

新実験昆虫エビガラスズメの作る繊維状物質

○白井孝治・金勝廉介・木口憲爾
信州大学繊維学部応用生物科学科

1. 緒言

近年、天然素材や生分解性素材への関心が高まり、様々なレベルでの研究・開発が行われている。天然繊維の女王であるシルクも例外ではなく高付加価値化や弱点克服への努力が続けられている。そのような状況下、遺伝子工学の発展に伴い直接フィブロイン遺伝子そのものを改変しようとする試みがなされている。しかしながら、カイコのフィブロイン遺伝子を有効に改変するには基礎的データの蓄積が必須である。これまでもカイコを含む多くの昆虫のフィブロインが研究されているが、まだ十分とは言えない。

エビガラスズメ (*Agrius convolvuli*) は大型の鱗翅目昆虫で、カイコとは異なり営繭せず、土の中に蛹室と呼ばれる空間を作り、その中で蛹になる。そのため、エビガラスズメは絹糸腺を持たず、体内には発生学的相同器官である下唇腺が認められる。しかし、その機能は未知の部分が多い。本研究では、下唇腺の詳細な形態観察を行い、下唇腺の組織形態や細胞が絹糸腺のそれと極めて類似していることを明らかにしてきた。一方、蛹室内部に繊維状物質の存在を認め、さらに蛹室形成期の下唇腺ルーメン内には特異的なタンパク質成分を検出した。これらの結果はエビガラスズメが下唇腺においてフィブロインを合成・分泌し、蛹室形成に利用している可能性を示す。

今年度は、まず繊維状物質(エビガラスズメフィブロイン)が下唇腺により合成・分泌されることを明らかにし、次いで、下唇腺内の合成部位の特定を試みた。最後に下唇腺ルーメン内タンパク質成分の発育に伴う変化を調査した。

2. 実験方法

エビガラスズメは人工飼料育した幼虫を用いた。5 齢盛食期と蛹室形成期の幼虫を解剖し下唇腺を採取した。セルロースパウダーで満たした容器中に幼虫を入れ、そこで蛹室を形成させた後、蛹室内繊維状物質を採集した。繊維状物質は塩酸グアニジン溶液で変性・可溶化後、塩を取り除きその後の実験に用いた。タンパク質成分の分析は SDS-PAGE により行った。また *in vivo* または *in vitro* で新たに合成されたタンパク質中に標識アミノ酸を取り込ませ、下唇腺のタンパク質合成能およびその成分を分析した。

3. 結果

まず、蛹室内に認められる繊維状物質を分析した。採集した繊維状物質は蒸留水、その後エタノールでよく洗浄後、塩酸グアニジン溶液で溶解した。溶解した試料を電気泳動で分析したところ、下唇腺のルーメンに認められる 2 種の主要タンパク質成分、Lab-b およ

び c と一致する成分が認められた。よって、繊維状物質が下唇腺由来であることが明らかになった。

次に蛹室形成期の下唇腺の腹部以降に位置する部分を用い、Lab-b および c の合成・分泌部位の特定するため形態的に異なる2つの部位を分離し(部位 II および部位 III)、それぞれが合成するタンパク質成分を比較した。その結果、両部位の合成・分泌するタンパク質成分は同じであった。

最後にルーメン内のタンパク質成分の発育に伴う変動を調査すると、5 齢盛食期と蛹室形成期では成分が異なることが明らかになった。そこで両ステージの下唇腺が合成・分泌するタンパク質成分を調査・比較した。その結果、合成・分泌するタンパク質が両ステージの下唇腺では異なり、上記のルーメン内タンパク質成分の違いが合成・分泌の段階で制御されていることが明らかになった。

4. 考察

蛹室形成期の幼虫は口、下唇腺および肛門から様々な成分を放出する。そこで本研究ではまず、蛹室内の繊維状物質が下唇腺の分泌物であることの確認から始めた。その結果 Lab-b および c がエピガラスズメフィブロインの主要構成タンパク質であることが明らかになった。すなわち、これまで不明であった幼虫下唇腺の機能の一つが、繊維状物質(フィブロイン)の合成・分泌であると分かった。しかし、下唇腺ルーメン中には繊維状物質中に認められなかった他の成分も存在する。下唇腺をエタノールに浸しルーメンの内容物を一度固化した後、繊維状物質の場合と同じ方法で内容物を採取・分析すると、繊維

状物質の場合と同様にそれらの成分は検出されないことから、この成分の違いはサンプルの処理方法によると思われる。

蛹室形成期の下唇腺がフィブロインを合成・分泌すること、下唇腺の外部形態や細胞が絹糸腺とよく似ていること等から、下唇腺にも絹糸腺と同様に組織内に機能の分化(分担)が発達している可能性が考えられた。そこで Lab-b および c の下唇腺内における合成部位を調査したが、合成・分泌される成分には部位による違いが無く、絹糸腺のような明確な機能分化は認められなかった。

発育を追って下唇腺ルーメン内のタンパク質成分を調査したところ、5 齢盛食期と蛹室形成期で大きく異なり、さらにこの違いが下唇腺が合成・分泌する成分を反映していることから、両ステージ間では生合成の段階から成分が異なることが示された。これは下唇腺の生理機能の切り替わりを示すだけでなく、絹糸腺にこのような切り替わりが認められないことから、下唇腺と絹糸腺の組織進化を考察する上で重要な知見と思われる。

5. 結論

蛹室内に認められる繊維状物質(フィブロイン)が下唇腺由来であることを明らかにした。次にエピガラスズメフィブロインの合成部位の特定を試みたが、部位による合成成分の違いは認められなかった。発育に伴う下唇腺ルーメン内のタンパク質成分の変化を分析すると、5 齢盛食期と蛹室形成期で異なることが分かった。さらに異なる発育ステージ間のこの成分の違いは合成・分泌されるタンパク質が発育に伴い変化する為であることが明らかになった。