

平成15年度農学研究院教育研究特別経費成果報告書

研究課題名 カイコ変異体のプロテオーム解析

角田佳充<sup>1\*</sup>、日下部宜宏<sup>2</sup>、山本幸治<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>生物機能科学部門、<sup>2</sup>生物資源開発管理科学部門、  
<sup>3</sup>遺伝子資源工学部門、\*研究代表者)

目的

カイコは日本のみで体系的系統保存が行われている昆虫であり、長い研究の歴史がある。九大農学部におけるカイコ研究の歴史も古く、日本のバイオリソースセンターとして450もの系統が保存されており、本学部のバイオリソースの代表的なものとなっている。その中には、カイコに特有な生命機能（生体防御、寿命、行動、発生、分化等）に関与する突然変異体が存在することから、系統を絞って限定的に変異の原因を突き止めることで、今後網羅的に変異体解析を進める為の基礎となることが期待できる。本研究において、正常（白色）皮膚を有するp50系統ならびに幼虫皮膚が透明になるoc突然変異系統（油蚕）に着目し、それらの皮膚組織に含まれるタンパク質を網羅的に解析することで皮膚の突然変異に関わるタンパク質の同定を試みる。



p50系統



oc突然変異系統（油蚕）

## 実験内容

5 齢 3 日目の p50 系統ならびに *oc* 突然変異系統の幼虫皮膚組織よりタンパク質粗抽出液を調整し、二次元電気泳動（一次元：等電点電気泳動、二次元：SDS-PAGE）に供与した。得られた特異なスポットをゲルより切り出し、トリプシンを用いてゲル中で切断した。その分解パターンを MALDI-TOF/MS 装置にて解析した。Swiss-prot ならびにカイコ EST データベースに登録されているデータを用いてペプチドマスフィンガープリント法により解析した。

### 二次元電気泳動



p50 系統



*oc* 突然変異系統

## 研究成果

両者の二次元電気泳動パターンを比較したところ、p50 系統皮膚から抽出した粗抽出液中において存在し、*oc* 突然変異系統由来の粗抽出液中には見られないスポットが分子量 18kDa ならびに pI5.3 付近に観察された。そのスポットをペプチドマスフィンガープリント法により解析した結果、カイコ EST データベース中に登録されているクローン wdS30624 の部分塩基配列と coverage 73.2% の値で一致した。Blast search の結果、このクローンの部分配列は、YEAST 由来 BETA-MANNOSYLTRANSFERASE の塩基配列と 36% の相同性を有することがわかった。この EST クローンの塩基配を決定したところ、約 1.5 kb の cDNA であり、5'-末端を一部欠失していることが解った。現在、完全長 cDNA 配列の決定と RNAi 法を用いた機能解析を進行中である。