

昆虫クチクラに nm~ μ m スケールの多彩な 3D 構造をつくりだす分子機構

千葉大学大学院理学研究院 田尻怜子

昆虫の体を覆う殻（クチクラ）は表皮細胞から分泌される一種類の多糖（キチン）と多種類のタンパク質が細胞外に沈着してできる複合体で、種・部位・日齢によって異なる緻密な 3D 構造にもとづく多彩な性質を示します。昆虫はどうやって細胞外に緻密な 3D 構造をつくりだすのでしょうか。その鍵は各昆虫種が百以上もつクチクラタンパク質にあると考えられますが、個々のクチクラタンパク質がどのような構造を、どうやって、つくりだすのか、よく分かっていませんでした。本研究ではショウジョウバエを実験台としてこの問いに答えることを目指してきました。

1. クチクラの基本的な構造の形成機構：ショウジョウバエの幼虫クチクラにおける解析

昆虫のクチクラの基本的な層構造とキチンの規則的な配向は多様な昆虫のクチクラに共通しており、この基本的な構造にバリエーションを加えることで多彩な 3D 構造が形成されることが、長年の組織学的観察から示唆されていました。私たちはショウジョウバエの幼虫クチクラをモデルとして、この基本構造をつくりだす分子機構の解析を進めてきました。その結果、細胞から分泌されたクチクラタンパク質とキチンが細胞外において自律的に構造をつくりだす様子が明らかになってきました。このようなクチクラ分子の自己組織化が、多彩な昆虫クチクラの 3D 構造に共通する形成原理だろうと考えています。

1-1. 層構造の形成機構

以前の研究で私たちはショウジョウバエ幼虫クチクラの層構造の中でタンパク質を個別に可視化し、いくつかのクチクラタンパク質がそれぞれ特定の層を構成することを明らかにしていました。本研究ではこの知見をもとに、複数の層が形成される過程の詳細な時系列を解析しました。その結果、必ずしも外側の層から順に逐次積み重なるわけではなく、先に形成された層の外側に新たな層が形成される過程があることを見出しました。この結果は、クチクラタンパク質やキチンが細胞の手を離れたあとで自律的に層を形成することを強く示唆するものです。

幼虫クチクラには、羽化の際にクチクラの切り取り線となる特殊な構造が特定の領域に形成されます。私たちは東京大学の研究グループと共同で、この特殊構造の形成過程における上記のタンパク質およびキチンの挙動を調べました。その結果、複数のクチクラタンパク質およびキチンの特異的な挙動によってクチクラの構造が特殊化する様子が明らかになりました (Tajiri et al., 2023)。

1-2. キチンの配向を制御する機構

キチンを規則的に並べる機構についても解析を進めました。細胞外の繊維の向きを細胞側から制御する仕組みとして、植物では細胞内の微小管をルールとして細胞膜上のセルロース合成酵素が移動しながらセルロース繊維を細胞外につくりだす機構が知られていました。ショウジョウバエ幼虫表皮において微小管の配向およびキチン合成酵素の動態を調べたところ、微小管は常に一定方向に配向するのに対して、キチン合成酵素は細胞表面をランダムな方向に動き回る様子が見られました。このことから、細胞側からキチンの配向を制御するわけではなく、細胞外における分子の自己組織化によってキチンの配向が制御される可能性が高いと考えられました。

2. クチクラ分子の自己組織化による構造形成：再構成系における解析

生体のクチクラにはキチンと数十種類以上のクチクラタンパク質が共存しています。その中から個々のクチクラ分子の自己組織化の能力を切り分けて理解するためには、生体クチクラにおける個別のタンパク質の可視化や機能欠損といった上記 1.の技法だけでは限界がありました。これを補う別のアプローチとして、クチクラを産生しない組織にクチクラ分子を個別に（または少数の組み合わせで）発現させる実験系の構築に取り組んできました。

ショウジョウバエの幼虫体内にある翅原基は、本来はクチクラを産生しない組織です。この組織においてキチン生合成系の構成因子やクチクラタンパク質の発現を単独あるいは組み合わせで誘導し、細胞外に形成される 3D 構造を解析しました。キチン単独では平板な基質が形成されたのに対して、あるキチン結合性クチクラタンパク質とキチンを同時に産生させた場合には立体的な構造が形成されました。また別のクチクラタンパク質は単独では細胞外に分泌されず、キチン生合成系と同時に発現させると分泌され細胞外で不均質な構造を形成しました。これらの結果は、クチクラタンパク質とキチンの綿密な相互作用によってそれぞれの分子の挙動が変化し、多様な構造をつくりだす自己組織化の様子を捉えたものと考えています。

3. 多様な 3D 構造の形成機構の解明に向けて：キンバエの多層膜構造の解析

ショウジョウバエでは遺伝学的技術が整備されており、外来遺伝子の導入が容易にできます。本研究で構築してきたショウジョウバエ幼虫クチクラおよび翅原基の実験系に、他の昆虫の多様なクチクラタンパク質を遺伝子の形で導入すれば、それらが多彩な 3D 構造をつくりだす機構を明らかにすることができると期待されます。この解析の第一歩として、キンバエ成虫のクチクラの多層膜構造をつくるタンパク質の同定に取り組んできました。この多層膜構造は反射光の干渉によって玉虫色を呈するもので、タマムシも同様のクチクラ構造を持ちます。キンバエの蛹の発生段階を追った組織学的解析と網羅的遺伝子発現解析、および成虫クチクラの質量分析を実施し、多層膜構造の形成に関わるクチクラタンパク質の候補をリストアップすることができました。今後は、これらのタンパク質がどのようにクチクラの 3D 構造をつくりだすのか、ショウジョウバエの実験系を活用して明らかにしていきます。

参考文献

Tajiri, R. et al. "Notch signaling generates the 'cut here line' on the cuticle of the puparium in *Drosophila melanogaster*." *iScience* 26, (2023).