

研究終了報告書

「第二の Kleptoprotein の発見」

研究期間：2021年10月～2024年3月

研究者：別所-上原 学

1. 研究のねらい

生物は長い進化の歴史の過程で多様な形質を進化させてきた。それらの形質はゲノムにコードされているものだけでなく、他の生物に依存しているものも知られている。摂食により取り込まれた分解されづらい細菌や有機低分子を捕食者が利用するという例は知られているが、餌由来の酵素(タンパク質)をそのまま利用する例はこれまで報告がなかった。

申請者は、未解明な生物発光の分子メカニズムを研究する過程で、発光魚キンメドキが餌生物の発光性甲殻類トガリウミホタルから発光酵素タンパク質であるルシフェラーゼを取り込み利用することを明らかにした。餌由来タンパク質を利用する本現象は生物界全てにおいて報告例がなく、新たに「Kleptoprotein(盗タンパク質)」と名付けられた(Bessho-Uehara et al. 2020)。本研究では、魚類で見つかった Kleptoprotein 現象が、一般的なものであるか明らかにするために、他の生物群での Kleptoprotein の探索を行う。とくに申請者の専門である発光生物に着目して、その生態学的な関わりをもとに化学的手法を用いることで分野融合的な研究を展開する。

2. 研究成果

(1) 概要

餌由来タンパク質の利用を行う生物における、餌由来タンパク質、すなわち、Kleptoprotein の2例目を発見するために、節足動物門におけるアカイボトビムシについて調査をおこなった。候補生物については、国内各所からサンプリングを行い、発光種の飼育系を確立した。今後、インフォマティクス解析や遺伝学解析への応用展開が見込まれている。

まず結論として、アカイボトビムシは Kleptoprotein に依らない自前の発光システムを持つことを明らかにした。また、アカイボトビムシの研究を進めていく過程で、本種が非発光性の隠蔽種を含む種であることが判明し、発光種の分類学的な再検討が必要であることが明らかとなった。そこで、分類学を専門とする中森ら(横国大)と共同研究を行い、発光種するアカイボトビムシがザウテルアカイボトビムシ *Lobella sauteri* であることを発表した (Ohira, Bessho-Uehara et al., 2023 *Zootaxa*)。

(2) 詳細

当初、発光種だと考えられていた“ザウテルアカイボトビムシ*(田中慎吾によって同定; 田中, 2010)”を豊田ホタルの里ミュージアム(山口県)から貰い受け、発光実験を行った。しかしながら、複数個体、飼育個体・野外個体の別、採取時期をずらしても発光せず、本種が発光種であるかどうかの疑義が発生した。そこで土壤動物学会に参加し、トビムシ類の分類学者である中森泰三准教授と出会い、共同研究を開始した。その結果、“ザウテルアカイボトビムシ”の記載論文には複雑で重大な問題がみつきり、本種の再記載および発光種の同定が必要であることがわかった。問題とは、これまでの複数の論文に登場する“ザウテルアカイボトビムシ”の形態的特徴が、論文間でことなり、また、登録標本の形質とも一致しないという問題である。

再記載に関する詳細は、本課題の範疇外であり、ACTX 研究者の専門外・担当外でもあるため割愛する。

発光する赤いイボトビムシは最終的にザウテルアカイボトビムシであることがわかり、豊田ホタルの里ミュージアムの“ザウテルアカイボトビムシ*”と考えられていた種は、ザウテルアカイボトビムシではない新種である可能性が高いことがわかった。発光するイボトビムシは、実は、江戸時代の本草学(博物図鑑のようなもの)にも登場しているが、その正体については300年以上不明であった。本研究から、ザウテルアカイボトビムシが発光することを世界で初めてはっきりと証明することができた。本研究ではさらに、ザウテルアカイボトビムシの遺伝子配列解析も行い、種同定の困難なトビムシ類を研究する基盤の構築にも貢献した。さらに、研究の過程で、ザウテルアカイボトビムシ以外にも発光種が存在することを発見した。

3. 今後の展開

トビムシは非常に小さな土壌動物であり、成体になっても体長が約2 mm程度である。そのため、生化学的な手法を用いてルシフェリン化合物やルシフェラーゼタンパク質を同定することは困難だと考えられる。しかし、本研究によりトビムシの飼育系を確立できた。近縁種の情報によると、トビムシのゲノムサイズは約600 Mbpと小さく、全ゲノムの解読は比較的容易であると推測される。今後、トビムシのゲノム解析を通じて、発光に関連する要素の同定を遺伝学的手法を用いて目指す。

4. 自己評価

おおよそ満足の行く進捗・成果であった。

Kleptoproteinの有無をアカイボトビムシを用いて検証した。その結果、Kleptoproteinを利用せずに発光することが可能であることが明らかとなった。これまでほとんど研究が進んでいなかったアカイボトビムシの発光メカニズムに関する知見を得ることができた。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 2件

1. Ohira, A., Nakamori, T., Matsumoto, S., Bessho-Uehara, M., Kato, T., & Oba, Y. (2023). Contribution to the taxonomy of *Lobellini* (Collembola: Neanurinae) and investigations on luminous Collembola from Japan. *Zootaxa*, 5325(1), 63–89.

2. Jimi, N., Bessho-Uehara, M., Nakamura, K., Sakata, M., Hayashi, T., Kanie, S., ... & Ogoh, K. (2023). Investigating the diversity of bioluminescent marine worm *Polycirrus* (Annelida), with description of three new species from the Western Pacific. *Royal Society open science*, 10(3), 230039.

(2) 特許出願

研究期間全出願件数: 0件(特許公開前のは件数にのみ含む)

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

国際学会発表

- 1 . Manabu Bessho-Uehara “Biochemical characterization of photoproteins in *Pelagia*.”
Tutzing basal metazoan workshop, 2023, Sep 18-21.

国内学会発表

- 2 . 加藤 巧己, 川野 敬介, 別所-上原 学. “発光する山口県産イボトビムシの発見” 第44 回土壌動物学会 2022 年 6 月
- 3 . 別所-上原 学, “Seek of a new luminous animal possessing kleptoprotein”, 日本進化学会2023年8月 シンポジウム S06 [進化学者が子を抱えてガッツリ研究発表する]
- 4 . 加藤 巧己, 大平敦子, 中森泰三, 大場裕一, 別所-上原学. “発光イボトビムシの形態と発光強度の変化, および分子系統解析” 進化学会2023年8月 **学生ポスター発表賞受賞**
- 5 . 加藤 巧己, 大平敦子, 中森泰三, 大場裕一, 別所-上原学. “発光イボトビムシの形態と発光強度の変化, および分子系統解析” 化学発光生物発光研究集会2023年11月 **発表賞受賞**
- 6 . 加藤 巧己, 大平敦子, 中森泰三, 大場裕一, 別所-上原学. “発光イボトビムシの形態と発光強度の変化, および分子系統解析” 動物学会中部支部2023年12月 **発表賞受賞**

プレスリリース

- 1 . “海中のライトショー、バイオレットにきらめくゴカイの 3 新種を発見 ～多様な生物発光機構の理解と生命技術開発につながる事が期待～” 名古屋大学 2023.3.29
本成果は本研究の副次的な成果であるが国内の新聞誌に取り上げられた。日経新聞や WEB 記事など 6 誌
- 2 . “Three newly discovered sea worms that glow in the dark named after creatures from Japanese folklore and marine biologist” Nagoya University 2023.3.30
本成果は本研究の副次的な成果であるが海外のニュースサイトに取り上げられた。Apple News など 9 誌
- 3 . “発光トビムシの正体を解明! 土に潜む、緑色に光る陸上最小の発光節足動物 ～独自に考案した方法で、発光トビムシを次々と発見～” 名古屋大学 2023.8.23
- 4 . “YNU identifies species of luminous Collembola identified as *Lobella sauteri* – Glows green in forest soil” JST 2023.10.18