

味覚受容体遺伝子がむすぶ化合物と産卵行動



写真1：ナミアゲハの産卵実験
ミカン葉から抽出した産卵刺激物質を塗布した人工葉に産卵している。

JT生命誌研究館
尾崎克久

アゲハチョウと食草

地球上で最も多様化した生物は昆虫であり、その過半数が植食性である。昆虫の中で比較的新しいグループとされる鱗翅目の幼虫は大部分が植食性であるだけでなく、その多

くが特定の植物の葉しか食べられない。ふ化直後の幼虫は体が小さくて移動能力が低いので、メス成虫が正確に植物種を識別して産卵しなければ、次世代は育たない。そこでまず成

虫が幼虫の食草を識別するしくみを知りたいと考えた。しかもそのしくみが変化して、食性が変わると、そこの種分化が起きるのではないかという問いも立てて研究を始めた。選択したのはアゲハチョウの仲間である。

アゲハチョウのメス成虫の産卵行動は、飛ぶことから始まる。主に視覚情報を頼りに葉にとまり、葉を前脚でたたく。これを「ドラミング」と呼ぶ。前脚ふ節には化学感覚子があって、葉の表面に存在する化合物を感じ取る。植物種によって化合物の組み合わせが違うので、それを識別し、適切と判断すると卵を産む。その後その場を飛び去り、また一連の作業をくり返して次の卵を産むのである。ナミアゲハについては、主な食草であるミカン科植物から、化合

世代をつなぐ遊び

生きものを見ていると、とにかく続いていることが多いとしているのだと思います。まず個体として生き続けるのが基本ですが、それと同じくらい、いや時にはそれ以上に大切なのが次の世代へと続いていることです。

当初生きものは、単細胞として誕生し、分裂によって続していくという戦略をとりました。ところが十億年ほど前、多細胞が生まれてからは、個体としては死ぬけれど、生殖細胞から次の世代が誕生して生きるという形で続いていく戦略が生まれました。

分裂で生きていたバクテリアでは、ゲノムの大部分が生体成分の合成に直接関与しています。ところが、多細胞生物のゲノムには、直接タンパク質につながらない部分や単純な塩基配列のくり返しなどがたくさんあります。実は、ゲノムのほとんどがそのような部分なのです。まさに「遊び」です。しかし、この中にこそ、RNAを用いた調節などの生きる妙技があり、これによって多細胞生物が現在のような多様性を獲得したと言つてもよいことがわかつてきました。

そこです、多様な多細胞生物の代表選手とも言える昆虫（チョウ）と植物との次世代へと続くための戦略の研究を紹介します。チョウの場合は、幼虫が特定の葉しか食べないと偏食なので、次世代へと続けるためには正確にその葉に産卵しなければなりません。植物の繁栄を支えている被子植物は、それまでの植物と異なる重複受精という方法を獲得しました。身近で興味深い現象なのにわかつていなことがあります。それを解く楽しさを共有してください。

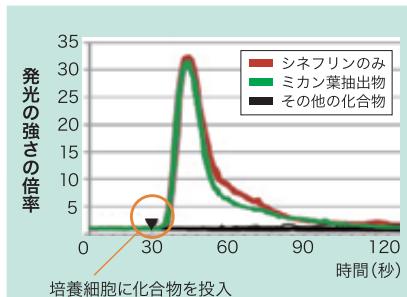


図3: カルシウムイメージング法で得られた発光の比較
味覚受容体遺伝子を組み込んだ細胞は、シネフリンだけで刺激した場合でもミカン葉抽出物でも同じ強さで発光する。つまり、この味覚受容体は、ミカン葉に含まれるシネフリンだけに反応していることがわかる。

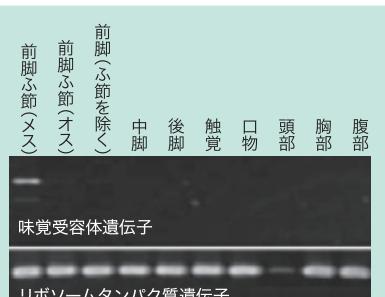


図2: 味覚受容体遺伝子の発現を電気泳動で確認
発見した味覚受容体遺伝子が、チョウの体のどこではたらいているか遺伝子を増幅して調べたところ、メス前脚ふ節にだけバンドが検出された(左1列目)。リポソームタンパク質遺伝子は発現の比較に用いた。



図1: ナミアゲハの味覚受容子
ナミアゲハの味覚受容子は、メス前脚の先端のふ節の毛のように並んでいます。味覚受容子は、味覚受容子中の味覚神経細胞膜上にある。

物十種が「産卵刺激物質」として同定されており、これらを混合すると生葉と同程度に産卵行動を誘発する(写真1)。一方、化合物を識別する受容体の研究は、私たちの研究開始時にはまったく行われていなかった。ただ、ショウジョウバエの味覚受容子で、味覚子内部へ数個の味覚ニュードルが軸索を伸ばしていること、その細胞膜中に七回膜貫通型タンパク質(7TMP: 7 transmembrane protein)である味覚受容子が存在し、それが化合物を認識しているとされている。チョウの前脚ふ節にある受容子は、シヨウジョウバエの味覚受容子と同様の構造をもっているので、ここで、食草の認識と産卵行動研究の第一歩として、ナミアゲハの味覚受容体遺伝子の探索と機能解析に取り組んだ。

味覚受容体遺伝子を追いかけ

味覚受容体遺伝子は、発現量が極端に少ないため、ゲノムが読まれかたが(図2)、7TMPには神経伝達など化学受容以外のたらきをもつものもたくさんあるので、これが食草の認識に関わる味覚受容体かどうかを確認しなければならなかつた。そこで

「カルシウムイメージング法」を用いた。まず味覚細胞ではない培養昆虫細胞でナミアゲハ味覚受容体候補7TMPと発光クラゲから見つかったイクオリン(equinorin)という発光タンパク質を発現させる。その細胞を化合物で刺激したとき7TMPが応答すれば発光タンパク質

がカルシウムに反応して光るといふのである。私たちが得た7TMPは、産卵刺激物質の中のシネフリンを与えた時だけ発光した(図3)。一か八かの実験だったが、二年間大量の遺伝子を調べる実験を許されたおかげで、産卵刺激物質シネフリンを認識するナミアゲハの味覚受容体遺伝子を手にすることことができた。

チョウのRNAiに挑戦する

遺伝子のはたらきを調べるには、その遺伝子のメッセンジャーRNA(dsRNA)を生体に導入する一本鎖RNA(dsRNA)を導入するRNA干渉(RNAi)がよく使われる。鱗翅目昆虫では、dsRNAの注射によって遺伝子の発現量を抑えることはできるが、その効果が持続せず、この方法は難

機能が解明されているものは少ない。しかも昆虫の化学受容体遺伝子は、遺伝子間の塩基・アミノ酸配列の類似性が極端に低いので、他の生物の受容体遺伝子を手がかりに探し研究の第一歩として、難点がある。そこで、メス成虫ふ節で発見する遺伝子群を片つ端から調べることにした。メス成虫ふ節のcDNAライブラリー[註1]を作り、約一万個の配列を決定してアミニ酸配列を推定した。その中で七回膜貫通領域を含む配列をもつものをコンピュータ上で探し、候補遺伝子を絞り込んだ。そしてついに味覚受容体候補の7TMP遺伝子を一つ見つ

註1: cDNAライブラリー
組織や細胞から抽出したメッセンジャーRNAを錆型としたDNAを合成し、プラスミドなどのベクターにつなげて増やしたクローニングDNAのセット。発見している遺伝子のクローニングをするのに用いる。