

特集：カイコから害虫ゲノムへの展開

# チョウ目害虫とカイコのゲノム構造の類似性

(独)農業生物資源研究所 瀬 筒 秀 樹

## はじめに

昆虫は命名されているものだけで93万種以上いると言われており、チョウやガの仲間(チョウ目)は、カブトムシやカミキリムシの仲間(コウチュウ目)に次いで種数が多く、16万種以上が知られている(GRIMALDI and ENGEL, 2005)。種類が多いだけでなく、その色や形、生態は実に様々である。昆虫は4億年以上前に出現したが、化石のデータなどから、チョウ目は比較的最近の4,000~6,000万年前に急激に種の数が増えたと考えられている。

チョウ目は、そのほとんどが食植性であり、農作物や森林に多大な被害をもたらす害虫が多く含まれる。植物は様々な防御物質によって、昆虫などに食べられないように身を守っているが、その防御物質を解毒する機能を獲得して適応した種も多い。また殺虫剤抵抗性を獲得しやすい害虫も含まれるため、チョウ目に効果的な選択性の高い殺虫剤の開発が求められている。

これまでに、農業生物資源研究所と中国の研究グループが中心となり、チョウ目としては最初にカイコのゲノムがほぼ完全に解読された(The International Silkworm Genome Consortium, 2008)。カイコは、絹糸を生産する農業生物としてだけでなく、遺伝学・生理学等の研究材料としても扱いが容易で優れており、他のチョウ目害虫のモデル生物となることが期待されている。ところが、カイコは家畜化されて野生を失っていることや、ゲノム中の反復配列の割合が非常に多いため、反復配列によるゲノムの大きな再編成が起きやすいと考えられる。そのため、カイコと害虫ではゲノムがかなり異なっていることも想像され、カイコは害虫のモデルとして適さないのではないかという声もあった。

そこで我々は、チョウ目の害虫2種に着目し、フランス国立農学研究所(INRA)やオーストラリア連邦科学産業研究機構(CSIRO)等とともにゲノムの一部を解読

してカイコゲノムと比較を行った。その結果、チョウ目害虫とカイコの遺伝子の並び方はほぼ同じであることがわかり、カイコのゲノム情報がチョウ目害虫の遺伝子同定に有用であることを明らかにした。

## I オオタバコガ、ツマジロクサヨトウ、カイコの遺伝子の並び方の保存性

ヨトウガなどのチョウ目害虫は、殺虫剤抵抗性を獲得しやすく農業上大きな問題となっている。そこで、農作物の世界的な大害虫であるオオタバコガおよびツマジロクサヨトウ(口絵①, ②)のBACライブラリを作成した。BAC(Bacterial Artificial Chromosome)とは、人工染色体の一種であり、100~200 kbの大きさのDNAを組み込み、大腸菌で増やすことができる。我々は、様々な遺伝子を含む領域に対応した15のBACを選び、塩基配列を解読した。特に、植物防御物質の代謝や殺虫剤抵抗性に関与していると考えられる遺伝子領域を中心に解読した。そして、カイコゲノムとの比較を行い、チョウ目昆虫のゲノムの類似性や特殊な進化を明らかにした(D'ALENÇON et al., 2010)。

オオタバコガ(*Helicoverpa armigera*)は、チョウ目ヤガ科(Noctuidae)のガであり、非常に広食性で、トウモロコシ、ワタ、ヒマワリ、タバコ、ダイズ、トマト、ピーマン、ナス、レタス、キャベツ等の大害虫として知られている。日本にも分布し、植物中に食入するため防除が困難な害虫であると同時に、殺虫剤抵抗性も問題となっている。

ツマジロクサヨトウ(*Spodoptera frugiperda*)は、チョウ目ヤガ科(Noctuidae)のガであり、非常に広食性で、イネ、トウモロコシ、ソルガム、ワタ、タバコ等80種以上の植物を食べ、作物に被害をもたらす。日本でも近縁のハスモンヨトウ(*S. litura*)による農作物への被害が大きく、オオタバコガと同様に、殺虫剤抵抗性を獲得しやすいことが問題となっている。

一方、カイコ(*Bombyx mori*)は、チョウ目カイコガ科(Bombycidae)のガであり、クワの葉以外は食べない。カイコが作り出す絹糸は古来より人間に利用され、およそ5,000年の間に野生種のクワコ(*B. mandarina*)から家畜化されたと考えられている。カイコは遺伝学・

Extensive Synteny Conservation of Holocentric Chromosomes in Lepidoptera Despite High Rates of Local Genome Rearrangements.  
By Hideki SEZUTSU

(キーワード:カイコ, オオタバコガ, ツマジロクサヨトウ, ゲノム, シンテニー, P450)

生理学の研究材料として扱いやすく、フェロモンやホルモン等の研究に用いられてきた。2008年にはゲノムがほぼ完全解読され、ますます重要なモデル生物となっている。また、2000年に遺伝子組換え技術が確立され、遺伝子機能解析が進むとともに、遺伝子組換えカイコによる医薬品などの有用タンパク質生産や蛍光絹糸等の新素材開発が期待されている。

複数の生物のゲノム(ある生物のもつ全ての遺伝情報)間での染色体上の遺伝子の並び方の相同性、または遺伝子の並び方が相同である状態を「シンテニー (synteny)」と呼んでいる。シンテニーが保存されていれば、既知のゲノム情報を利用することによって、別の生物の遺伝子の位置を推定することが可能となる。また、シンテニー解析によってゲノム再編成(配列の転座・欠失・重複等)を理解することは、種分化や遺伝子機能の解明に有用である。カイコはゲノム中の反復配列の割合が43.6%とこれまでゲノムが解読された昆虫の中で一番多いため、反復配列によるゲノムの大きな再編成が起きやすいと考えられていた。しかしながら、染色体の観察(FISH法)によれば染色体のマクロなレベルではチョウ目昆虫間でシンテニーが保存されていることが示唆されており(SAHARA et al., 2007)、ゲノム配列レベルでの解析が必要とされていた。

今回の我々の解析によって、ゲノム配列レベルでもシンテニーつまり遺伝子の並び方が3種間で高度に保存されていることが示された(図-1)。シンテニーの高度な保存性は、カイコのゲノム情報を用いることによって、多くの害虫を含むチョウ目昆虫全般の遺伝子同定が容易であることを示している。

## II チョウ目昆虫での部分的なゲノムの高変動性

その一方、チョウ目害虫で殺虫抵抗性にかかわる遺伝子は増幅されて数(コピー数)が増えているなど、部分的なゲノムの再編成が高い頻度で生じていた。例えば、植物防御物質や殺虫剤等の解毒作用をもつ酵素のP450遺伝子などでは急速にコピー数が増えており、そのことによって解毒作用が高くなっていることが示唆された(BRUN-BARALE et al., 2010)。

シトクローム P450 (P450 または CYP と呼ばれる)は、幅広い生物種に存在するヘムタンパク質で、酸素1原子を化合物に導入するモノオキシゲナーゼ活性をもっている。還元型で一酸化炭素と結合して450 nmに極大をもつ吸収スペクトルを示す色素としての特徴から、ピグメント(色素)450という意味で日本の大村と佐藤によって名付けられた(OMURA and SATO, 1962)。P450はひとつの共通祖先遺伝子から進化して多様化した遺伝子ファミリーであり、様々な基質の反応を触媒し、生体内で解毒などの様々な役割を持っている。昆虫は、約40から160種のP450遺伝子を持っている。ゲノムが解読された昆虫では、セイヨウミツバチ(*Apis mellifera*)には約46種、キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)には約86種、カイコには約87種、ハマダラカ(*Anopheles*)には約105種、キョウソヤドリコバチ(*Nasonia vitripennis*)には約106種、コクヌストモドキ(*Tribolium castaneum*)には約134種、ネッタイシマカ(*Aedes aegypti*)には約160種のP450遺伝子があるといわれている。昆虫のP450遺伝子は、植物がもつ防御物質や殺虫剤を解毒・代謝し、殺虫剤抵抗性の発達にも関与しているだけでなく、脱皮ホルモンや幼若

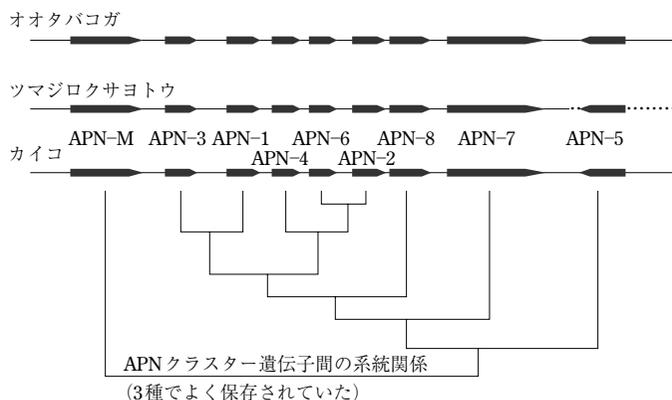


図-1 チョウ目昆虫における遺伝子の並び方  
アミノペプチダーゼ N (APN) 遺伝子群領域の例。

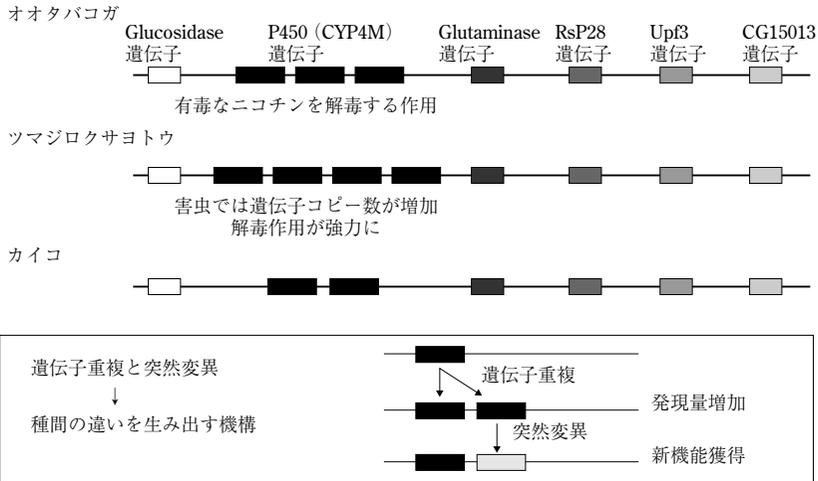


図-2 チョウ目昆虫における遺伝子の並び方  
P450 (CYP4M) 遺伝子領域の例.

ホルモン等の合成や代謝, 昆虫の種特異的なフェロモンや防御物質の合成や分解にも関与している (篠田, 2009)。

今回の解析結果では, 例えばニコチン (タバコに含まれ殺虫性のある植物防御物質) などに対して解毒作用をもつ酵素の P450 (CYP4M) 遺伝子は, 害虫のオオタバコガやツマジロクサヨトウでは遺伝子が増幅してコピー数が増え, 解毒作用が強力になっていることが示唆された (図-2)。

また, 増幅した P450 遺伝子などの各コピーは DNA 配列が変化することによって, 元の遺伝子とは違う独自の機能を獲得することがある (図-2)。それによって, チョウ目は様々な環境に適応してきたのかもしれない。部分的なゲノムの再編成の頻度は, これまでに知られている昆虫・動物の中で最も高いものであり, その再編成には反復配列が影響していることが示唆された。

### III チョウ目昆虫の特殊な染色体と進化

チョウ目の染色体は, 細胞分裂時に, ヒトなどのように動原体微小管 (紡錘糸) が染色体の 1 箇所に結合するのではなく全体に多数結合するという特徴があり, ホロセントリック染色体 (図-3) と呼ばれる。ホロセントリック染色体 (Holocentric chromosome) とは, 細胞分裂時に染色体全体に紡錘糸が多数結合する染色体である。チョウ目やアブラムシ, サシガメ等の昆虫の一部や, センチュウ, イグサ科やカヤツリグサ科の植物の一部等, 少数の生物種に見られる。細胞分裂 (有糸分裂) 時には, DNA が折りたたまれた染色体の動原体と呼ば

れる部分に動原体微小管 (紡錘糸) が結合し, 染色体が移動するが, 染色体上に動原体がないと正常に細胞分裂を行うことができない。ヒトなどの脊椎動物や, キロシヨウジョウバエ等の多くの昆虫では, 染色体に 1 箇所の局在型動原体をもつモノセントリック染色体 (Monocentric chromosome) をもつが, ホロセントリック染色体では, 動原体機能が染色体全体に分散する散在型動原体をもっている。したがって, ホロセントリック染色体では染色体が断片化しても各断片は動原体をもつため細胞分裂を行うことができる。

シンテニーが保存されつつも, 各遺伝子は急速に進化 (変化) しているという一見矛盾する特徴は, ホロセントリック染色体との関連性が強く示唆された。すなわち, 細胞分裂時に染色体が小断片化されても, 各断片に付着した動原体によって染色体は 2 つの細胞に無事に分配されるが, その後, 切断した染色体が修復され再構成される際に局所的な染色体の組換え頻度が高くなり, 遺伝子重複などが起きやすいと推測される (図-4)。このことが, 比較的最近に種の数が増えたにもかかわらず, 昆虫の中で 2 番目に種類が多いというチョウ目の多様性を生み出す原因の一つとなっていると考えられた。

### おわりに

今後, カイコで得られたゲノム情報やカイコの遺伝子組換え技術を用いることによって, チョウ目害虫の殺虫剤抵抗性にかかわる遺伝子を解明し, 害虫防除に有効な新規の農業開発などに役立つ知見を提供していきたい。また, ホロセントリック染色体の分子的な実体はまだわ

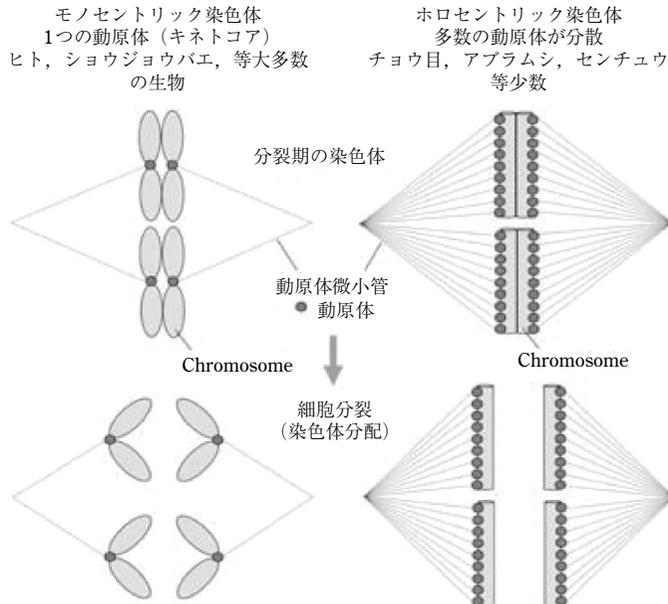
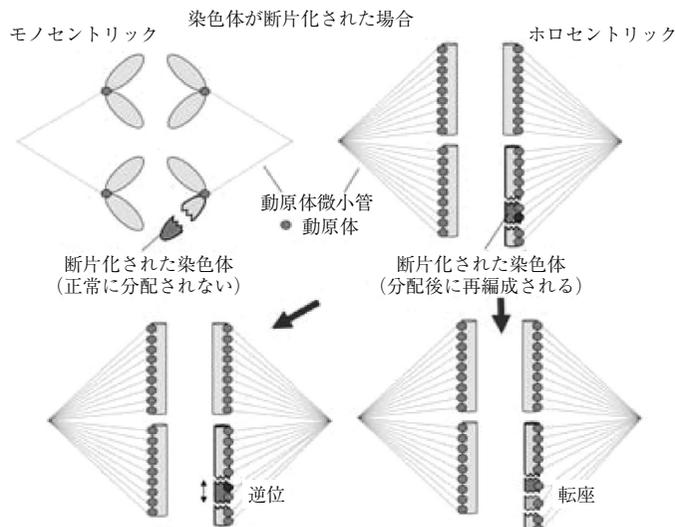


図-3 モノセントリック染色体とホロセントリック染色体の違い



ホロセントリック染色体は局所的なゲノム再編成を加速化しているのだろう

図-4 ホロセントリック染色体で高頻度のゲノム再編成が生じるモデル

かっていないため、分子的な解析が進むことによってチョウ目昆虫の進化メカニズムの解明につながることを期待される。

引用文献

- 1) BRUN-BARALE et al. (2010) : Pest Management Science 66 : 900 ~ 909.
- 2) D'ALENÇON, E. et al. (2010) : Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107 : 7680 ~ 7685.
- 3) GRIMALDI, D. and M. S. ENGEL (2005) : Evolution of the Insects, Cambridge University Press, Cambridge, 755 pp.
- 4) OMURA, T. and R. SATO (1962) : J. Biol. Chem. 237 : 1375 ~ 1376.
- 5) SAHARA, K. et al. (2007) : Genome 50 : 1061 ~ 1065.
- 6) 篠田徹郎 (2009) : P450 の分子生物学第2版, 講談社, 東京, p. 208 ~ 216.
- 7) The International Silkworm Genome Consortium (2008) : Insect Biochem. Mol. Biol. 38 : 1036 ~ 1045.