疫染色

カイコ発育卵巣の凍結切片を DH 受容体特異抗体で染色。(A) 抗体染色。(B) 透過微分干渉像。Op: ooplasm (卵母細胞質), Fl: follicle cells (濾胞細胞)。

していない卵母細胞では DH 添加後に Cl^- 電流値の増加は認められない⁽⁷⁾。

次に、リガンドの濃度と Cl^- 電流値増加との関係を調べた(図7)。DH では 10 nM から電流値の増加が認められ、500 nM で電流値が飽和に達した。電流値の最大効果の 50% (EC_{50}) をもたらす DH 濃度を求めると、70 nM であった。同様に EC_{50} を求めると、PBAN で 1,500 nM, γSGNP で 1,700 nM, βSGNP で 3,000 nM, αSGNP で $>10 \mu\text{M}$ であった。これらの効果は、非休眠卵産生蛹に注射して休眠卵を誘導する濃度と相関するものであった。これらの結果から、単離した受容体は DH 受容体と判断した。

3. DH 受容体の発現時期と場所

カイコの蛹期から成虫期にかけて卵巣発育に伴う DH 受容体 mRNA 量を測定したところ、変動パターンは蛹～成虫発育の中期でピークを描く釣鐘型を示した。非休眠卵産生蛹に DH を注射した場合に休眠卵産生を誘導する効果の変動パターンとよく一致していた。

また、DH 受容体の C 末端側を特異認識する抗体を用いて免疫組織化学的観察を行なうと、卵母細胞膜表面が濃染された(図8)。

この受容体を介して DH シグナルがどのように卵内に伝達されるかを明らかにすることが次の課題である。

休眠開始期に発現するカイコ酸化抵抗性遺伝子⁽⁴⁾

3 つ目の課題は、休眠開始および維持に関わる遺伝子を明らかにすることである。すでに述べたように、卵母細胞が DH シグナルを受容する時期は蛹～成虫発育の中期であるが、休眠は産卵・受精後の囊胚期に開始される。この間を繋ぐ分子を明らかにすることが課題である。このために、少なくとも休眠開始期に特異的に発現する遺伝子を単離することが急務である。

1. SABRE (selective amplification via biotin- and restriction-mediated enrichment) 法⁽⁹⁾

休眠性卵および非休眠性卵において、胚発生に伴いそれぞれ異なって発現する遺伝子を単離するためには、微量な mRNA を検出できる非常に感度のよい cDNA subtraction 法を用いることが肝要である。そこで、SABRE 法⁽⁹⁾ を応用改良することとした。すなわち、抽出した RNA から cDNA を作製し、PCR により DNA を増幅させる。この dsDNA を制限酵素処理する。次に、断片化された DNA を PCR によりさらに増幅する際に、ビオチン結合 BamHI サイトをもつ DNA とビオチン結合 BamHI サイトを含まない DNA を増幅させる。ビオチン結合性と BamHI 消化性を利用し、homohybridのみを選択的に回収する。この過程を繰り返し、発現に差異のある cDNA 断片のみを増幅する方法である。

実際には、同じ卵齢の休眠性および非休眠性卵から RNA を抽出し、SABRE 法を行なった。PCR は 6～8 回繰り返したところ、差異の認められるいくつかの PCR 産物断片を見いだした。各塩基配列を決定し、簡易 RT-PCR 法で確認したところ、Bm05 と名付けた遺伝子は差異を確認することができた。

図9 ■ カイコの胚発生に伴う *BmOXR1* mRNA レベルの変動

定量的リアルタイム PCR によって mRNA を定量。

2. ヒト酸化抵抗性遺伝子1 (*OXR1*) のカイコ相合体 (*BmOXR1*)

上記の *Bm05* の全 cDNA の塩基配列を決定し、推定されるアミノ酸配列を比較したところ、ヒト酸化抵抗性遺伝子 (*oxidation resistance gene 1, OXR1*)、キイロショウジョウバエ *L82* およびマウスの *C7* 遺伝子の産物と類似することが判明したので、この cDNA を *BmOXR1* と命名した。 *BmOXR1* は核移行シグナルをもつ。

定量的リアルタイム PCR を行ない、 *BmOXR1* mRNA 量の変動を調査すると、非休眠性卵では産卵後 1.5 日にほとんど検出できないレベルまで減少したが、休眠性卵では産卵後 1 日のレベルを有意に維持し続けた (図9)。 また、特異抗体を用いたウエスタンブロットでタンパク質発現を調べると、mRNA 発現パターンと類似した発現パターンを示したことから、休眠開始・維持に関わる遺伝子と考えられた。

3. キイロショウジョウバエでの *BmOXR1* の過剰発現

カイコ卵での機能解析は困難と考えられたので、 *D. melanogaster* に過剰発現させ、機能解析を進めることとした。 *D. melanogaster* の形質転換体を利用した異所的発現系として Gal4-UAS を用いた。プロモーターとして *hsp70* または *actin* を用いた。

餌に過酸化水素水を加えた酸素ストレス下での成虫の寿命を調査したところ、明らかに *BmOXR1* 発現成虫の寿命が長くなり、 *BmOXR1* に酸化抵抗性活性が認められることが判明した (図10)。さらに、通常の餌での成虫

図10 ■ *BmOXR1* を強制発現させたキイロショウジョウバエ成虫の酸化抵抗性

餌に過酸化水素水を添加後、雌成虫の生存率を調査。対照区として *Cyo/actin-Gal4* (黒線) を、実験区として *UAS-BmOXR1/actin-Gal4* (コバルト色、薄コバルト色線) を用いた。

の寿命を比較したところ、 *BmOXR1* 発現成虫では生存率 50% において明らかに寿命の延長が認められた。 *D. melanogaster* 唾腺の細胞観察では *BmOXR1* は核内にも発現が認められた。どのような機構で酸化抵抗性が生じるかは今後の課題である。

これらの結果は、カイコの休眠開始に伴い卵内に酸化抵抗性が賦与され、休眠維持・省エネルギー体制に貢献していることを示すものと考えられる。

謝辞：DH の DHPCs での合成調節については梶浦善太准教授・中垣雅雄教授 (信州大学繊維学部)、DH 受容体については今井邦雄教授 (三重大大学生物資源学部)、渡邊賢氏・片岡宏誌教授 (東京大学大学院新領域創成科学研究科) との共同研究で行なわれた。謹んで感謝申し上げます。

文献

- 山下興亜, 新美輝幸: 遺伝, **54**, 65 (2000).
- 柳沼利信, 新美輝幸, 森部頼子, 森田昭広: 化学と生物, **39**, 592 (2001).
- 田中誠二, 檜垣守男, 小滝豊美編: “休眠の昆虫学”, 東海大学出版会, 2004.
- 柳沼利信, 新美輝幸, 塩見邦博, 鈴木幸一, 今井邦雄: ‘III. 昆虫の個体維持機構の解明とその開発’, 「むしの才覚を探る」 (未来開拓学術研究推進事業「昆虫特異機能と開発」), 2005, p. 130.
- T. Yaginuma, M. Kobayashi & O. Yamashita: *J. Comp. Physiol. B*, **160**, 277 (1990).
- K. Shiomi, Y. Fujiwara, Y. Yasukochi, Z. Kajiura, M. Nakagaki & T. Yaginuma: *Mol. Cell. Neurosci.*, **34**, 209 (2007).
- T. Homma, K. Watanabe, S. Tsurumaru, H. Kataoka, K. Imai, T. Niimi, O. Yamashita & T. Yaginuma: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **344**, 386 (2006).
- 柳沼利信, 新美輝幸: 蚕糸・昆虫バイオテクノロジー, **76**, 143 (2007).
- D. J. Larvery, L. Lopez-Molia, F. Fleury-Olela & U. Schibler: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 6831 (1997).