



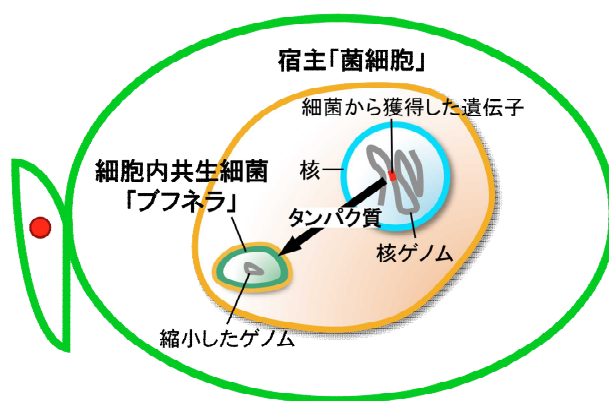
世界初、動物と細菌の融合機構の一端を解明

—アブラムシは細菌から獲得した遺伝子からタンパク質をつくり、共生細菌へ輸送—

皆さんは、庭先の大切な花が、いつの間にかアブラムシでいっぱい、などというご経験をお持ちではないでしょうか。害虫として悪名高いアブラムシは、栄養の乏しい植物の汁を吸いながら爆発的に繁殖します。この繁殖力を支えているのが、栄養分を作ってアブラムシに提供する共生細菌「ブフネラ」です。アブラムシは、「菌細胞」という特殊な細胞の中にブフネラをすまわせ、2億年にわたって親から子へと受け継いでおり、ブフネラなしでは繁殖できません。また、ブフネラはその間にたくさんの遺伝子を失っていて、菌細胞の外では生きられません。

今回、豊橋技術科学大学の中鉢 淳 准教授は、理化学研究所、岩手医科大学、東京工業大学、国立遺伝学研究所と共同で、アブラムシが、細菌から獲得した遺伝子を使ってタンパク質を合成し、そのタンパク質をブフネラに運ぶ仕組みを進化させていることを明らかにしました。これは、太古、ミトコンドリアや葉緑体といった「オルガネラ」の成立過程で起きたのと同様の進化が、多細胞生物である動物の中でも起きていることを示す、世界初の発見です。今回の成果は、生物学全般に大きなインパクトを与えるだけでなく、遠縁の生物を融合させる画期的な生命工学技術の基礎となる他、環境負荷の低い害虫防除法の開発など、将来的に幅広い応用につながるものと期待されます。

この研究成果は2014年7月21日（現地時間）に米国の学術誌「Current Biology」にオンライン掲載されます。



細菌と一体化するアブラムシ（左） 幼虫を産む親虫（撮影：中鉢淳）
（右）今回明らかとなった、アブラムシと細菌との融合機構

本件に関し取材ご希望の際は、下記担当までご連絡下さい。

総務課広報係 高柳・小島 Tel. 0532-44-6506

世界初、動物とバクテリア^{*1}の融合機構の一端を解明

—アブラムシは細菌から獲得した遺伝子からタンパク質をつくり、共生細菌へ輸送—

研究成果のポイント

- オルガネラ^{*2}の太古の進化と同様の進化を動物で発見。
- 遠縁の生物を融合させる画期的な生命工学技術の基礎に。
- 共生系を標的とする、環境にやさしい害虫防除法の開発へ。

(概要)

豊橋技術科学大学の中鉢 淳 准教授は、理化学研究所、岩手医科大学、東京工業大学、国立遺伝学研究所と共同で、アブラムシ^{*3}が細菌から獲得した遺伝子^{*4}を使ってタンパク質^{*5}を合成し、そのタンパク質を共生細菌「ブフネラ」^{*6}に輸送する仕組みを進化させていることを明らかにしました。これは、太古、ミトコンドリア^{*7}や葉緑体^{*8}といった「オルガネラ」の成立過程で起きたのと同様の進化が、多細胞生物^{*9}である動物の中でも起きていることを示す、世界初の発見です。今回の成果は、生物学全般に大きなインパクトを与えるだけでなく、遠縁の生物を融合させる画期的な生命工学技術の基礎となる他、環境負荷の低い害虫防除法の開発など、将来的に幅広い応用につながるものと期待されます。

この研究成果は2014年7月21日（現地時間）に米国の学術誌「Current Biology」にオンライン掲載されます。

1. 背景

農業害虫として悪名高いアブラムシ（図1）は、栄養の乏しい植物の汁液だけを餌としながら、きわめて旺盛な繁殖力を示します。これを可能にしているのが、微生物との共生関係です。アブラムシは、体内に「菌細胞 (bacteriocyte)」*¹⁰と呼ばれる特殊な細胞を持ち、この中に、共生細菌「ブフネラ」を多数収納しています。アブラムシはブフネラの提供する栄養分に依存して成育しており、ブフネラなしでは繁殖できません。

また、ブフネラは、2億年にわたってアブラムシの親から子へと受け継がれ、その間に多くの遺伝子を失っているため、菌細胞の外では増殖することができません。中鉢らの先行研究により、アブラムシが様々な細菌から遺伝子を獲得し、自身のゲノム*¹¹の一部にしていることが明らかとなっていました。



図1 研究に用いたエンドウヒゲナガアブラムシ (*Acyrtosiphon pisum*) マメ類の害虫である。

2. 研究手法と成果

本研究では、アブラムシが細菌から獲得した遺伝子のひとつで、機能の不明な「RlpA4」（図2）に注目しました。



図2 RlpA4 タンパク質のドメイン構造。SP：シグナルペプチド*¹²，ICK：インヒビターシステインノットモチーフ，DPBB：ダブルφ-βバレルドメイン

まず、アブラムシのRNAを抽出し、RT-PCR*¹³法によりRlpA4遺伝子の配列を増幅した後、発現ベクター*¹⁴へ挿入して大腸菌に導入し、Hisタグ*¹⁵融合タンパク質を合成しました。このタンパク質をニッケルカラムを用いて精製し、さらに電気泳動*¹⁶法で分離した後、抗体*¹⁷作製に用いました。得られた抗RlpA4タンパク質抗体を精製後、イムノブロット*¹⁸に用いて、アブラムシの体組織にRlpA4タンパク質が含まれるか調べました（図3）。その結果、RlpA4タンパク質は、親虫自身の体腔内に存在する菌細胞から特異的に検出されました。

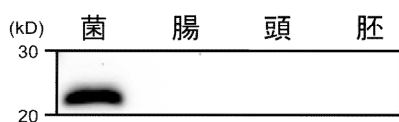


図3 アブラムシ各組織でのRlpA4タンパク質の検出
菌：親虫自身の体腔内の菌細胞、腸：中腸
頭：頭部、胚：虫の体内で育ちつつある胚

次に、同じ精製抗体を用いて免疫組織化学*¹⁹を行うと、やはり R1pA4 タンパク質は、親虫自身の菌細胞のみから特異的に検出されました (図 4 A)。アブラムシの体内では、次世代の「胚」*²⁰が育ちつつあり、この中にも菌細胞が存在しますが、興味深いことに、胚の菌細胞からは R1pA4 タンパク質が検出されませんでした。また、より高倍率での観察や、共焦点レーザー顕微鏡*²¹を用いた観察により、R1pA4 タンパク質は、菌細胞内で、ブフネラの細胞に局在することが明らかとなりました (図 4 B C)。

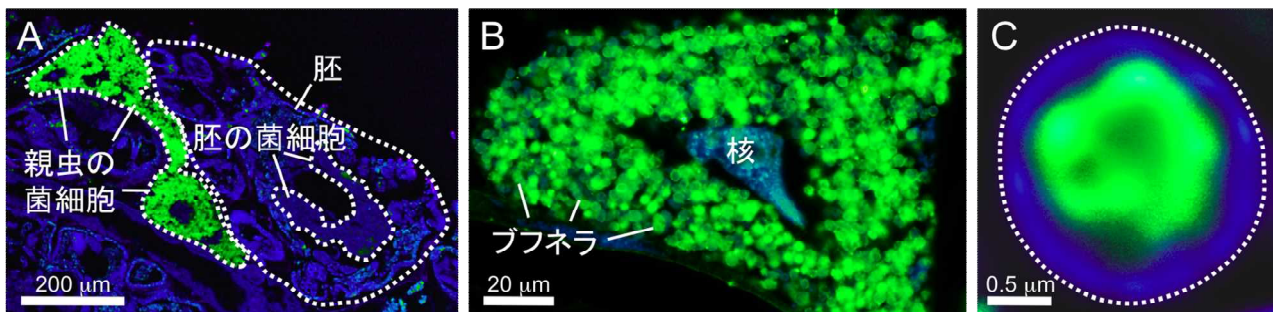


図 4 R1pA4 タンパク質の分布。 緑色のシグナル (Alexa Fluor 488) が、R1pA4 タンパク質の存在を示す。 青色 (DAPI) は DNA。(A)アブラムシ体内での R1pA4 タンパク質の分布。 親虫自身の菌細胞で、特異的に R1pA4 タンパク質が検出されている。 虫の体内で育ちつつある胚にも菌細胞が存在するが、R1pA4 タンパク質は検出されない。(B) 菌細胞内での R1pA4 タンパク質の分布。 R1pA4 タンパク質は、核や細胞質基質ではなく、ブフネラに局在していることが分かる。(C) ブフネラ細胞での R1pA4 タンパク質の分布。

さらに免疫電顕*²²法により、R1pA4 タンパク質の局在をより詳細に調べたところ、R1pA4 タンパク質はブフネラ細胞内に存在することが確かめられました (図 5)。これは、アブラムシのゲノムにコードされた *R1pA4* 遺伝子から R1pA4 タンパク質が合成された後、そのタンパク質をブフネラ細胞内に運ぶ輸送系が進化していることを示します。ブフネラ細胞は、内外 2 層の膜を持ち、さらにその外側を宿主由来の一層の膜に包まれているが、こうした膜の周辺からも、若干の R1pA4 シグナルが検出されました。これは、輸送途上の R1pA4 タンパク質に由来するものと考えられます。

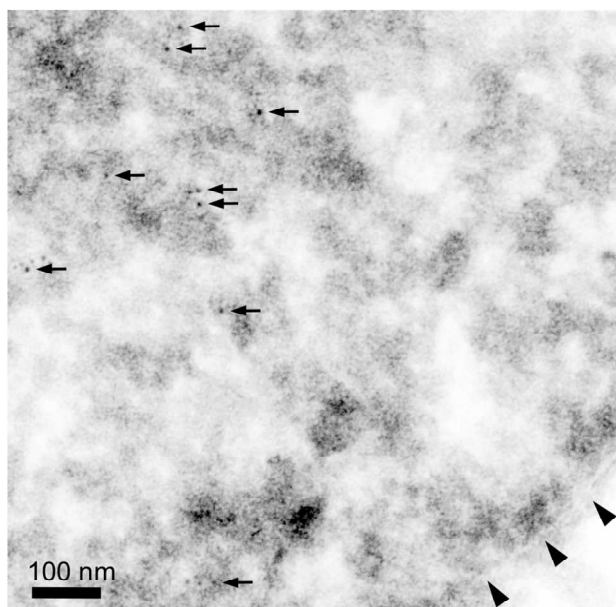


図 5 ブフネラでの R1pA4 タンパク質の分布の詳細。 矢頭はブフネラの細胞の境界を示し、 矢印は R1pA4 タンパク質の存在を示すシグナル。 R1pA4 が、ブフネラの細胞内で検出されているのが判る。

以上のように、今回、

- ・アブラムシが、細菌から獲得した遺伝子を用いて実際にタンパク質を合成していること
- ・その合成は、親自身の菌細胞で特異的に起きること
- ・タンパク質は、ブフネラ細胞内に局在しており、合成されたタンパク質をブフネラに運ぶ特異的な輸送系が進化しているらしいこと

が示されました。ミトコンドリアや葉緑体といった「オルガネラ」の成立過程では、

- 1) オルガネラとなる共生細菌自身や、その他の細菌から宿主ゲノムに遺伝子が移行し、
- 2) 移行した遺伝子からタンパク質合成が可能となり、さらに、
- 3) 合成されたタンパク質を共生細菌に運ぶ輸送系が進化する必要がありました(図6)。

中でも、タンパク質輸送系の進化が最も困難と考えられており、長らく細菌由来オルガネラとそれ以外の細菌を区別する指標とされてきました。今回の発見は、こうした太古の進化と同様の進化が、多細胞生物である動物の中でも起きていることを示すもので、**世界初の快挙**です。

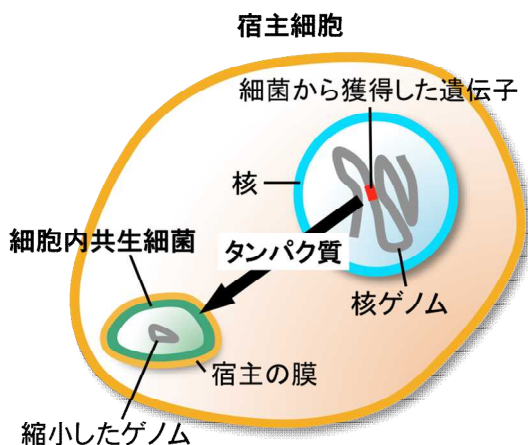


図6 オルガネラ初期進化とアブラムシ共生系進化の共通性。

- 1) 細菌から宿主ゲノムに遺伝子が移行し、
- 2) 移行した遺伝子からタンパク質合成が可能となり、
- 3) そのタンパク質を共生細菌に運ぶ輸送系が進化した。

3. 今後の期待

細胞内共生に基づくオルガネラの成立は、系統的に無関係な複数の生物が融合する例として、究極のかたちです。今回の成果は、「タンパク質輸送系の進化」が異系統生物間の融合にとって鍵であるとの仮説を支持する一方、この進化が、オルガネラの成立過程のみで起きた例外的な事象ではないことを示します。ブフネラへのタンパク質輸送系について理解を深めることで、将来的には、遠縁の生物を融合させる画期的な生命工学技術の開発などにつながるものと期待されます。また、この共生系は、アブラムシの生存に必須である一方、周辺環境中の他の生物には存在しないため、環境負荷の低い新規害虫防除法開発の標的としても有望です。今回の成果は、菌細胞内共生関係の維持機構に迫るもので、近い将来、環境負荷の低い新規防除法の開発に結びつくものと期待されます。

発表者

国立大学法人豊橋技術科学大学・エレクトロニクス先端融合研究所(EIIRIS) 准教授
(独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター 客員研究員)

中鉢淳

Tel: 0532-44-6901

E-mail: nakabachi@eiiris.tut.ac.jp

報道担当

国立大学法人豊橋技術科学大学・総務課広報係 高柳・小島

Tel. 0532-44-6506

E-mail: kouho@office.tut.ac.jp

(補足説明)

* 1 バクテリア

細菌。比較的単純な構造を持つ、微小な単細胞生物。細胞内に、DNA (デオキシリボ核酸) を内包する構造である「核」を持たない。

* 2 オルガネラ

細胞(内)小器官。細胞内で特定の形態と機能を持つ構造で、動物や植物のように、核を持つ生物である「真核生物」で発達する。このうち、酸素呼吸の場である「ミトコンドリア」と光合成の場である「葉緑体」は、太古の単細胞生物により取込まれた細菌の末裔である。

* 3 アブラムシ

半翅目のアブラムシ上科に属する昆虫の総称。世界で約 4,400 種が知られており、このうち 250 種ほどが重要な農業害虫。針状の口吻を植物に差し込んで師管液を吸うが、この採餌行動のため、植物病原ウイルスの最も主要な媒介者となっており、既知の 700 種のおよそ 3 割を媒介する。幼虫を産み出すタイプの単為生殖(雌だけで繁殖すること)を行う。

* 4 遺伝子

生物の形や性質を規定する因子。DNA 上の 4 種類の塩基の配列により暗号化されている。大部分は、タンパク質を合成するための情報を担っている。DNA の塩基配列情報は、メッセンジャーRNA(リボ核酸)に写し取られ(この過程を「転写」と呼ぶ)、リボソームやトランスファーRNAの助けを借りて、タンパク質合成(「翻訳」という)に用いられる。このように遺伝子の情報が、機能する形として現れることを「発現」という。

* 5 タンパク質

20 種類のアミノ酸が多数連なって構成される化合物。用いられるアミノ酸の組合せや順序は DNA 上の塩基配列に対応し、ほとんど無数の種類のタンパク質を想定することが出来る。生物の重要な構成成分で、個々のタンパク質が、それぞれ独自の機能を持つ。

* 6 ブフネラ

Candidatus Buchnera aphidicola。ガンマプロテオバクテリア綱・腸内細菌目・腸内細菌科に属し、大腸菌などに近縁な細菌。アブラムシの餌である師管液に乏しい必須アミノ酸や一部ビタミンなどの栄養分を合成・提供することで宿主アブラムシの成育を支えている。大腸菌のゲノムサイズが約 500 万塩基対（遺伝子数：約 5,000）であるのとは比べ、ブフネラのゲノムサイズは 42~65 万塩基対（遺伝子数：約 400~600）と、大幅に小さくなっている。

* 7 ミトコンドリア

動物や植物を含む真核生物の細胞内で、「酸素呼吸の場」として機能するオルガネラ。20 億年ほど前、真核生物の共通祖先の単細胞生物に取り込まれた好気性細菌（酸素呼吸を行う細菌）に由来する。

* 8 葉緑体

植物の細胞内で「光合成の場」として機能するオルガネラ。10 億年以上前に植物の共通祖先に取り込まれたシアノバクテリア（酸素発生型の光合成を行う細菌）に由来する。

* 9 多細胞生物

多数の細胞で構成されている生物で、動物や植物など、真核生物の一部に見られる。（これに対し、細菌など、核を持たないすべての生物や、真核生物の多くは、一つの細胞からなる「単細胞生物」である。）次世代に受け継がれる少数の生殖細胞と、一世代限りの存在である多数の体細胞に分かれ、後者は様々な機能と性質を持つ細胞に「分化」している。多細胞化により、複雑で高度な体制を取ることが可能となり、また次世代に遺伝情報を引き継ぐ生殖細胞が外界から隔離されるため、他の生物種の遺伝情報が、ゲノム構造に影響を与える機会が激減した。

* 10 菌細胞

共生微生物を収納、維持するために分化した細胞で、さまざまな系統の昆虫に見られる。消化管上皮の一部であるもの、消化管とは独立に体腔（動物の体壁と消化管との間の空所）内に存在しているものなどがあり、アブラムシの菌細胞は後者にあたる。

* 11 ゲノム

ある生物をその生物として成り立たせるために必要な遺伝情報のひと揃い。その本体は DNA であり、多数の遺伝子や、その働き方を決める配列などで構成される。

* 12 シグナルペプチド

タンパク質分子の輸送や局在を規定する、短いアミノ酸配列。

* 13 RT-PCR

Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction。RNA から逆転写（「転写」とは反対に RNA から DNA を合成するためこう呼ばれる）により cDNA（complementary DNA. RNA と相補的な DNA）を合成し、これを鋳型として用いることで、狙った配列を増幅する手法。

* 14 発現ベクター

任意の遺伝子配列を挿入し、大腸菌や酵母などの扱いやすい生物の細胞内に持ち込んでタンパク質などを合成させるために使われる DNA。遺伝子の情報に基づいてタンパク質などが合成されることを「発現」と言うため、こう呼ばれる。

* 15 His タグ

アミノ酸の一種「ヒスチジン」が数個連なったもの。銅、ニッケル、亜鉛、コバルトなどの金属に結合する性質を持つので、発現させるタンパク質の末端に付加しておき、ニッケルカラムなどにより、そのタンパク質を精製するのに用いられる。

* 16 電気泳動

溶液に電場を加えた際に、電荷を持った物質が一方の極に向かって移動する現象。DNA やタンパク質の分離にさかんに用いられる。

* 17 抗体

脊椎動物（我々ヒトを含む、背骨を持つ生物）の免疫反応で、主に外部から侵入した物質である「抗原」と特異的に結合するタンパク質。分子生物学では、この結合特異性を利用して、特定の物質の存否や、局在を調べるのに用いられる。

* 18 イムノブロット

ウェスタンブロット。タンパク質試料を電気泳動で分離したのち膜に写し取り、特定のタンパク質の存在を、そのタンパク質に対する抗体を使って検出する手法。

* 19 免疫組織化学

組織や細胞に存在する特定の抗原を、抗体を用いて可視化する手法。組織標本上のタンパク質などの存否や局在を、直接顕微鏡下で確認できる。

* 20 胚

多細胞生物の個体発生における初期段階の個体。その定義は様々だが、動物ではおおむね卵割のはじめから摂食可能な幼生の直前までを指す。胎生単為生殖を行うアブラムシの体内では、同時に多数の胚が育つ。

* 21 共焦点レーザー顕微鏡

レーザービームを標本に照射し、焦点の合っている位置から発せられる蛍光のみを検出することで、高い解像度と三次元情報の再構築を実現する顕微鏡。

* 22 免疫電顕

免疫組織化学のうち、とくに電子顕微鏡を用いて行う手法を指す。