

トースシ以外の機能が解析されている分子としてFADDが知られているが、その他の分子についてはまだ不明な点が多く残されている。DEDDホモログであるDEDD2を含めた他のDEDタンパク質のアポトーシス以外の生理機能の解析の展開が待たれるところである。

- 1) Barnhart, B.C., Lee, J.C., Alappat, E.C., & Peter, M.E. (2003) *Oncogene*, **22**, 8634-8644.
- 2) Stegh, A.H., Schickling, O., Ehret, A., Scaffidi, C., Peterhänsel, C., Hofmann, T.G., Grummt, I., Krammer, P.H., & Peter, M.E. (1998) *EMBO J.*, **17**, 5974-5986.
- 3) Schickling, O., Stegh, A.H., Byrd, J., & Peter, M.E. (2001) *Cell Death Differ.*, **8**, 1157-1168.
- 4) Alcivar, A., Hu, S., Tang, J., & Yang, X. (2003) *Oncogene*, **22**, 291-297.
- 5) Arai, S., Miyake, K., Voit, R., Nemoto, S., Wakeland, E.K., Grummt, I., & Miyazaki, T. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **104**, 2289-2294.
- 6) Miyazaki, T. & Arai, S. (2007) *Cell Cycle*, **6**, 1419-1425.
- 7) Hueber, A.O., Zörnig, M., Bernard, A.M., Chautan, M., & Evan, G. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 10453-10462.
- 8) Roth, W., Stenner-Liewen, F., Pawlowski, K., Godzik, A., & Reed, J.C. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 7501-7508.
- 9) Montagne, J. (2000) *Mol. Cell Biol. Res. Commun.*, **4**, 195-202.
- 10) Schmelzle, T. & Hall, M.N. (2000) *Cell*, **103**, 253-262.
- 11) Fingar, D.C., Richardson, C.J., Tee, A.R., Cheatham, L., Tsou, C., & Blenis, J. (2004) *Mol. Cell Biol.*, **24**, 200-216.
- 12) Wu, L. & Russell, P. (1993) *Nature*, **363**, 738-741.
- 13) Rupes, I. (2002) *Trends Genet.*, **18**, 479-485.
- 14) Morgan, D.O. (1995) *Nature*, **374**, 131-134.
- 15) Fingar, D.C., Salama, S., Tsou, C., & Harlow, E. (2002) *Blenis. J.*, **16**, 1472-1487.
- 16) Shima, H., Pende, M., Chen, Y., Fumagalli, S., Thomas, G., & Kozma, S.C. (1998) *EMBO J.*, **17**, 6649-6659.
- 17) Pende, M., Kozma, S.C., Jaquet, M., Oorschot, V., Burcelin, R., Le Marchand-Brustel, Y., Klumperman, J., Thorens, B., & Thomas, G. (2000) *Nature*, **408**, 994-997.
- 18) Swenn, I., Borg, L.A., Crace, C.J., & Schnell Landstrom, A. (1992) *Diabetologia*, **35**, 939-945.

倉部 誠也, 新井 郷子, 宮崎 徹

(東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター  
分子病態医学)

The cell cycle and cell sizing regulation via death effector domain

Nobuya Kurabe, Satoko Arai, and Toru Miyazaki (Division of Molecular Biomedicine for Pathogenesis Center for Disease Biology and Integrative Medicine (CDBIM), Faculty of Medicine, The University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan)

## 繭の色はどのようにして彩られるのか

### 1. はじめに

カイコの研究をしたことがない方でも、カイコの繭の実物や写真を一度くらいは見たことがあるだろう。その繭の色は何色だっただろうか。日本ではほとんどの方が白繭を思い浮かべることと思う。しかし、実はカイコの繭色は系統によって白色、黄色、紅色、肉色、筐色、緑色と様々に異なる(図1A)。現在の日本の養蚕業では圧倒的に白繭種が用いられているが、例えば東南アジアの養蚕業では黄繭種が主である。では、何が繭に色を付けているのだろうか？なぜ繭色の違いが生じるのだろうか？最近、この問への答えを導く遺伝子のひとつが明らかとなった。これまでの繭色研究の知見と共に紹介したい。

### 2. 繭色は餌の桑葉が含む色素に由来する

カイコの繭色を生み出している色素成分は、主に脂溶性のカロテノイド系色素(黄・赤)<sup>1)</sup>と水溶性のフラボノイド系色素(緑)<sup>2,3)</sup>である(図1B)。これらの色素はいずれもカイコの幼虫の食餌の桑葉に由来する。繭に色が付くためには、色素はまず腸管細胞に吸収され、体液を介し、絹糸腺という器官に輸送され、絹糸腺腔にある液状絹糸に分泌されなくてはならない(図1C)。つまり、色素が繭にたどり着くまでの間に、腸管細胞、体液、絹糸腺細胞という三つの障壁が存在する。同じ桑葉を食べても系統によって繭色の違いが生まれることから、色素の輸送は単純拡散によるものではなく、特定の遺伝子が積極的に関与するものであることは明らかである。では、その遺伝子はどのようなものなのだろう。

### 3. 繭色をつかさどる遺伝子座

メンデルの遺伝法則が再発見され近代遺伝学が始まったのは1900年であるが、1906年、外山亀太郎はタイ白繭種とタイ黄繭種を交雑するとF<sub>1</sub>は黄繭のみを、F<sub>2</sub>は黄繭と白繭とを3:1の比で生じることを示した<sup>4)</sup>。これはメンデル則が動物においても成り立つことを示した初めての論文報告にもなっている。その後、多くの品種を用いて交雑実験や色素分析等が行われ、繭色をつかさどる遺伝子座群の同定と、その遺伝子座の作用機序の解析がなされてき



た<sup>1,5,6)</sup>。遺伝子座は、(I)カロテノイド系色素に関与するものと、(II)フラボノイド系色素に関与するものに分けられる。

(I) カロテノイド系色素に関与する遺伝子座 (図 2A)

菌にカロテノイドが届くためには、まず腸管腔の桑葉消化物に含まれるカロテノイドが腸管細胞に取り込まれなくてはならない。この腸管細胞への取り込みには *Y* という遺伝子座が関わる。*Y* が優性の *Y* の場合にはカロテノイドが腸管細胞に取り込まれる。一方、劣性の *+<sup>Y</sup>* の場合には、カロテノイドが腸管細胞内にほとんど取り込まれず、菌にカロテノイドが届くことはない。1906年に外山が観察したのは、この *Y* 対立遺伝子の遺伝様式になる。

腸管細胞に取り込まれたカロテノイドは、次に体液へと移行しなくてはならない。この腸管細胞から体液への移行には *I* 遺伝子座が関わる。*I* が優性の *I* の場合には、カロテノイドは体液に移行せず、腸管細胞に蓄積されてしまう。劣性の *+<sup>I</sup>* の場合にカロテノイドは体液に移行し、体液が黄色 (黄血) となる。すなわち、 $[Y +]$  の場合に体液は黄血となり、他の遺伝型では無色に近い色 (白血) となる。白血の場合は菌にカロテノイドの着色が起こることはない。ただし、*I* の場合でも、*Acp* (Absorbent of carotenoid pigment) という遺伝子座が優性である場合、*+<sup>I</sup>* に比

べれば少量ではあるが、カロテノイドが体液に移行する<sup>7)</sup>。

体液中では、カロテノイドはリポホリンと呼ばれる昆虫リポタンパク質に結合した状態で運搬される<sup>8)</sup>。リポホリンは、哺乳類 LDL などとは異なり、エンドサイトーシスによる細胞質への取り込みを一般的に起こさず、細胞間のシャトルとして働く。

リポホリンから絹糸腺へのカロテノイドの移行には、*Y* 遺伝子座および *C* 遺伝子座と *F* 遺伝子座が関与する。*Y* が腸管だけでなく絹糸腺でも機能することは、モザイク個体の解析や絹糸腺の移植実験から明らかとなった。*C* と *F* は *Y* が優性の *Y* であることを条件として機能する。食餌から菌に運ばれる主なカロテノイドは水酸基を含むルテインと水酸基を含まないβカロテンであるが (図 1B)、*C* は主にルテインの取り込みに、*F* はβカロテンの取り込みに関与している。すなわち、*C* と *F* では輸送するカロテノイドの化学型が異なる。また、*C* と *F* は機能する部位も異なり、*C* は中部絹糸腺の中区で、*F* は中部絹糸腺の後区で働く。*C* も *F* も、優性の *C*、*F* の場合にカロテノイドを取り込み、劣性の *+<sup>C</sup>*、*+<sup>F</sup>* の場合はカロテノイドを取り込まない。そのため、菌の色は  $[C F]$  では金黄色に、 $[C +<sup>F</sup>]$  では黄色に、 $[+<sup>C</sup> F]$  では肉色に、 $[+<sup>C</sup> +<sup>F</sup>]$  では白色となる。また、*F* の存在下で *Pk* という遺伝子座

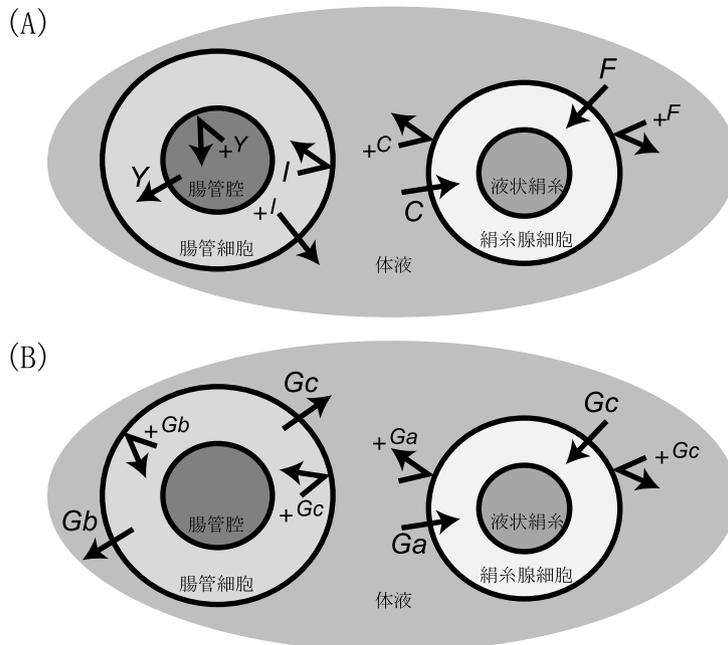


図 2 菌色をつかさどる遺伝子の機能  
(A)カロテノイド系色素に関わる遺伝子。(B)フラボノイド系色素に関わる遺伝子。

が優性の  $P_k$  である場合、 $\beta$  カロテンが中部絹糸腺後区内で化学的に変換される。そのため、 $[+^c F P_k]$  の場合、繭は紅色となる。

#### (II) フラボノイド系繭色に関する遺伝子座 (図 2B)

フラボノイドを含有する繭には薄い黄緑色を呈するものと比較的濃い緑色を呈するものがあり、それぞれ笹繭、緑繭と呼ばれる。

フラボノイドもカロテノイドと同様に食餌から絹糸腺まで輸送されるが、基本的に化学型を変化させずに輸送されるカロテノイドとは異なり、フラボノイドは様々な化学修飾を受ける<sup>3)</sup>。たとえば、笹・緑・白繭系統の腸壁には9種類のフラボノイドが検出されるが、いずれも桑葉中に含まれるものとは異なる<sup>2)</sup>。

笹繭は  $G_a$  と  $G_b$  という二つの異なる遺伝子座に支配され、 $G_a$  は体液から絹糸腺へのフラボノイドの移行、 $G_b$  は腸管から体液への移行を担っている。 $G_a$  と  $G_b$  が共に優性の場合にはフラボノイドが絹糸腺まで移行し笹繭となる。それ以外の場合、すなわち、 $G_a$  のみあるいは  $G_b$  のみが優性の場合と、共に劣性の場合には白繭となる。

緑繭は  $G_c$  という遺伝子座に支配されている。 $G_c$  は腸管から体液および体液から絹糸腺へのフラボノイドの移行の両方を支配している。 $G_c$  は  $G_a \cdot G_b$  に比べて絹糸腺へ移行させるフラボノイドの種類が多く、それが緑繭と笹繭の色の違いを生み出していると考えられる。

$G_c$  は、*Ign-1* (*Inhibited green 1*) 遺伝子座および *oc* (支那油, *chinese translucent*) 遺伝子座によって機能に影響を受ける。対立遺伝子 *Ign-1* がホモに存在する場合、 $G_c$  によって体液から絹糸腺へ移行するはずのフラボノイドの一部が移行しなくなり、繭は笹繭となる。対立遺伝子 *oc* がホモに存在する場合、腸管でフラボノイドの一部が生成されなくなり、繭は笹繭となる。

#### 4. カロテノイド結合タンパク質 (CBP)

遺伝学的な交雑実験とは別に、カロテノイド系繭色に関して、生化学的なタンパク質精製による繭色遺伝子の同定が試みられてきた。カロテノイドは難溶性であるため、生体内を輸送される際にはその疎水性部分を保護する分子が必要であり、カロテノイド結合タンパク質がその役割を果たしていることが予想されたからである。

いくつかのグループによってカロテノイド結合タンパク質の精製は行われたが、最終的に、黄血黄繭系統の絹糸腺から色を指標に精製がなされ、精製されたタンパク質の抗体を用いた発現クローニングによって cDNA が取得され

た<sup>9)</sup>。同定されたカイコカロテノイド結合タンパク質 (carotenoid-binding protein: CBP) は、33kDa の細胞内分子であり、カルボキシル末端側には START ドメインという動植物に広く存在する脂質結合ドメインを有していた。CBP は、腸管や中部絹糸腺、精巢、卵巣といったカロテノイドによる着色が見られる組織に特異的に発現していた。このことから、CBP の発現が各組織のカロテノイドの取り込み量を定める要因と考えられた。

#### 5. $Y$ は CBP をコードしている

CBP の発現を繭色遺伝子の対立遺伝子間で比較したところ、CBP は  $Y$  では発現しているが、 $+^Y$  では全く発現が見られなかった<sup>9,10)</sup>。CBP は、 $Y$  が機能する腸管細胞と中部絹糸腺細胞両方に発現している。また、CBP の cDNA を用いた制限酵素多型によるマッピングから、CBP が  $Y$  と同じ第2染色体に座位することが明らかとなった<sup>11)</sup>。このことから、CBP は  $Y$  そのものである可能性が考えられたので、 $Y$  と  $+^Y$  とで CBP のゲノム配列を決定し、比較した (図 3A)<sup>12)</sup>。 $Y$  には CBP が複数コピー存在し、それらは七つのエキソンから成る  $Y$ -a 型と、 $Y$ -a 型の第2イントロンにトランスポゾンが挿入した  $Y$ -b 型に分類された。 $+^Y$  には CBP は1コピーのみ存在し、第2エキソンの3'側と、トランスポゾンを含む第2イントロンの5'側が  $Y$ -b から欠失した構造であった。 $+^Y$  の CBP mRNA は、第2エキソンがスプライシングアウトされ、第1エキソンが第3エキソンと直接つながった形になっていた。すなわち、 $+^Y$  では、トランスポゾンに関連したゲノム配列の欠失によって、翻訳開始点を含む第2エキソンが抜け落ちた mRNA が作られるようになり、そのため CBP タンパク質が発現しなくなったと考えられる (図 3B)。 $Y$  が CBP をコードすることを機能的に示すため、CBP を白血白繭系統の腸管と中部絹糸腺にトランスジェニックの手法で強制発現させたところ、カイコの幼虫は黄血に復帰し、中部絹糸腺も黄色に着色し、黄繭が作られた<sup>12)</sup>。以上の結果から、 $Y$  が CBP をコードすることが強く支持された。

$Y$  が CBP をコードしているということは、CBP は腸管細胞および中部絹糸腺細胞でのカロテノイドの取り込みに関与しているということになる。CBP が細胞内分子であることを考えると、おそらく CBP は図 3C のように、腸管腔側あるいは体液側の細胞膜にあるカロテノイドを細胞膜から引き抜き、それぞれ体液側あるいは液状絹糸側へと細胞内を運搬する役割を果たしているのだろう。CBP やリポホリンによって食餌のカロテノイドが液状絹糸まで

レーされることで、繭に色が付くということになる。繭に色を付ける“絵の具”は桑葉であり、“絵筆”はカイコ体内の水中を駆け巡る小さな潜水輸送艦ということなのであろう。そして白繭に色が付いていない理由、すなわち繭色に違いが生じる理由の少なくともひとつは、この潜水輸送艦の設計図の一部が失われたから、ということになる。

## 6. おわりに

繭色をつかさどる遺伝子座は、Y以外はコードする遺伝子が明らかとなっていない。最近、ゲノムプロジェクトやマーカー整備の進展によって、カイコの遺伝子のポジショナルクローニングも現実的に可能となった<sup>13)</sup>。今後の繭色遺伝子の同定によって、繭に色が付くメカニズムの全貌が明らかになっていくだろう。カロテノイドやフラボノイドは、動植物が普遍的に持つ生理活性色素であり、眼病などにおいて臨床面でも重要な栄養素であるが、体内輸送機構は未知の点が多い。繭色遺伝子は色素の体内輸送機構を研究する上で貴重な遺伝子資源であり、これを明らかにしていくことは医学的な意義も持つと思われる<sup>14)</sup>。

カイコは昆虫綱鱗翅目カイコガ科に属し、近縁種のクワコから家畜化されたと考えられている。クワコも繭を作るが、その繭はカロテノイドとフラボノイドを共に含有し、薄黄色である。ヤママユガ科やカレハガ科などのその他の絹を作る昆虫(絹糸虫)の多くも色繭を作り、また、クモが吐く糸にも色が付いていることがある。これらの中には季節や環境条件によって大きく色を変えるものもあり<sup>15)</sup>、カイコも温度条件によって繭の色の濃淡を変える<sup>7)</sup>。おそらく絹の色は、蛹という動けない無防備な時期に天敵から隠れるための保護色などの適応的な意義を持っているのだろう。桑葉が秋の紅葉で緑から黄色に色を変えることを考えると、緑色のフラボノイドと黄・赤のカロテノイドを上手に量をコントロールして輸送することで、それぞれの季節に適した繭を作ることができるのかもしれない。CBPはクワコやその他の絹糸虫にも存在するので(中島ら、投稿準備中)、CBPはそのような適応戦略を絹糸虫において普遍的に担っている可能性がある。

- 1) 針塚正樹 (1959) 実験形態学新説, pp. 229-248, 養賢堂。
- 2) 藤本直正, 林屋慶三, 中島計至 (1959) 日本蚕糸学雑誌, 28, 30-32。
- 3) Hirayama, C., Ono, H., Tamura, Y., Konno, K., & Nakamura, M. (2008) *Phytochemistry*, 69, 1141-1149。
- 4) Toyama, K. (1906) *Bull. Coll. Agr. Tokyo Imp. Univ.*, 7, 259-393。

- 5) Tazima, Y. (1964) *The Genetics of the Silkworm*, pp. 88-102, Logos Press, London.
- 6) 森 精 編 (1970) カイコによる新生物実験, pp. 140-144, 三省堂。
- 7) 中島 誠 (1963) 東京農工大学農学部紀要, 8, 1-80。
- 8) Tsuchida, K., Arai, M., Tanaka, Y., Ishihara, R., Ryan, R.O., & Maekawa, H. (1998) *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 28, 927-934.
- 9) Tabunoki, H., Sugiyama, H., Tanaka, Y., Fujii, H., Banno, Y., Jouni, Z.E., Kobayashi, M., Sato, R., Maekawa, H., & Tsuchida, K. (2002) *J. Biol. Chem.*, 277, 32133-32140.
- 10) Tsuchida, K., Jouni, Z.E., Gardetto, J., Kobayashi, Y., Tabunoki, H., Azuma, M., Sugiyama, H., Takada, N., Maekawa, H., Banno, Y., Fujii, H., Iwano, H., & Wells, M.A. (2004) *J. Insect Physiol.*, 50, 363-372.
- 11) Hara, W., Sosnicki, S., Banno, Y., Fujimoto, H., Takada, N., Maekawa, H., Fujii, H., Wells, M.A., & Tsuchida, K. (2007) *J. Insect Biotechnol. Sericology*, 76, 149-154.
- 12) Sakudoh, T., Sezutsu, H., Nakashima, T., Kobayashi, I., Fujimoto, H., Uchino, K., Banno, Y., Iwano, H., Maekawa, H., Tamura, T., Kataoka, H., & Tsuchida, K. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 104, 8941-8946.
- 13) Yamamoto, K., Nohata, J., Kadono-Okuda, K., Narukawa, J., Sasanuma, M., Sasanuma, S.I., Minami, H., Shimomura, M., Suetsugu, Y., Banno, Y., Osoegawa, K., de Jong, P.J., Goldsmith, M.R., & Mita, K. (2008) *Genome Biol.*, 9(1), R21.
- 14) Bhosale, P. & Bernstein, P.S. (2007) *Arch. Biochem. Biophys.*, 458(2), 121-127.
- 15) Yamada, H., & Kato, Y. (2004) *J. Insect Physiol.*, 50(5), 393-401.

作道 隆, 土田 耕三

(国立感染症研究所放射能管理室)

How is cocoon colored ?

Takashi Sakudoh and Kozo Tsuchida (Division of Radiological Protection and Biology, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan)

実験室の厄介者、マイコプラズマのひみつ  
—モータータンパク質も細胞骨格も使わない細胞運動—

## 1. はじめに

“マイコプラズマ”と聞くと、生物学になじみのうすい人は、京都の舞妓さんからプラズマ放電の後光がさしていること、“舞妓プラズマ”を想像するらしいです。しかし、生化学会会員の皆さんは、(i)培養細胞のコンタミ微生物、(ii)長引く肺炎の原因、(iii)最小のゲノムを持つ、などを