

昆虫体色を司る色素合成経路の研究と遺伝子組換え体判別への応用

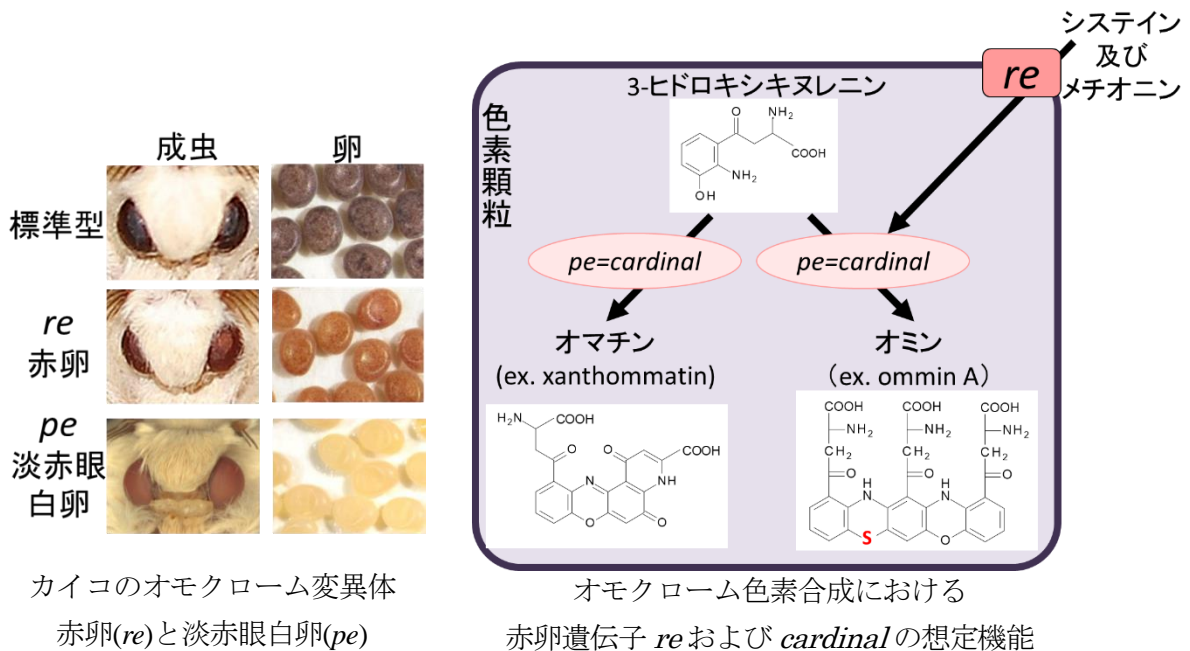
二橋 美瑞子 (茨城大学理学部理学科)
mizuko.osanai-futahashi.sci@vc.ibaraki.ac.jp

昆虫の体色には著しい多様性が見られ、擬態や性選択、体温調節などの多様な適応戦略に関わっている。しかし、体色を担う色素の正体やその合成を担う分子機構については未だに不明な点が多い。本稿では、演者らが取り組んできた、昆虫の主要な色素であるオモクローム色素合成経路の研究成果および、色素合成経路の知見を活かした肉眼で判別可能な遺伝子組換えマーカーの開発について紹介する。

オモクローム色素合成に関わる新規遺伝子の発見

オモクローム色素は、昆虫の三大色素の一つであり、赤、橙、黄、紫などの様々な種類の色素が含まれている。昆虫を含む節足動物の複眼に普遍的に存在するのに加えて、タテハチョウやアカトンボなど一部の種では皮膚や翅の着色にも関与している。カイコの複眼には、オモクローム色素の混合物が存在するが、卵の漿膜（しょうまく）にも同じ組成の色素が含まれ、卵色を担っている。このため、オモクローム色素の合成異常は、カイコでは卵色・眼色変異体として現れる（キイロショウジョウバエでは眼色のみ）。

オモクローム色素はトリプトファンに由来し、中間前駆体である 3-ヒドロキシキヌレニン (3-hydroxykynurenine) が色素顆粒内に取り込まれた後に、酸化縮合によって生じる。キイロショウジョウバエの眼色変異体を用いた研究から、オモクローム色素合成の前半 (3-ヒドロキシキヌレニンが色素顆粒に取り込まれるまで) に関わる遺伝子については、明らかにされてきたが、それ以降の最終的なオモクローム色素合成に関わる遺伝子群はブラックボックスとなっていた。



演者らは、このブラックボックスを解明するため、既知のキイロショウジョウバエの変異体とは対応づけができないカイコの卵色・眼色変異体に着目した。その一つが赤卵変異体 (*red egg, re*) である。野生型のカイコの卵が紫色で、複眼は黒であるのに対し、赤卵変異体の卵は赤、複眼は暗赤色である。赤卵変異体では、生化学的な研究から、オミンという赤紫色のオモクローム色素が合成されないと報告されていた¹⁾。連鎖解析の結果、赤卵変異体の責任領域は、5番染色体の200 kb に絞り込まれたので、この内部に存在する遺伝子について、卵が着色する時期での発現解析および RNAi による候補遺伝子の機能解析を行った。その結果、これまで色素合成との関連性が知られていなかった、Major facilitator superfamily (MFS) に属する新規のトランスポーター遺伝子 (*Bm-re*) が原因遺伝子であることが明らかになった²⁾。

この遺伝子のオーソログは、大部分の昆虫に存在しており、複眼の黒い甲虫コクヌストモドキでも RNAi を行うと、複眼が薄い褐色へと変化した。この結果から、幅広い昆虫でオミン色素の合成に必要であると考えられたが、興味深いことに、キイロショウジョウバエなどの一部のハエ目昆虫では、この遺伝子が失われていることが明らかになった。キイロショウジョウバエの複眼は赤色で、含まれるオモクローム色素は、キサントマチンのみと考えられている。赤い複眼を持つショウジョウバエが、そもそも赤卵遺伝子を持たないのは進化的に興味深い発見であった。

演者らは、さらに淡赤眼白卵変異体 (*pink eyed white egg, pe*) の解析から、ヘムペルオキシダーゼ様遺伝子 *cardinal* が、3 ヒドロキシキヌレニンからカイコの卵に含まれる複数種類のオモクローム色素の合成に必要であることを突き止めた³⁾。興味深いことに、*cardinal* 遺伝子は構造の異なる複数のオモクローム色素の合成に関わっており、昆虫の多様なオモクローム色素の合成におけるマスター酵素であることが考えられた。

優性遺伝する肉眼で判別可能な遺伝子組換えマーカーの開発

現在、*piggyBac* トランスポゾンベクターの普及により、複数の昆虫種で遺伝子組換え体の作製が可能となっている。一般に、キイロショウジョウバエ以外の昆虫では、遺伝子組換え体の判別を、複眼で蛍光タンパク質遺伝子をマーカーとして発現させることにより行っている。この方法では高価な蛍光顕微鏡を必要とする上、複眼が黒い野生型では蛍光が観察しづらいという短所がある。加えて、カイコでは、蛍光スクリーニングが可能な時期は胚発生では2日間のみという制約が存在していた。カイコは絹タンパク質を大量に生産する能力を持つことから、遺伝子組換え技術を利用した有用物質生産の面からも着目されている。このため、蛍光遺伝子マーカーと代替できる肉眼で判別可能な体色マーカーが切望されてきた。

演者らは、色素合成の知見を活かして、肉眼で判別可能な体色マーカーを開発できないかと考えた。前述したオモクローム合成に関わる *Bm-re* 遺伝子を遺伝子組換えにより赤卵変異体に導入したところ、正常な紫色の着色を誘導することに成功した⁴⁾。この卵色マーカーでは蛍光顕微鏡を使わずに、卵の色で、簡単に遺伝子組換え体を見分けることが可能である。しかし、この手法は、赤卵変異体を使用するという制約がある。そこで次に、幅広い系統で利用できる遺伝的に優性の遺伝子組み換えマーカーを開発できないものかと考えた。

オモクロームと並んで昆虫に普遍的に存在する色素にメラニンがある。メラニン合成には複数の遺伝子が関与するため、異所的に黒色の着色を生じさせることは容易ではないと考えられたが、逆転の発想で、カイコの幼虫のクチクラに存在している黒・茶系のメラニン色素を別の

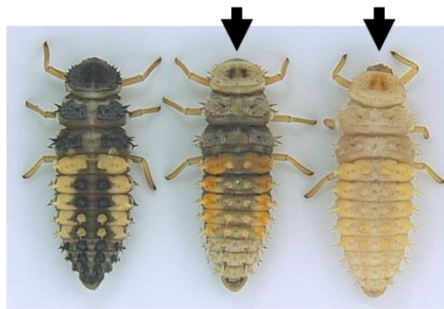
色素に変化させることはできないかと考えた。昆虫のメラニン色素の主要な前駆体であるドーパミンは、*ebony* 遺伝子によって赤・黄色のメラニン系色素の前駆体である *N*-β-アラニルドーパミン (*N*-beta-alanyldopamine, NBAD)、*aaNAT* 遺伝子によって透明・麦わら色のクチクラ合成に関わる *N*-アセチルドーパミン (*N*-acetyldopamine, NADA) に変換される⁵⁾。演者らが、*ebony* 遺伝子と *aaNAT* 遺伝子をカイコで強制発現させた結果、*aaNAT* 遺伝子を強制発現させたカイコでは、1 齢幼虫から全身が淡褐色に、*ebony* 遺伝子を強制発現させたカイコでは、2 齢幼虫から斑紋が黄褐色へと変化した^{6,7)}。さらに、*aaNAT* 遺伝子の強制発現によってテントウムシの幼虫やキイロショウジョウバエの成虫でも、体色を薄くさせることに成功したことから、カイコだけでなく、幅広い昆虫で遺伝子組換えマーカーとして利用可能であることが示唆された。



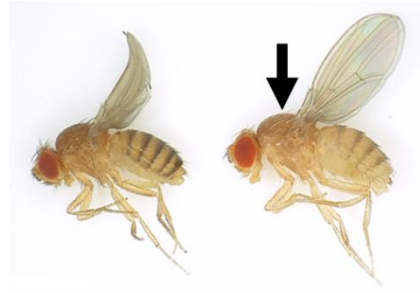
カイコ(1齢幼虫)



カイコ黒縞系統(5齢幼虫)



テントウムシの幼虫



キイロショウジョウバエ

Bm-aaNAT 遺伝子を強制発現させた昆虫 (矢印、矢頭) の体色変化

おわりに

昆虫の魅力の一つは、その形態の多様性にある。近年、昆虫の斑紋形成のメカニズムについての新知見の報告が相次いでいるが、その一方で色素そのものの多様性を産み出すメカニズムは未解明な点が多い。大部分の多彩な昆虫では、色素の同定すら行われていないのが現状である。多様な体色を担う色素の研究は、基礎的な面から応用面まで、まだまだ発展性のある分野あり、近年技術革新の目覚ましい分子生物学的手法に、生化学的解析を組み合わせたアプローチを用いて取り組んでいきたい。

謝辞

本研究は、国立研究開発法人農業生物資源研究所遺伝子組換えカイコ研究開発ユニット（生物研；現・国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構）で実施したものです。本研究において、多大なご指導およびご支援を頂きました瀬筒秀樹ユニット長をはじめ、ユニットの皆様、技術支援室の皆様に深く感謝いたします。また、研究にご協力いただいた、新美輝幸教授と研究室の皆様（名古屋大・基生研）、矢嶋俊介教授と研究室の皆様（東京農大）、伴野豊准教授（九州大学）、篠田徹郎博士（生物研）、粥川琢巳博士（生物研）、山本公子博士（生物研）、高須陽子博士（生物研）、塩月孝博博士（生物研）、冨田秀一郎博士（生物研）、畠山正統博士（生物研）、石橋純博士（生物研）、二橋亮博士（産総研）に深く御礼申し上げます。最後に、本賞にご推薦いただいた日本蚕糸学会の皆様にも深く感謝いたします。

引用文献

- 1) Kawase, S., and Aruga, H.: The Japanese Journal of Genetics 29: 114-121 (1954)
- 2) Osanai-Futahashi M., Tatematsu K., Yamamoto K., Narukawa J., Uchino K., Kayukawa T., Shinoda T., Banno Y., Tamura T., and Sezutsu H.: Journal of Biological Chemistry 287: 17706-14 (2012)
- 3) Osanai-Futahashi M., Tatematsu K., Futahashi R., Narukawa J., Takasu Y., Kayukawa T., Shinoda T., Ishige T., Yajima S., Tamura T., Yamamoto K., and Sezutsu H.: Heredity 116:135-145. (2016)
- 4) 瀬筒秀樹・立松謙一郎・二橋美瑞子・山本公子：カイコの卵および眼の着色に関する遺伝子およびその利用、特許第 5780631 号 (2015)
- 5) 二橋美瑞子・二橋亮：昆虫の体色・模様の形成に関わる分子機構、色素細胞 第 2 版、慶應義塾大学出版会、172-191 (2015)
- 6) Osanai-Futahashi M., Ohde T., Hirata J., Uchino K., Futahashi R., Tamura T., Niimi T., and Sezutsu H.: Nature Communications 3: 1295 (2012)
- 7) 瀬筒秀樹・内野恵郎・二橋美瑞子：アリールアルキルアミン-N-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子とその利用、特許第 5794620 号 (2015)