

昆虫の共生のための細胞がどのようにできるかを解明

— 形態形成遺伝子の転用による細胞の発生と進化 —

平成 27 年 7 月 14 日

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

国立大学法人 北海道大学

■ ポイント ■

- ・ 昆虫において共生細菌を保有する菌細胞の発生過程および形成機構を解明
- ・ 胚発生の過程で、形態形成遺伝子が新しい発現部位を獲得することで菌細胞が形成
- ・ 細胞の分化機構、共生の分子基盤、細菌感染の制御などに関する新知見

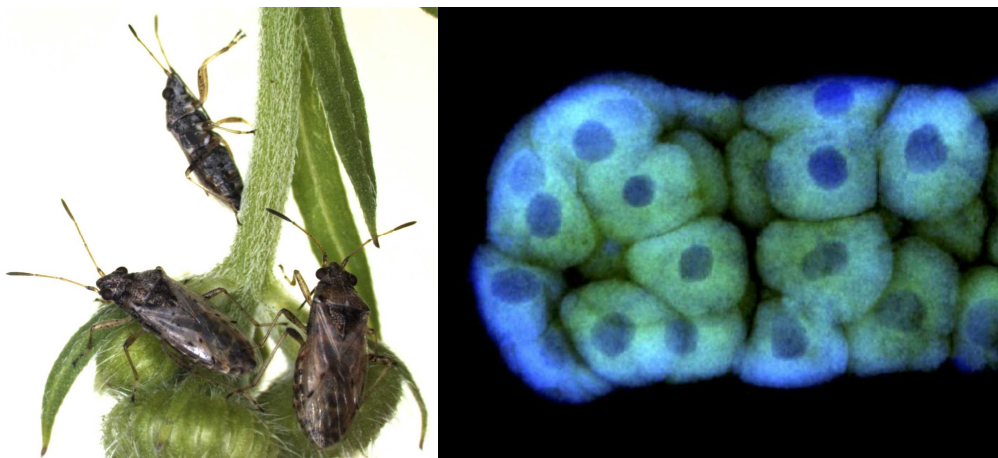
■ 概 要 ■

国立研究開発法人 産業技術総合研究所【理事長 中鉢 良治】（以下「産総研」という）生物プロセス研究部門【研究部門長 田村 具博】生物共生進化機構研究グループ 深津 武馬 首席研究員（兼）研究グループ長、松浦 優 元 産総研技術研修員（現 北海道大学 日本学術振興会特別研究員）、環境生物機能開発研究グループ 菊池 義智 主任研究員は、国立大学法人 北海道大学【総長 山口 佳三】大学院地球環境科学研究院 三浦 徹 准教授と共同で、ヒメナガカメムシという昆虫において共生細菌を保有する菌細胞の発生過程と形成機構を解析した。その結果、いくつかのホメオティック遺伝子という形態形成に関わる遺伝子の中で、特にウルトラバイソラックス遺伝子が胚発生の過程で新しい発現部位を獲得することにより、菌細胞ができることを明らかにした。

菌細胞という微生物との共生に特殊化した細胞の由来は、長年にわたり進化発生学における謎であったが、今回の成果は、その形成に関わる重要な分子機構を解明したものであり、細胞が分化する機構、共生の分子レベルでの仕組み、細菌感染からの防御などに貢献が期待される。

なお、この成果は 2015 年 7 月 14 日午前 3 時（日本時間）に米国の学術誌「*Proceedings of the National Academy of Sciences USA*」（米国科学アカデミー紀要）にオンライン掲載される。

_____ は別紙【用語の説明】参照



ヒメナガカメムシ（左）と菌細胞が多数集合した共生器官の菌細胞塊（右）

緑色は共生細菌の局在を、青色は DNA を示す。

■ 研究の社会的背景 ■

既知の生物種の過半数は昆虫類であり、生物多様性の中核を担う動物群として、その高度で多彩な生物機能の開発や利用が期待されている。なかでも昆虫類に広く見られる性質として、微生物を体内や細胞内に恒常的に保有し、共生関係を構築する能力がある。農業害虫や衛生害虫を含む多くの昆虫類が細菌と細胞内共生関係にあり、必須栄養素の供給など生存に必要な機能を獲得している。これら細胞内共生細菌の多くは、宿主である昆虫の体内で、共生のために特殊化した細胞である「菌細胞」に局在して保持され、重要な生物機能を果たし、母親の体内で次世代の卵や初期胚に伝達される。

このように菌細胞は、昆虫と細菌の高度な共生関係の基盤となる重要な細胞であり、害虫防除などの観点からも関心がもたれるが、その由来や起源は長年の謎であり、形成機構も不明であった。

■ 研究の経緯 ■

産総研では、昆虫の体内に共生する細菌がもつ重要な生物機能の解明（2004年3月26日、2007年6月30日、2012年4月24日、2014年9月25日 産総研プレス発表）、昆虫と共生細菌の高度な生物間相互作用の理解（2002年10月29日、2013年6月11日、2013年6月21日、2014年7月1日 産総研プレス発表）などに取り組んできた。

特に昆虫類の菌細胞内の共生細菌については、「トコジラミに必須栄養素を供給する細胞内共生細菌ボルバキアの発見」（2009年12月22日 産総研プレス発表）、「生存に必須な共生細菌が子孫へ伝達される瞬間をとらえた！」（2012年5月28日 産総研主な研究成果）などの研究成果がある。

今回は、従来ほとんど研究されていなかったが、菌細胞をもち、RNA 干渉法によって遺伝子機能を解析できるヒメナガカメムシという昆虫について、菌細胞形成の謎の解明に取り組んだ。

なお、本研究成果の大部分は、筑波大学大学院生（兼 産総研技術研修員、日本学術振興会特別研究員）であった松浦 優が深津 武馬の指導のもとで博士課程の研究課題として遂行したものである。また、本研究成果の一部は、文部科学省 科学研究費補助金の支援を受けておこなった。

■ 研究の内容 ■

カメムシ類は一般に腸内に共生細菌をもつが、ヒメナガカメムシは例外的に菌細胞内にシュナイデリア (*Schneideria*) という共生細菌をもつことを見出していた。ヒメナガカメムシ体内での共生細菌の分布を調べたところ、産卵直後には卵前端に集積していたが（図 1A）、成熟胚ですすでに腹部両側にある一対の菌細胞塊に局在しており（図 1B）、幼虫から成虫に成長しても同様の局在であった（図 1C、D）。

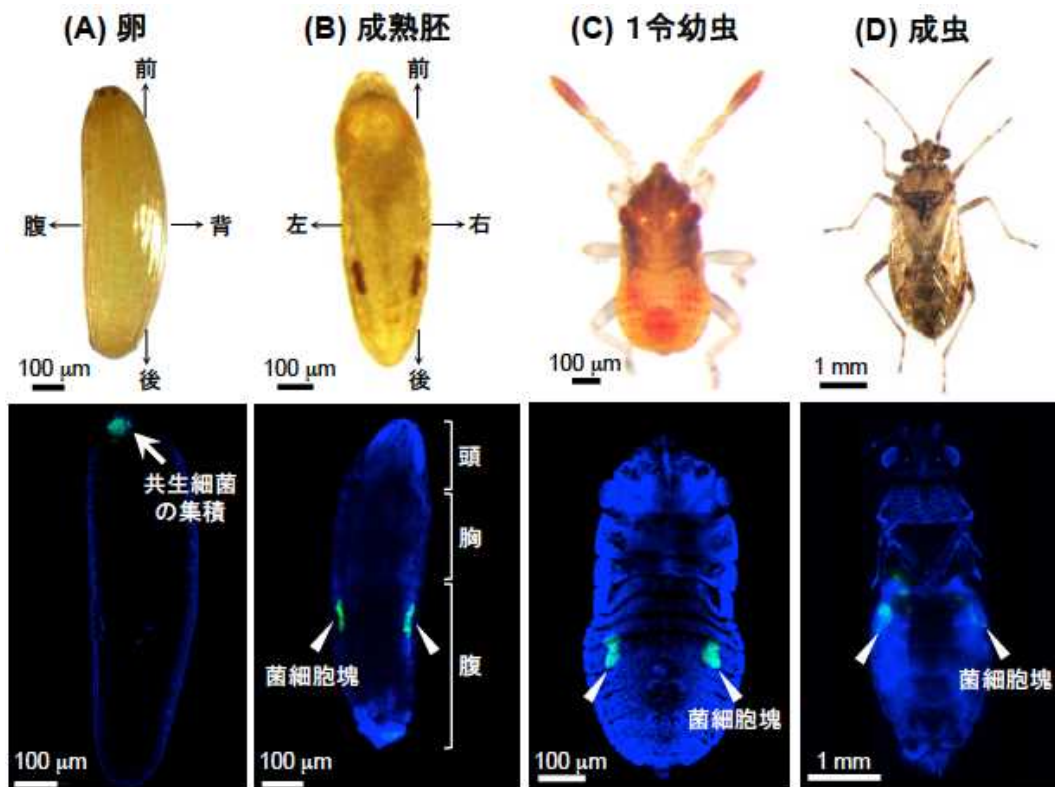


図1 ヒメナガカメムシ体内の共生細菌と菌細胞塊の分布

(A) 卵。(B) 成熟胚。(C) 1令幼虫。(D) 成虫。上段は明視野像、下段は共焦点蛍光顕微鏡像。緑色は共生細菌、青色は核 DNA を示す。

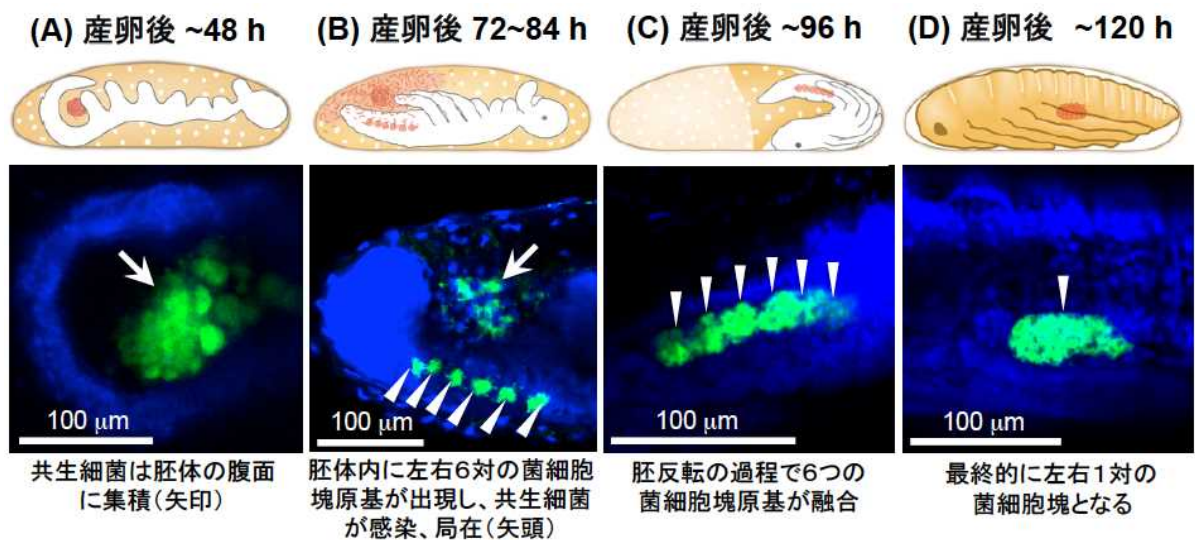


図2 ヒメナガカメムシの胚発生過程での共生細菌と菌細胞塊の分布

(A) 産卵後～48 時間。(B) 産卵後 72～84 時間。(C) 産卵後～96 時間。(D) 産卵後～120 時間。上段は胚形態の模式図。赤色で共生細菌の分布を図示する。下段は共焦点蛍光顕微鏡像。緑色は共生細菌、青色は核 DNA を示す。

そこで胚発生過程での共生細菌の分布をより詳細に調べたところ、産卵後 48 時間頃に共生細菌が胚体外の腹面に集積し (図 2A)、産卵後 72～84 時間後には胚体内に左右 6 対の菌細胞塊原基

が出現し、共生細菌が移動、感染、局在化した（図 2B）。その後、産卵後 96 時間頃には左右の 6 つの菌細胞塊原基がそれぞれ融合し（図 2C）、最終的に左右 1 対の菌細胞塊が形成された（図 2D）。

これまでにアブラムシの菌細胞にホメオティック遺伝子産物が局在するという報告があったが、アブラムシでは遺伝子の機能解析が困難なため、その後の研究は進んでいなかった。一方、ヒメナガカメムシでは RNA 干渉法によって遺伝子機能を解析できる。そこで、胚発生過程での各種ホメオティック遺伝子の発現を同法により抑制してみたところ、ウルトラバイソラックス遺伝子の発現を抑制すると菌細胞が形成されなくなり、行き場を失った共生細菌が散在することが観察された（図 3A、B）。さらに *in situ* ハイブリダイゼーション法によりヒメナガカメムシ正常胚のウルトラバイソラックス遺伝子の発現局在を調べたところ、左右 6 対の菌細胞塊原基に完全に一致した（図 3C）。ウルトラバイソラックス遺伝子はショウジョウバエでは後胸と第 1 腹節の形態形成に関与するが、ヒメナガカメムシではウルトラバイソラックス遺伝子の新たな発現パターンが獲得され、胚発生時に菌細胞形成に働いていると考えられる。

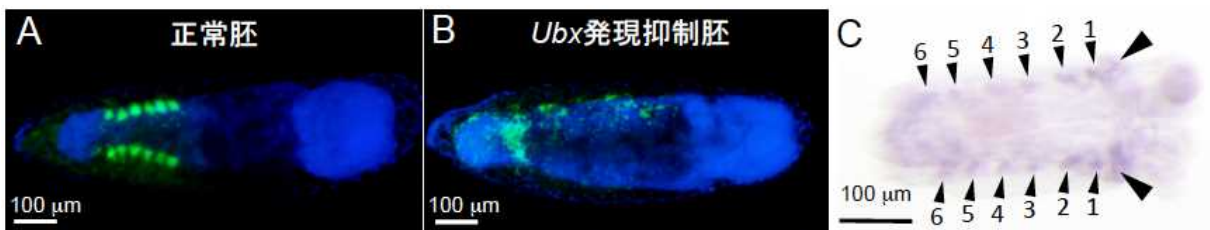


図 3 ヒメナガカメムシ胚でのウルトラバイソラックス遺伝子の発現と抑制の影響

(A) 正常胚。腹部に 6 対の菌細胞塊原基が形成され、共生細菌が局在している。(B) ウルトラバイソラックス遺伝子の発現を抑制した胚。菌細胞塊原基が形成されず、共生細菌が散在している。(A)–(B) で緑色は共生細菌、青色は核 DNA を示す。(C) 正常胚でのウルトラバイソラックス遺伝子の発現局在。菌細胞塊原基と一致した 6 対の発現領域（小矢頭）が検出された。胚前方の発現（大矢頭）は、ウルトラバイソラックス遺伝子本来の発現領域である後胸と腹節前端での発現。(A)–(C) はいずれも産卵後約 84 時間の胚。

その他のホメオティック遺伝子にも菌細胞形成に影響を与えるものがあった。アンテナペディア遺伝子はショウジョウバエでは脚形成を制御するが、RNA 干渉法によってヒメナガカメムシ胚での発現を抑制すると、菌細胞塊の位置が胚の前方に移動し、中には脚の中に菌細胞を形成する個体も出現した。アブドミナル A 遺伝子はショウジョウバエでは第 2～8 腹節の形成を制御するが、ヒメナガカメムシ胚での発現を抑制すると、菌細胞塊の融合が不完全になり、いくつかの細胞塊に分断された。しかしこれらの遺伝子の発現パターンは左右 6 対の菌細胞原基とは一致しなかった。

結論として、ショウジョウバエやその他の動物で、発生や形態形成にきわめて重要な役割を果たすホメオティック遺伝子群が、ヒメナガカメムシではそれら本来の機能に加えて、菌細胞の形成にも転用されていることが明らかになった。本研究により、進化発生学における長年の謎であった、昆虫と細菌の高度な共生関係を支える菌細胞の形成機構の理解が大きく進展した。

■ 今後の予定 ■

今後は、特にヒメナガカメムシにおけるウルトラバイソラックス遺伝子の発現制御機構について研究を進め、どのような仕組みでヒメナガカメムシ胚に特有の発現パターンが獲得されたのかを追求する予定である。またヒメナガカメムシ胚の菌細胞塊原基領域を単離して、次世代 DNA シークエンサーにより網羅的発現遺伝子解析をおこなって、菌細胞分化に関わる遺伝子ネットワークの全貌解明を推進していく。もし、ヒメナガカメムシの胚発生過程において共生細菌が菌細胞塊原基を認識して特異的に感染するシグナル分子が同定できれば、昆虫の共生細菌だけではなく病原細菌なども含めた感染制御技術の開発につながる可能性もあり、そのような観点からも研究を進める。

■ 本件問い合わせ先 ■

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

生物プロセス研究部門 生物共生進化機構研究グループ

首席研究員（兼）研究グループ長 深津 武馬

〒305-8566 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 6

TEL : 029-861-6087 FAX : 029-861-6812

E-mail : t-fukatsu@aist.go.jp

生物プロセス研究部門 環境生物機能開発研究グループ

主任研究員

菊池 義智

〒062-8517 札幌市豊平区月寒東 2 条 17 丁目 2-1

TEL : 011-857-8939 FAX : 011-857-8980

E-mail : y-kikuchi@aist.go.jp

国立大学法人 北海道大学 大学院地球環境科学研究院

准教授

三浦 徹

〒060-0810 札幌市北区北 10 条西 8 丁目

TEL : 011-706-4524 FAX : 011-706-4524

E-mail : miu@ees.hokudai.ac.jp

【プレス発表／取材に関する窓口】

ひえだ

国立研究開発法人 産業技術総合研究所 広報部 報道室 稗田 一郎

〒305-8568 茨城県つくば市梅園 1-1-1 中央第 2

つくば本部・情報技術共同研究棟 8F

TEL : 029-862-6216 FAX : 029-862-6212 E-mail : press-ml@aist.go.jp

国立大学法人北海道大学総務企画部広報課広報・渉外担当

〒060-0808 北海道札幌市北区北 8 条西 5 丁目

TEL : 011-706-2610 FAX : 011-706-2092 E-mail : kouhou@jimuhokudai.ac.jp

【用語の説明】

◆ヒメナガカメムシ

学名 *Nysius plebeius*。半翅目マダラナガカメムシ科に属する。体長 5 mm ほどの小さく目立たない灰褐色のカメムシで、キク科植物の花やイネ科植物の穂に普通にみられる。

◆共生細菌

共生細菌は多くの昆虫の細胞内、腸内、体液中などに感染しており、宿主昆虫の生存や適応にさまざまな影響を与える。特に、必須共生細菌と呼ばれる細菌類は宿主に必須アミノ酸やビタミン類などの栄養素を供給することから宿主の生存に不可欠であり、母から子へと世代を超えて受け継がれる。

◆菌細胞

共生細菌を保持することに特殊化した昆虫の細胞。共生細菌はほとんどの場合、細胞質に局在する。

◆ホメオティック遺伝子

動物に広く保存された形態形成を司る遺伝子群。胚発生において体節の前後軸にそって順番に発現し、それぞれの遺伝子が発現する部位で細胞分化や器官形成を制御する。1995 年のノーベル生理学・医学賞はホメオティック遺伝子を含む初期胚発生における遺伝的制御に関する発見により、エドワード・ルイス、クリスティアーネ・ニュスライン＝フォルハルトとエリック・ヴィーシャウスに授与された。

◆ウルトラバイソラックス遺伝子

ショウジョウバエにおいて同定された、節足動物に広く保存されているホメオティック遺伝子。昆虫では胸部から腹部にかけて発現する。ショウジョウバエでは、この遺伝子の突然変異により 4 枚翅になることが有名である。

◆RNA 干渉法

目的とする遺伝子配列に対応する二本鎖 RNA を合成し、生物体内へ注射などによって導入することで、その遺伝子の発現を抑制することができる。昆虫を含むさまざまな真核生物の遺伝子機能の解析に用いられている。2006 年のノーベル生理学・医学賞はこの技術の開発によりアンドリュウ・ファイアーとクレイグ・メローに授与された。

◆シュナイデリア

正式な学名は "*Candidatus Schneideria nysicola*"。ヒメナガカメムシの菌細胞に特異的に共生する細菌で、宿主の生存や成長に重要である。

◆原基

ある特定の細胞や器官へと分化して機能をもつ前段階の細胞群。昆虫では複眼原基、翅原基、脚原基などがよく知られる。

◆*In situ* ハイブリダイゼーション法

細胞内の遺伝子発現を可視化する手法。目的とする遺伝子配列に相補的な核酸を標識したプローブを作成し、固定化した組織に浸透させることでプローブが認識する遺伝子発現の局在を検出する。

◆アンテナペディア遺伝子

胸部において発現するホメオティック遺伝子。脚の形成を制御することが知られており、この遺伝子の発現を抑制すると本来脚になるはずの付属肢が触角のような形態になる。

◆アブドミナル A 遺伝子

腹部において発現するホメオティック遺伝子。腹部の第2節以降の形態形成を決める遺伝子で、この遺伝子の発現を抑制すると腹部に脚のような構造が異常形成される。

◆次世代 DNA シークエンサー

従来の DNA シークエンサーとは異なり、一度に読み取れる塩基配列の長さが 50~500 塩基（従来法では約 800 塩基）と短いものの、高度並列処理により 1 回の解析で数千万~数十億塩基対の塩基配列情報を得ることができ、ゲノムの解読や遺伝子の発現解析に広く用いられている。

◆シグナル分子

細胞内や細胞間で情報伝達を担う分子のこと。ホルモン、フェロモン、成長因子などさまざまなものがある。