



## 1. 背景

野外で採取した昆虫のメスが、まれにオスを産まずにメスばかり産むことがあります。その原因の一つとして考えられるのが、昆虫に共生する微生物たちによる生殖操作です<sup>[注1]</sup>。ショウジョウバエに感染するスピロプラズマ<sup>[注2]</sup>はそのような共生細菌の一種であり、メスのショウジョウバエに感染して次世代のオスだけを殺す、「オス殺し」を引き起こします。主にメス親を介してのみ次世代に伝わる共生細菌が、役に立たないオスを間引いて自分たちの感染拡大を図る、利己的な現象であると考えられています。

ショウジョウバエのオス殺しは1950年代にはじめて報告されたものの、そのしくみ、特に共生細菌がどうやってオスだけを選んで殺すのか？という点は長らく謎のままでした。2018年に春本 特定助教らのグループは、スピロプラズマがもつオス殺し毒素として **Spaid** (*Spiroplasma androcidin*) を世界に先駆けて発見・報告していました。Spaidは細菌のタンパク質であるにも関わらず、ショウジョウバエなどの真核生物が持つタンパク質にもみられるドメイン<sup>[注3]</sup>を持ちます(図1)。これらのドメインは、オスだけを殺すという Spaid の特異な機能に、何らかのかたちで関わると推測されますが、その詳細は明らかになっていませんでした。

## 2. 研究手法・成果

タンパク質は生体内で作られた後、いろいろな修飾を受けることで機能や運命が変化します。ユビキチンと呼ばれる小さなタンパク質が付加されるユビキチン化<sup>[注4]</sup>もその一つで、タンパク質の分解やシグナル伝達など様々な生命現象に関わります。本研究では、Spaid がもつ真核生物様ドメインの一つである、OTU (ovarian tumor) ドメイン<sup>[注5]</sup>の機能に着目しました。OTU ドメインは、タンパク質に付加されたユビキチンを外す、脱ユビキチン化と呼ばれる活性を持つことが知られています。Spaid からこの OTU ドメインを削る、あるいは脱ユビキチン化の活性に必要なアミノ酸を置換して活性を失わせると、ショウジョウバエの組織内で Spaid の発現は低下し、結果としてオス殺しも顕著に弱化してしまうことが明らかになりました。

ユビキチン化の働きの一つに、タンパク質分解があることは先に述べました。ユビキチンが付加されたタンパク質は、プロテアソーム<sup>[注6]</sup>と呼ばれる分解装置に運ばれ、速やかに細胞から除去されます。以上のことから Spaid は、OTU ドメインによって自身に付加されたユビキチンを外し、宿主細胞のプロテアソームによる分解を逃れて自身を安定化するのではないかと推測しました。これを検証するため、ショウジョウバエ培養細胞に実験系を移すことにしました。培養細胞では、培地に薬剤を添加することで容易にプロテアソーム活性を阻害することが可能です。ショウジョウバエ組織で発現させた場合と同様、OTU の機能が失われた Spaid は発現が顕著に低下しました。一方、プロテアソーム活性を阻害すると Spaid の発現が回復したことから、Spaid は確かにプロテアソームによって分解を受けることが示されました。

では、仮説の通り Spaid 自身がユビキチン化されているのでしょうか。培養細胞から回収したタンパク質の中から Spaid を抽出し、そのユビキチン化状態をウエスタンブロッティング<sup>[注7]</sup>により解析したところ、予想した通り 1) OTU の機能が失われ(脱ユビキチン化ができず)、かつ 2) プロテアソームが阻害された場合(分解されずに細胞内に残る場合)においてのみ、ユビキチン化を示すシグナルを得ることができました。さらに、野生型の Spaid と OTU の機能が失われた Spaid を培養細胞と一緒に発現させたところ、後者は細胞内で安定に発現するとともに、ユビキチン化のシグナルは消失しました。このことは、OTU ドメインが Spaid 分子の間で働いてお互いを安定化し合っていることを示唆しています。オス殺し毒素タンパク質が自身を安定化するしくみを有していることから、スピロプラズマはオスを殺すために大量の毒素タンパク質を作る必要がないのだろうと想像されます。

## 3. 波及効果、今後の予定

私たちの身の回りの昆虫には、深刻な農業被害をもたらすものや、感染症を媒介するものもあります。今回の研究で明らかになったように、共生細菌は効率よく昆虫のオスだけを殺すしくみを進化させてきました。彼らのやり方に学ぶことで、コストパフォーマンスがよく、かつ環境に負荷をかけずに農業・衛生害虫をコントロールする技術の開発につながるかもしれません。

昆虫にオス殺しなどの生殖操作を引き起こすのは、スピロプラズマだけではありません。例えばボルバキア<sup>[注8]</sup>がもつタンパク質のなかにも、脱ユビキチン化に関わるドメインを有するものがあります。今回スピロプラズマで明らかになったものと同様の機構が存在するのか等、興味はまだまだ尽きません。

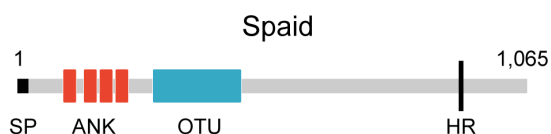


図1：オス殺し毒素 Spaid の構造。

Spaid は全長 1,065 アミノ酸のタンパク質毒素である。脱ユビキチン化に関わる OTU ドメインを青色で示した。その他に、分泌に関わるシグナル配列 (SP)、タンパク質相互作用に関わるアンキリンリピート (ANK)、および疎水性部位 (HR) を持つ。

#### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、以下の研究費による支援を受けて実施されました：

- 京都大学次世代研究者育成支援事業「白眉プロジェクト」2019~2024 年度
- 科学技術振興機構（JST）「ERATO 深津共生進化機構プロジェクト」2019~2024 年度、課題番号：JPMJER1902（代表：深津武馬）
- 長瀬科学技術振興財団 2022 年度助成
- 科学研究費・挑戦的研究（萌芽）2022~2023 年度、課題番号：22K19352（代表：西出雄大）

#### <用語解説>

1. 生殖操作：共生細菌が引き起こす生殖操作には「オス殺し」以外にも、遺伝的なオスを妊性のあるメスに転換してしまう「メス化」、オスとの交配を経ずに次世代を生み出すことを可能にする「単為生殖」、非感染メスと感染オスの交配が不妊となる「細胞質不和合」が知られています。すべて、宿主集団中における感染メスの割合を増やす効果があります。
2. スピロプラズマ：らせん型をした運動性のあるグラム陽性細菌。昆虫に共生してオスを殺すのはごく一部の種です。
3. ドメイン：タンパク質の中で機能を持つ配列や部位のこと。
4. ユビキチン化：タンパク質に起きる修飾の一種で、76 アミノ酸からなる小さなタンパク質であるユビキチンが付加されます。ユビキチン化は、分解によってタンパク質の安定性に関わるだけでなく、タンパク質の相互作用や活性化、細胞内分布などにも影響することで、多様な生命現象に関わります。
5. OTU (ovarian tumor) ドメイン：タンパク質に付加されたユビキチンを外す、脱ユビキチン化に関わるドメインの一つ。ショウジョウバエがもつ遺伝子 *ovarian tumor* がコードするタンパク質で最初に見出されたことから名付けられました。ヒトをはじめとする真核生物だけではなく、細菌やウイルスが持つタンパク質にまで幅広くみられます。
6. プロテアソーム：ユビキチン化されたタンパク質の分解を行う巨大な酵素複合体のこと。すべての真核生物に高度に保存されています。
7. ウェスタンブロッティング：電気泳動によりタンパク質を分離させた後、膜に転写（ブロッティング）し、写し取られたタンパク質の中から特定のものを抗体によって検出する実験手法のこと。
8. ボルバキア：昆虫を含む節足動物に広く感染する共生細菌の一つ。オス殺しをはじめ、多彩な生殖操作を引き起こすことで有名です。

#### <研究者のコメント>

共生微生物が引き起こす、不思議な生命現象である生殖操作に魅了されて研究を続けてきました。共生微生物の多くは培養ができない等、実験上の困難は尽きません。しかし、生殖操作の背景にある実に洗練されたしくみを垣間見て感動するたびに、それまでの苦労はみんな吹き飛んでしまいます。（春本）

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：Self-stabilization mechanism encoded by a bacterial toxin facilitates reproductive parasitism（細菌由来毒素がコードする自己安定化機構は生殖操作を促進する）

著者：春本 敏之

掲載誌：Current Biology DOI：10.1016/j.cub.2023.08.032