

鳥の糞から柑橘類の葉へ
～アゲハ幼虫の変身を制御する遺伝子の発見～

平成 31 年 4 月 9 日
東 京 大 学

1. 発表者：

金 弘淵（東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻 博士課程 3 年生）
藤原晴彦（東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆若齢時は鳥の糞、終齢時には柑橘系の葉に擬態するアゲハ幼虫の“変身”を制御する遺伝子群を同定することに成功しました。
- ◆今回同定したのは 3 種類のアゲハ幼虫のホメオボックス遺伝子（注 1）で、幼若ホルモン（注 2）の低下により発現が誘導され、終齢幼虫の紋様パターンを決定することが初めて示されました。
- ◆擬態のプレパターン（注 3）がホルモンとホメオボックス遺伝子群の相互作用によって事前に決定されるという発見は、擬態のメカニズムや進化を知る大きな手がかりになると期待されます。

3. 発表概要：

東京大学大学院新領域創成科学研究科の金弘淵大学院生と藤原晴彦教授らは、アゲハチョウ幼虫の擬態紋様の変化を制御する遺伝子を発見しました。

アゲハチョウの幼虫の多くは若齢時には鳥の糞に擬態し、終齢時に食草である柑橘系の葉に似せて、捕食者の鳥などから逃れることが知られています。この現象を制御する遺伝子の候補を探索し、さらに幼虫体表の一部の領域でのみ遺伝子機能をノックダウンする手法を用いて、得られた候補遺伝子の機能を確かめました。その結果、幼若ホルモンの低下により 3 種類のアゲハ幼虫のホメオボックス遺伝子の発現が誘導され、終齢幼虫の紋様パターンを決定することが初めて示されました。将来現れる擬態紋様のパターンがホルモンとホメオボックス遺伝子群の相互作用によって事前に決定されるという発見は、擬態のメカニズムや進化を知る大きな手がかりになると期待されます。

4. 発表内容：

アゲハチョウは私たちの身近で見られる蝶です。日本では、ナミアゲハ以外にもナガサキアゲハやクロアゲハなど 10 種類以上のアゲハチョウが知られていますが、その幼虫の多くは、若齢時は白と黒の紋様からなり、鳥の糞に擬態しているといわれています（図 1 左）。一方、これらの幼虫は最終齢になると、食草である柑橘系の葉に紛れるような緑色に変わります（図 1 右）。鳥の糞への擬態と柑橘系の葉へのカムフラージュにより、捕食者である鳥

から捕食されにくくなると考えられています。しかし、どのようにして二つの擬態紋様が生じ、また切り替わるのか、その分子機構はほとんどわかっていませんでした。今回、東京大学の金弘淵大学院生と藤原晴彦教授らのグループは、ナミアゲハの幼虫の紋様を切り替える遺伝子とその作用メカニズムを発見しました。

まず、二つの擬態紋様の切り替えを決定する時期（4 齢幼虫の初期：4 齢脱皮後 0 時間、6 時間、12 時間後）に 3 つの紋様領域（鳥の糞模様の黒、鳥の糞模様の白、5 齢幼虫の目玉模様）の RNA を調製し、RNA sequencing 法（注 4）によりそれぞれの領域や時期で発現している RNA を比較しました。その結果、黒、白、目玉領域で特異的に発現している遺伝子が複数同定されました。その中で、C11（目玉模様特異的）、abd-A（黒・白領域特異的）、Abd-B（黒領域特異的）といったホメオボックス遺伝子は、4 齢初期の特定の時期の特定の紋様（カッコ内に示した）でのみ発現していることがわかりました。4 齢初期から 3 日ほどすると脱皮期（5 齢脱皮期）（注 5）になりますが、このときに 4 齢幼虫のクチクラ（注 6）が脱ぎ捨てられ、新たに 5 齢幼虫の擬態紋様が描かれたクチクラが形成されます。

エレクトロポレーション法（注 7）で 3 つのホメオボックス遺伝子に対する siRNA（注 8）を 3 齢幼虫時にそれぞれの紋様領域に導入し、RNAi（RNA 干渉法）（注 9）により遺伝子発現を抑制しました。そうすると 4 齢幼虫時（鳥の糞型紋様）の紋様は変化しなかったのに対し、5 齢幼虫時の紋様形成は阻害されました（図 2）。しかし、4 齢初期の紋様の切り替え決定時期を過ぎてから siRNA を注入して同様の処理をしても、5 齢幼虫の紋様形成は阻害されませんでした（図 3）。一方、メラニンなどの着色に関与する遺伝子に対して同様の処理をすると、4 齢幼虫も、5 齢幼虫も紋様の一部が形成されなくなりました。これらの結果から、上記のホメオボックス遺伝子は紋様のプレパターンを 4 齢初期の紋様切り替え時期よりも前に決定していることが明らかになりました。

アゲハ幼虫の鳥の糞型から柑橘葉への擬態紋様の切り替えは、体内の幼若ホルモン JH が低下することによって決定されることが以前からわかっていました。4 齢初期に JH を塗布して体内の JH 濃度をあげると、5 齢幼虫になっても鳥の糞のままで紋様が切り替わりません。そこで、この JH 処理を施した幼虫で上記のホメオボックス遺伝子の発現を調べると、処理していない幼虫に比べて、低下していました。この結果は、JH 濃度の低下により、それぞれのホメオボックス遺伝子の発現が誘導されることを示唆しています。

以上の結果から、紋様の切替え（5 齢幼虫も紋様のプレパターン）は、実際に紋様が形成される脱皮期よりかなり前に、JH の低下によって誘導されるホメオボックス遺伝子などを介して決定されることがわかりました。擬態の複数の紋様がいくつかのホメオボックス遺伝子により事前に決められていることや、ホルモンによってこれらの遺伝子の発現が制御されていることなどが初めて明らかになりました。日本には生息しないアゲハチョウの仲間には、蛹になるまで鳥の糞型の幼虫のままである種が知られており、上記のような紋様の切替えしくみは祖先的なアゲハから進化の過程で獲得されたと考えられます。今回得られた結果は、他の擬態における紋様形成におけるメカニズムは進化を知る上でも、大きな手がかりを与えると考えられます。また、今後はまだ確認をしていないホメオボックス以外の候補遺伝子

の機能を知ること、擬態紋様の形成メカニズムやその進化プロセスをより詳細に知ることができるようになると期待しています。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Science Advances*」オンラインジャーナル（2019年4月10日）

論文タイトル：Prepatterning of *Papilio xuthus* caterpillar camouflage is controlled by three homeobox genes: *clawless*, *abdominal-A* and *Abdominal-B*.

著者：Hong-Yuan JIN, Takumi SEKI, Junichi YAMAGUCHI and Haruhiko FUJIWARA*

DOI 番号：10.1126/sciadv.aav7569

6. 用語解説：

(注1) ホメオボックス遺伝子：

60 アミノ酸ほどからなるホメオボックスと呼ばれる DNA 結合ドメインを持つ遺伝子の総称。動物や植物など数多くの生物の発生を制御するホメオボックス遺伝子が多数知られている。他の遺伝子の発現を制御する転写因子として働き、様々な発生現象に関与している。

(注2) 幼若ホルモン (JH)：

昆虫ホルモン的一种で、脱皮、変態、成長などを制御する。蝶などの完全変態昆虫では、幼虫が脱皮する際には濃度が高いが、蛹になる際には濃度が低下し、変態が促進される。

(注3) プレパターン：

3 次元的な形態や 2 次元的な紋様などのパターンが実際に形作られる前に、複数の遺伝子産物や物質などの局在により将来のパターンが決定される場合がある。我々の目に見える前に、将来のパターンに向けて形成される局在パターンをプレパターンと呼ぶ。

(注4) RNA sequencing 法：

細胞や組織から全 RNA を抽出し、その配列 (cDNA 配列) を次世代シーケンサーにより網羅的に決定することで、どのような遺伝子が発現しているかを解析する方法。組織間や発現時期によって遺伝子発現がどのように変動しているかが調べられる。

(注5) 脱皮期 (5 齢脱皮期)：

昆虫などの生物の体表は固いクチクラ (注6) で覆われており、外骨格と呼ばれる。昆虫は発育の過程で体を大きくするためには、古いクチクラを脱ぎ捨て新しいクチクラを合成する必要がある。この時期を脱皮期と呼ぶ。

(注6) クチクラ :

昆虫の体表は一層の真皮細胞で覆われており、そこから複数のタンパク質やキチンなどが合成、分泌され、硬化することによりクチクラが作られる。同時に色素が分泌されることもあり、これにより体表の紋様が形成される。

(注7) エレクトロポレーション法 :

細胞や組織に極めて短い時間電氣的な刺激を与えて細胞膜の一部に穴を開け、外部からDNAやRNAなどの物質を導入する方法。

(注8) siRNA :

RNAi (注9) が起こる際に形成される 21-21 塩基ほどの短い二本鎖 RNA。Small interfering RNA の略。siRNA は簡便に合成できるため、様々な生物種で特定の遺伝子機能を阻害するのに使われている。

(注9) RNAi (RNA 干渉法) :

RNA interference の略。mRNA に相補的な塩基配列を持つ二本鎖 RNA がその mRNA を分解する現象。遺伝子機能を阻害する方法の一つとして広く利用されている。

7. 添付資料 :



図1 : ナミアゲハ (*Papilio xuthus*) の若齢幼虫 (鳥の糞に擬態: 左) と終齢幼虫 (柑橘系の葉に擬態: 右) (撮影: 二橋亮氏)

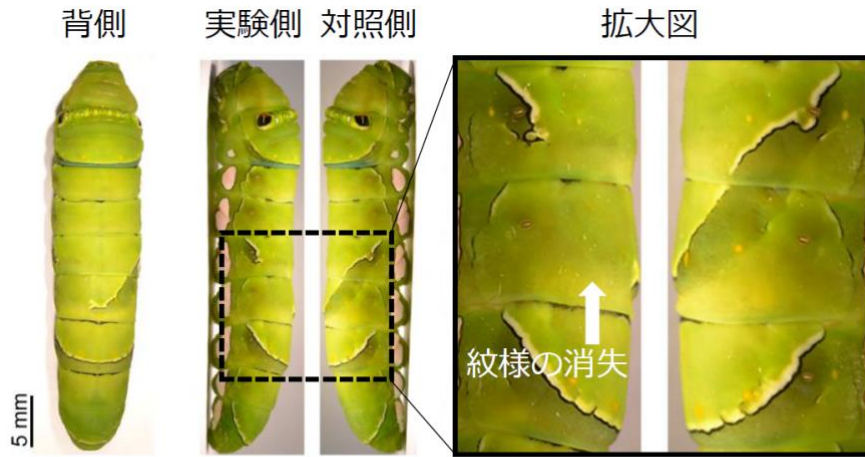


図2. RNAiによる*abd-A*の発現抑制実験

図 2 : RNAi 法による *abd-a* の機能解析

abd-a に対する siRNA を 3 齢幼虫に注射後エレクトロポレーション法で腹部紋様領域の細胞に導入した個体。siRNA を導入した左側半身（実験側）では紋様の一部が欠落している。導入していない領域（対照側）では変化がない。

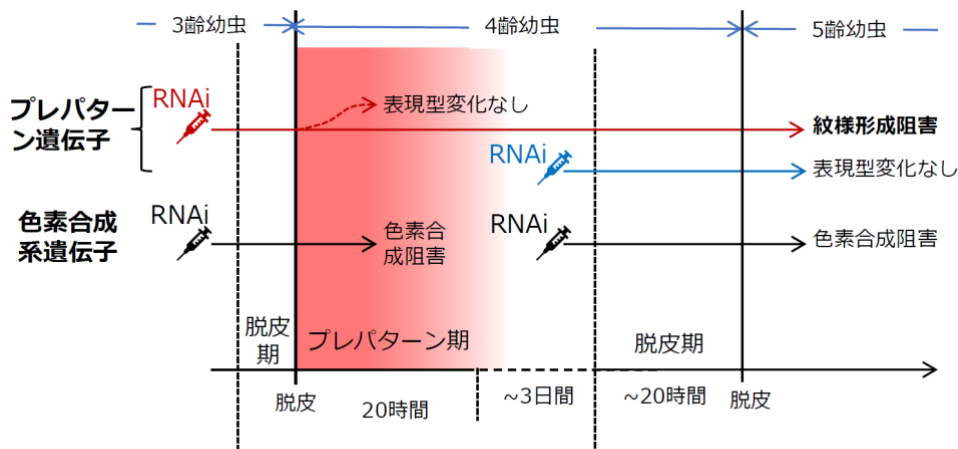


図3. RNAiの結果をまとめた図

図 3 : RNAi の結果をまとめた図

プレパターン遺伝子（今回見つかったホメオボックス遺伝子群）に対する siRNA を 3 齢幼虫に注射して RNAi を引き起こすと、4 齢幼虫（鳥の糞型）では変化はないが、5 齢幼虫（柑橘の葉型）では紋様形成が阻害される（図 2 参照）。しかし、4 齢初期の紋様切り替え期（プレパターン期）を過ぎてから同様に処理しても、表現型の変化は見られない。一方、色素などを合成する遺伝子に対して同様に RNAi を引き起こすと、4 齢、5 齢のいずれでも色素形成が阻害される。