昆虫の成長・変態を制御するしくみ

東原和成*

幼若ホルモンの作用・代謝機構の研究はどこまで進んでいるか

誰をも魅了する昆虫の変態の美しさ。そしてこれを制御する昆虫特有のホルモン、幼若ホルモン。近年、生化学およびバイオテクノロジーの目覚ましい発展により、幼若ホルモンの分子レベルでの作用や代謝機構が明らかに なりつつある。現在、米国を中心に研究の進んでいる最先端の幼若ホルモンの分子生物学、生化学のエッセンスを紹介し、昆虫の変態の神秘に迫る。

昆虫の発育・成長を人為的に制御することは、人類が農耕生活を始めて以来の課題の一つであり、一方でその美しい変態故に多くの昆虫生理学者を魅了してきた。また、実験動物として扱いやすいという点から、昆虫は古くから、遺伝学、発生学、形態学などの基礎生物学分野で広く使われてきた。最近では、合成化学農薬のヒトや家畜などに対する影響が問題となっていることから、昆虫だけに特異的に作用する“農薬”の開発が進められている。その特異性を実現するためにも、昆虫の発育・成長のメカニズムを分子レベルで解明することは大いに役立つと期待される。

昆虫の成長・変態は、主にアラタ体から分泌される幼若ホルモン (juvenile hormone ; JH)、前胸腺からのエクダイソン (ecdysone)、そして脳の神経分泌細胞で作られる前胸腺刺激ホルモン (prothoracicotropic hormone ; PTTH) の3種のホルモンで制御されていることが知られている。PTTHは、その名からわかるように、前胸腺を刺激してエクダイソンを分泌させる作用をもつもので、実際には、エクダイソンとJHが形態形成を司るのに重要なホルモンである。特に、エクダイソンの分子レベルでの作用機構の研究は比較的進んでいるが⁽¹⁾、JHの作用および代謝機構の解明は、その取り扱いの困難さから遅れていた。しかし近年、分子生物学的・生化学的手法の進歩によって、特に米国ではタバコスズメガ幼虫 (tobacco

hornworm ; *Manduca sexta*) を用いた JH の分子レベルでの研究が進んでいる。

筆者は、JH の分子レベルでの研究の最先端をいく3つの研究室、すなわち L. M. Riddiford 教授 (ワシントン大学)、B. D. Hammock 教授 (カリフォルニア大学デービス校)、および G. D. Prestwich 教授 (ニューヨーク州立大学ストーニー・ブルック校) のもとで研究する機会を得たので、本稿では未発表結果を含む最近の研究を紹介したい。なお、JH に関する研究については、最近 Riddiford 教授が総説を書いているので参照していただきたい⁽²⁾。またこれらの成果は、米国立科学基金 (NSF) が上記の3研究室の JH に関する共同研究に対し各研究室年10万ドルに及ぶ助成金で9年間にわたりサポートしてきた結果であるということを付け加えておきたい。ちなみに、助成金の名は、“生物学者と化学者の共同研究を奨励するプログラム”である。

JH の機能

完全変態をする昆虫では、幼虫から蛹、蛹から成虫へと目を見張るような変化がみられ、1930年頃から多くの科学者がこのしくみの解明に取り組んできた。1930年代、Wigglesworth は、昆虫頭部から分泌される変態を阻害する体液因子を発見し⁽³⁾、さらにその因子は成虫生殖腺の成熟にも必要であることを示した⁽⁴⁾。その体液因子が後の JH である。JH は、1967年に Rölller らによって初めて単離同定され⁽⁵⁾、現在までに6種類が見つかっている (図1)。JH は、動物界で知られて

Mechanism of Regulation of Insect Growth and Metamorphosis—Front Line of Research on Juvenile Hormone Action and Metabolism

* Kazushige TOUHARA, 米国デューク大学医学部

図 1 ■ 幼若ホルモンの構造

いるセスキテルペノイド系の唯一のホルモンであり、また節足動物にのみ存在するユニークなホルモンでもある。したがって、JH の作用機作の解明および他のホルモン作用系との分子レベルでの比較は、進化論的にも貴重なデータを提供すると期待される。

昆虫における JH の機能は、形態形成作用 (morphogenetic effect) と生殖腺成熟作用 (reproductive function) の 2 つに大別される。チョ

ウやガなどの鱗翅目昆虫 (Lepidoptera) では、一般にエクダイソンと JH の両方のホルモンが同時に作用すると幼虫脱皮を繰り返す。しかし、終齢幼虫になると JH の血中濃度が急速に下がりはじめ、完全になくなった時点で少量のエクダイソンが分泌されると、幼虫から蛹へのコミットメント (決定) が起こり、もういくら JH にさらされても幼虫に戻らないように条件づけられる (図 2)。それと同時に摂食が止まり、体内の未消化物などが吐き出され、蛹化する場所を探すための行動を行なう (wandering)。その後、大量のエクダイソンが JH とともに分泌され、実際の蛹化が引き起こされる⁽⁶⁾。この時の JH の役割はきわめて重要で、偽成虫になるのを阻害したり、大量のエクダイソンを分泌させるための PTTH 分泌の調節を行なう⁽⁷⁾。一方、成虫では、JH は生殖腺の成熟に必要であり、卵黄形成蛋白質 (vitellogenin) の合成、分泌、および取り込みを促進する^(8,9)。またその他に、社会性昆虫 (シロアリなど) のカースト分化、幼虫休眠の維持、性フェロモン合成の誘起などの作用が知られている。

JH の作用に至るまでの道筋は典型的な内分泌

図 2 ■ 4 齢、終齢幼虫 (*M. sexta*) におけるホルモン、レセプターおよび代謝酵素濃度の変動

血中 JH 結合蛋白質 (hJHBP) は、常に血中 JH 濃度に対して過剰に存在する。大量の JH エステラーゼ (JHE) が終齢 3, 4 日目に分泌され、さらに蛹化直前に出現する。JH レセプター (表皮の核) (JHR) は終齢 1, 2 日目のピークの後、減少し、wandering 期には存在しない。一方、エクダイソンレセプター (EcR) は、wandering 期にピークが見られる (4~5 日目)。

情報伝達系機構に従っており、生合成、分泌、輸送、標的細胞での作用は以下のような。まず JH は、昆虫の内分泌器官の一つであるアラタ体 (corpus allatum) で生合成され、血液 (hemolymph) に分泌される。分泌された JH は、血中を介して標的細胞である脂肪体 (fat body)、表皮 (epidermis)、卵巣 (ovary) などに運ばれ、レセプターを介してその情報が伝達される。つまり、レセプターを介して特定の遺伝子発現の調節が行なわれ、最終的に昆虫の形態変化をもたらすのである。本稿では、JH の作用に関わる JH に特異的な輸送蛋白質 (JH binding protein) とレセプタ

ー (JH receptor), および代謝に関わる 2 つの酵素, すなわちエステラーゼ (JH esterase) とエポキシドヒドロラーゼ (JH epoxide hydrolase) に焦点を絞って述べてみたい。

光アフィニティラベル

ホルモン, 神経伝達物質などの化学物質によって引き起こされる生物現象を細分化し, 蛋白質レベルでの分析を行なう場合, 基質をラジオアイソトープでラベルすることが必要である。特に, リガンドが光学活性体である場合は, エナンチオ選択的合成が必要であり, またできるだけ比放射能 (specific activity) の高いものを作ることが望まれる。1985 年, Prestwich らは, トリチウム (^3H) でラベルした比放射能の高い JH の天然型および非天然型光学活性体 (>95% ee 58 Ci/mmol) を合成することに成功し, 今や世界中で広く用いられている⁽¹⁰⁾。余談であるが, Prestwich 研究室では, Ci レベルの量のアイソトープを含んだ化合物を合成しており, 筆者も 1 Ci もの ^3H を含んだ化合物を反応させた時は手が震えたものである。

さて, 基質に特異的な蛋白質 (レセプター, 代謝酵素など) の同定, 精製, 遺伝子およびアミノ酸配列の決定は, その構造および役割を理解する

上で必要である。その過程で, 上記のラベルされた基質を使って活性を追っていくのが普通であるが, 時にそのアッセイが困難な場合がある。そこで強力な手段としてしばしば使われるのが, アフィニティラベル法である。これによって標的蛋白質を特異的・選択的に化学修飾し同定することができる。光アフィニティラベル法は, 反応性のある基が蛋白質の基質結合部位で光によって活性化されるようにデザインされたものである⁽¹¹⁾。たとえば, azide ($-\text{N}_3$), diazoketone や diazoacetate ($-\text{C}(\text{O})\text{CHN}_2$), diazarin ($\text{N}=\text{N}$) などの基は, 光

によって反応性の高いラジカルに変化し, 基質結合部位に非可逆的に結合する。最近では, benzophenone や benzoyldihydrocinnamyl (BZDC) などの基が比較的成功する確率が高いということよく使われている⁽¹²⁾。

1982 年, Prestwich らは JH の光アフィニティラベルを初めて導入し⁽¹³⁾, それ以来, 様々な種類の昆虫の JH 結合蛋白質の同定などに使用されている (図 3)⁽¹⁴⁾。これらアイソトープでラベルされた JH およびその光アフィニティアナログの合成・応用によって, JH の機作に関わる蛋白質の同定, 精製および遺伝子クローニングの研究が飛躍的に進んだ。それらの成果は最近の Prestwich

図 3 ■ JH の光アフィニティラベルの構造とその標的蛋白質 (a) およびその反応機構 (b)

(a) EBDA: epoxybishomofarnesyl diazoacetate, EHDA: epoxyhomofarnesyl diazoacetate

(b) JH 結合蛋白質など JH に特異的な蛋白質, 酵素などの結合部位で, 光によって出現したラジカルがアミノ酸残基に反応して非可逆的に結合する。

らによる総説に詳しいので参照していただきたい⁽¹⁵⁾.

JH 輸送蛋白質

脊椎動物と同様、昆虫においても、ステロイドやテルペンなどの疎水性ホルモンは、血中結合蛋白質(輸送蛋白質)によって標的細胞に運ばれる。JH に対して親和性の高い血中蛋白質が存在することは、様々な昆虫で知られている。1972年、Whitmore と Gilbert によって JH と結合する高分子量のリポ蛋白質が発見され⁽¹⁶⁾、その後の1974年、Kramer らがタバコスズメガ幼虫の血液から親和性の高い低分子量の蛋白質を同定・精製した⁽¹⁷⁾。そして、血中の大部分の JH は、この親和性の高い蛋白質に結合した形で存在することを示し、Whitmore が見いだしたリポ蛋白質には、JH キャリヤーとしての役割はほとんどないことが示された。この親和性の高い血中 JH 結合蛋白質(hemolymph JH binding protein; hJHBP)は種によって高分子のものと低分子のものに分けられるが、特に鱗翅目(Lepidoptera)の血中に存在する低分子量(30~35 kDa, SDS-PAGE)のhJHBPの研究が進んでいる。hJHBPはJHに対する親和性が非常に高く($K_D=10^{-7}\sim 10^{-8}$ M)、また異性体、juvenoid、JH代謝産物(JH-acid、JH-diol)などに対する親和性が低いことが示され、JHに特異な蛋白質であることが確認された。なお、hJHBPの生化学的特性は、他の総説に詳しいので参照していただきたい^(18,19)。

1982年、Prestwich らはJHの光アフィニティラベルによりゴキブリのJHBPを特異選択的にラベルできることを発表し⁽¹³⁾、それ以降、様々な昆虫のhJHBPの同定に成功している⁽¹⁵⁾。様々な血中蛋白質の中から選択的にラベルできることによって精製が容易になり、これまでに6種類の昆虫のhJHBPのN末端アミノ酸配列が決定されている。また、*M. sexta* と *Heliothis virescens* では、hJHBPの全アミノ酸配列が明らかになっており^(20,21)、一次構造のレベルで50%以上の相同性があり、またコンピューターによる推定上の二次構造ともよく一致している。しかし、既存の蛋

白質アミノ酸配列データベースに相同性のある蛋白質がないことから、新規スーパーファミリーを構成すると思われる。

hJHBPの血中における機能は、①標的組織細胞へJHを運ぶこと、②general esteraseなどの分解酵素からJHを守ること、③non-specificな吸着、取り込みを防ぐこと、などがあると言われている⁽¹⁸⁾。どれも非常にもっともらしいアイディアだが、実のところ実験的にhJHBPの機能を示した例は少数ない。70年代半ば、Sanburg ら⁽²²⁾とHammock ら⁽²³⁾は、JHBPが血中内のnon-specific general esterase 活性から完全にJHを保護し、またランダムな細胞内への取り込みと分解を防ぐことを示した。以上のことから、hJHBPはアラタ体から分泌されたJHの血中濃度の調節に深く関わっていると推察される。残念ながら、70年代にhJHBPに非常に興味を持った人々は、レセプター時代が来ると同時に興味を失い、他の蛋白質へと研究の対象を移してしまった。しかし実は、後述するように、JHエステラーゼが終齢幼虫期に蛹化へのコミットメントを行なうための条件——完全にJHのない状態——をもたらすのにhJHBPが深く関わっていたのである。

JH レセプター

バイオテクノロジーの進歩により過去15年間に、様々なホルモン、神経伝達物質などのレセプターの遺伝子構造、蛋白質構造が明らかになった。そして、基質に特異的なレセプターの構造、機能、その制御を理解することが基質の作用機作の解明につながると考えられるようになった。

さて、レセプターには大きく分けて、細胞表面に存在するもの(β -アドレナリン作動性レセプターなど)⁽²⁴⁾と核内に存在するもの(ステロイドホルモンレセプターなど)⁽²⁵⁾の2つがある。JHはその化学構造から、ステロイドホルモンと同様に容易に膜を通過することができると予想されるので、昔からJHはステロイドホルモンと同じような情報伝達機構をもつのではないかと考えられていた。実際、脂肪体(fat body)、表皮(epidermis)、卵巣(ovary)などJHに反応する組織の

細胞質 (cytosol) や核に、親和性の高い蛋白質があることが様々な昆虫で報告されている⁽²⁾。それが JH レセプター (JHR) であることを証明するためには、血中 JHBP の混入でないことを示し、細胞内で遺伝子発現制御に結びつくものでなければならない。

Riddiford 研究室の Osir は、1988 年に *M. sexta* の表皮の核内に親和性の高い蛋白質があることを示し⁽²⁶⁾、1990 年、後任の Palli らは光アフィニティラベルを使って、実際に JH に特異的に結合する蛋白質 (29 kDa, SDS-PAGE) があることを示した⁽²⁷⁾。さらに、同じ大きさの蛋白質が JH に制御される遺伝子に結合することを示し、初めて親和性以外にレセプターの存在を強く示唆するデータを発表した。そこで、筆者を含めた Prestwich 研究室と、Riddiford 研究室の Palli、比留間潔博士は、この“推定上の” JHR の精製・クローニングに取りかかった。

アプローチとしては 2 つの作戦がとられた。1 つは、JH の情報伝達がステロイドホルモンのそれと似ているという仮定に基づき、さらにレチノイドは化学構造が JH に似ており、いくつかのものは JH 活性を示すという理由から、ヒトレチノイン酸レセプターの cDNA をプローブとしてスクリーニングをするという戦略である。Palli、比留間両博士がそれに取りかかったが、残念ながらクローン化された遺伝子は JHR ではなかった。しかしそれはエクダイソンによって直接に転写が引き起こされるステロイドホルモンレセプターのスーパーファミリーに属するものであることがわかり、これはこれでステロイドホルモンの遺伝子制御を研究する上で興味あるものとなった^(28,29)。

2 つめの方法として、光アフィニティラベルされる 29 kDa の蛋白質を精製し、部分配列から DNA プローブをデザインしようという試みがとられた。Palli と筆者が中心になり、このアプローチに取りかかり見事に成功した。すなわち、表皮 cDNA ライブラリー (終齢 1 日目) から、262 アミノ酸をコードする JHR をクローニングしたのである⁽³⁰⁾。この蛋白質は、JH に対して高い親和性と選択性があり、また抗体を使って核内分布が

確認された。さらに、ノーザンブロットとウェスタンブロットによって、その変動パターンは核内の 29 kDa JHR のパターンとはほぼ一致した⁽³⁰⁾ (図 2)。これらの結果は、ホルモンレセプターとしての基準を満たすものであったが、期待に反してその一次構造は DNA 結合モチーフを含んでいなかった。したがって、明らかにステロイドホルモンレセプターのファミリーでもないし、転写因子のファミリーでもない新しいタイプのレセプターであることが予想される。また、一次構造に RNA ヘリカーゼと相同性のある部分が見つかったので、RNA の合成代謝に関わっているかもしれない⁽²⁾。いずれにしても、今まで単離され研究されているレセプターとは違う機作があると思われる。また、JH の作用性の違いから、卵巣発育に関わるレセプターは他にあると推定される。一方、JH は明らかに膜蛋白質を介した情報伝達にも関わっていることが、いくつかの昆虫で示唆されている^(31,32)。今後の研究が楽しみである。

JH エステラーゼ

血中の JH の濃度は、主に生合成および代謝によって調節されている。つまり、脳からのアラトロピン、アラトヒピン、あるいは神経調節によってアラタ体からの JH の分泌が制御されることに加え、血中内の JH エステラーゼ (JH esterase; JHE) などの代謝酵素の働きによって JH の血中濃度が微妙にコントロールされている (図 4)。特に終齢幼虫では、JH の生合成がストップすると同時に、血中 JHE の濃度が上昇し、血中および組織に残存している少量の JH を取り除く作用が現われる。前述のように、この JH のない状態でエクダイソンが働いて幼虫型の皮膚から蛹型の皮膚へのコミットメントが起こり、幼虫から蛹へと変態することを考えると、JHE は昆虫が正常に変態するために非常に重要な役割をもっていると考えられる (図 2)。

JH を加水分解するエステラーゼには、diisopropylfluorophosphate (DFP) によって活性が阻害される non-specific な general esterase と、

図 4 ■ JH の代謝経路

JHE: JH エステラーゼ, JHEH: JH エポキシドヒドロラーゼ

JH diol phosphate への代謝経路は最近 Schooley らによって明らかにされた (P. Halarikar et al.: *Experientia*, in press, 1993)

DFP によって阻害されない JH に対する特異性の非常に高いエステラーゼ (JHE) がある。general esterase は、hJHBP の存在下では JH を分解することはできないので、ほとんどの JH が hJHBP に結合していると思われる血中では、JH に対する働きは無視できると思われる。一方、JHE は hJHBP に結合している JH も分解できる。また、JHE は JH に対する基質特異性が非常に高く、また触媒活性も高いので、JH の分解のためにのみ存在する酵素であるといえる。1981 年の Coudron らによる JHE の単離にはじまり⁽³³⁾、Hammock らを中心に JHE の昆虫における重要性が確認された。JHE の生化学的特徴などについては、Hammock の総説に詳しいので参照していただきたい⁽³⁴⁾。

生物学においてある蛋白質の機能を理解するには、その蛋白質の働きを特異的に阻害すること、そして逆にその蛋白質のない系に導入してその影響を調べることが有効な手段である。それでは、もし終齢幼虫期に出現する JHE 活性を阻害したらどのような効果がみられるだろうか？ おもしろいことに、有機リン阻害剤や遷移状態類似体で JHE 活性を阻害することによって、終齢幼虫は蛹へのコミットメントに失敗し、巨大幼虫になった⁽³⁵⁾。つまり、阻害剤によって JH が完全

に分解されずに残るので、幼虫はまだ蛹化の時期でないとって食べ続け大きくなったのである。

さて次に、JHE のない若い幼虫に JHE を投与したらどうなるだろうか？ 幼虫脱皮の時に JH には 2 つの臨界期がある。つまり、JH によって幼虫脱皮を行なうように条件づけられた 12~14 時間後にメラニン化の臨界期がある。幼虫脱皮約 30 時間前に血中に通常存在している JH がアラタ体摘出などによってまったく存在しないように条件づけると、脱皮後クチクラ

にメラニンが蓄積し幼虫が黒くなるのである⁽³⁶⁾。この時期に数十ピコグラムの JH が存在するとメラニンの蓄積が起こらないので、JH の有無を知るにはきわめて良い検定方法である。この臨界期に JHE を注射したところ、脱皮後の幼虫にメラニン化がひき起こされた。つまり、JHE は anti-JH の効果をもつことが示されたのである⁽³⁷⁾。

次に Hammock らは、この anti-JH 効果のある JHE を安全な殺虫剤の開発に使えないだろうか考えた。つまり、既存の殺虫剤の多くはヒトや家畜に対する影響があるが、JHE は昆虫だけに特異的に作用するからである。ここで、JHE の“散布”の仲介者として選ばれたのがバキュロウイルス (baculovirus) である。昔からバキュロウイルスは昆虫に特異的なウイルスであることが知られており、害虫防除に使われていたが、その効果の低さのためあまり普及しなかった⁽³⁸⁾。ところが、組換え DNA 技術による JHE “搭載”バキュロウイルスが、野生株のウイルスに比べ幼虫が死に至る期間を短縮したのである⁽³⁹⁾。また、この組換えウイルスに感染した幼虫は、摂食阻害がみられ死に至った。これは新しい世代の殺虫剤の可能性をもつものとして期待されている。その後、昆虫に特異的に働く毒素の DNA を組み込んだバキュロウイルスなどが効果をもつことが示されて

いる⁽⁴⁰⁾。

以上の研究によって、JHE は幼虫が正常に発育するのに不可欠なものであることがわかったが、分子レベルで JHE が hJHBP に結合している JH を分解する機構はまったく謎のままだった。この機構は反応速度論的に2つ考えられる。1つは、hJHBP から解離した JH を JHE がすばやくとらえて分解してしまう場合で、律速段階は JH の hJHBP からの解離となる。もう1つは、JHE と hJHBP との間に蛋白質間相互作用があって、JHE が結合している JH を直接分解するか、JH の hJHBP からの解離を促進してしまうという場合である。筆者らは、*in vitro* の実験で、終齢幼虫の摂食時にみられる hJHBP と JHE の両者が高濃度の存在下では、前者の機構、つまり hJHBP と JHE がそれぞれ独自に JH と相互作用をもつという機構 (mass action) だけでは説明ができず、JHE と hJHBP との間に何らかの相互作用があることを反応速度論的に示した⁽⁴¹⁾。もちろん、JHE は遊離の JH のほうを、結合している JH よりも早く分解できる。

それではなぜ、JH が短時間のうちに分解される必要のある時に hJHBP が高濃度で存在するのであろうか？ (図2)。結論から述べると、もし JHBP がないとほとんどの JH は血中の脂質のかたまり (lipid depot) や組織に吸着され、吸着された JH は JHE によって効率よく分解されない。したがって、general esterase から JH の分解を防ぐ hJHBP は、JHE に対しては JH の分解を防ぐどころか、逆に JHE による JH の完全除去を促進させる役割を果たすと思われる。つまり、hJHBP は JHE の非存在下では、アラタ体から分泌された JH を標的細胞に運ぶが、JHE が分泌されると今度は JHE による JH の分解の手助けをするという2つの役割を果たしているという、今まで考えられなかった作用のあることが示唆された⁽⁴¹⁾。

以上のように、hJHBP は JHE の働きと密接な関係があり、もう一度その機能を細かく調べてみる必要があると思う。特に、幼虫から蛹へのコミットメントの時には JH が血中および組織に存

在しないことが必要であるので、hJHBP の発現を完全にノックアウトしてみた時の幼虫への影響などは興味深いものがある。JHE は昆虫の変態に重要な代謝酵素であり、また昆虫制御にも応用可能なターゲットであるが⁽⁴²⁾、JHE だけでなく、hJHBP やもう1つの代謝酵素、JH エポキシドヒドロラーゼも含めたアプローチが必要であると思われる。

JH エポキシドヒドロラーゼ

JHE と並んで JH を分解する代謝酵素に JH エポキシドヒドロラーゼ (JH epoxide hydrolase ; JHEH) がある (図4)。JHEH によって JH のエポキシド環が開いて不活性な diol が作られる。一般に、JHE に比べて JHEH は活性が弱く、また昆虫によって重要と思われる種とそうでない種があることが知られている⁽³⁴⁾。しかし、JH-acid が methyltransferase によって JH に戻れるのに対し⁽⁴³⁾、いったん JH-diol になるともう JH に戻ることはできないので、ある意味では JHEH は JHE に比べて重要であるかもしれない。歴史的に、JHEH の存在は JHE の発見と同時に示されたが、JHE の研究の進歩に比べて大変遅れをとっている。その理由としては、JHE に比べて活性が低いので、あまり研究者から注目されなかったこと、JHEH は膜酵素であり、また general なエポキシドヒドロラーゼが存在するため精製が難しかったことなどがある。幸運にも、筆者はまったく予期しない方向から JHEH の発見および精製をすることができた。

筆者は、タバコスズメガの卵に非常に高濃度の JH が存在することから、JH レセプターが存在するに違いないと考え、光アフィニティラベルを使って、特異的に結合する蛋白質を探していた。その結果、図5に示したように、50 kDa の JH に特異的な膜蛋白質を発見した。当時は、膜に JH レセプターを発見したと興奮したが、精製してみると10年以上も探し続けられていた JHEH であることがわかった⁽⁴⁴⁾。

JHEH は JH に対する親和性が高く、また最大反応速度 (V_{max}) は JHE よりも低いことが反

図 5 ■ 光アフィニティラベルを使った JH エポキシドヒドロラーゼと JH 結合蛋白質の同定 (フルオログラフィー)

タバコスズメガの卵のホモジェネートを遠心によって分けた。ミクロソーム (M) に 50 kDa JH エポキシドヒドロラーゼ, 細胞質 (C) に 32 kDa JH 結合蛋白質が存在することを [^3H] EHDA (図 3-a) によってラベルすることによって確認した。100 倍の JH II を加えると (+), ラベルされたバンドは完全に消えた。このことは, これらの蛋白質が JH 結合部位で特異的にラベルされたことを示している。

応速度論的解析によって明らかになった。興味深いことに, JH は JH-acid より良い基質であるが, JHBP の存在下では, その違いが逆転した⁽⁴⁵⁾。つまり, JHBP が JH を JHEH による分解から保護し, JHBP に対して親和性の低い JH-acid は保護されずに JHEH によって JH-acid diol に変換されたのである。Schooley らによって, タバコスズメガ幼虫において JH 代謝産物は主に JH-acid および JH-acid diol であることが示されていたが⁽⁴⁶⁾, この事実は筆者の *in vitro* での JHBP の存在下での結果によってよく説明できる。つまり, 細胞内 JHBP の存在下, JHE が JH を加水分解し, その産物 JH-acid が JHEH によって JH-acid diol に変換されたことを示している。

これらの事実は, 少なくとも *M. sexta* においては JHEH は第 2 代謝酵素であることを示しているのと同時に, JH-acid の JH への“リサイクル”を防ぐ最終的なスカベンジャーとしての役割

図 6 ■ JH の作用・代謝経路

cJHE: 細胞質 JH エステラーゼ, cJHBP: 細胞質 JH 結合蛋白質, hJHE: 血中 JH エステラーゼ, mJHEH: ミクロソーム JH エポキシドヒドロラーゼ, JHA: JH-acid, JHD: JH-1 diol, JHAD: JH-acid diol

アラタ体で生合成された JH は血中に分泌され, 血中 JHBP と結合する。代謝酵素のない時は標的細胞に運ばれ, 最終的に核内 JH レセプターと結合し, 遺伝子発現調節を行なう。JH が不必要の時, 血中 JHE によって分解され, さらに細胞内の JHEH によっても分解され不活性な代謝産物へと変換される。

があることを示している。つまり, 終齢幼虫において, JHEH の濃度の変動が JHE のそれとほぼ一致していることもうなづける。しかし, 卵形成における卵内 JHEH と JHE の変動は異なっており⁽⁴⁷⁾, 今後の細かい解析が必要である。

*

現在わかっている JH の情報伝達および代謝機構を図 6 にまとめてみた。今までみてきたように, 昆虫変態および成長に重要な昆虫ホルモンの一つである JH の作用および代謝を司る蛋白質, 酵素の機能が, 分子レベルで明らかになってきている。本稿で述べたことは, 主にタバコスズメガ (*M. sexta*) についてであり, 種によって多少違いが見られる。しかし, 一般的なところは一致しており, JH 研究の分子レベルでの作用機作の概略が少しでもつかめていただけたらと思う。また本稿が, 米国での JH に関する研究の最も新しい研究成果の報告となれば幸いである。

60 年代, 70 年代と勢いを誇ってきた昆虫生理学, 生化学がこの 10 年間, 脊椎動物に比べて遅れをとってきている。米国においては, 昆虫基礎研究に対する助成金が少なくなってきたせいもある。しかし, イノシトール 3 リン酸 (IP₃) 情報伝達, ステロイドホルモンの作用機構, 膜からのエンドサイトーシスなど, 昆虫研究によって発見されたことは多々あり, 基礎研究の対象として見直すべき材料であることは間違いない。もちろん, ショウジョウバエを中心とした発生学の進歩には異論をはさむ余地はない。現在, 昆虫研究を離れている筆者にとって恐縮ではあるが, 今後の昆虫基礎研究の繁栄を望んでいる。

謝辞: 筆をおくにあたり, 御指導いただいた G.D.Prestwich 教授, L.M.Riddiford 教授, B.D.Hammock 教授に感謝いたします。また, 原稿を読み意見を述べていただいた比留間濠博士 (ワシントン大学), 本稿投稿にあたりお世話になった小川智也教授および吉田茂男博士 (理研), 米国留学決断にあたって助言をいただいた森謙治教授, 北原武助教授, 渡辺秀典助手 (東大農化) に感謝いたします。

文献

- 1) A. J. Andres & C. S. Thummel : *Trends Genet.*, **8**, 132 (1992).
- 2) L. M. Riddiford : *Adv. Insect Physiol.*, in press (1994).
- 3) V. B. Wigglesworth : *Q. J. Microscop. Sci.*, **77**, 191 (1934).
- 4) V. B. Wigglesworth : *Q. J. Microscop. Sci.*, **79**, 91 (1936).
- 5) H. Roller, K. H. Dahm, C. C. Sweeley & B. M. Trost : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **6**, 179 (1967).
- 6) L. M. Riddiford : in "Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology", ed. by G. A. Kerkut and L. I. Gilbert, Vol. 8, 1985, p. 37.
- 7) 比留間 濠 : 化学と生物, **21**, 84 (1983).
- 8) J. K. Koeppe, M. Fuchs, T. T. Chen, L. M. Hunt, G. E. Kovalick & T. Briers : in "Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology", ed. by G. A. Kerkut and L. I. Gilbert, Vol. 8, 1985, p. 165.
- 9) G. R. Wyatt & K. G. Davey : *Adv. Insect Physiol.*, in press (1994).
- 10) G. D. Prestwich & C. Warzenczyk : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 5290 (1985).
- 11) J. R. Knowles : *Acc. Chem. Res.*, **5**, 155 (1972).
- 12) R. Breslow : *Acc. Chem. Res.*, **13**, 170 (1980).
- 13) G. D. Prestwich, G. E. Kovalick & J. K. Koeppe : *Biochem Biophys. Res. Commun.*, **107**, 966 (1982).
- 14) G. D. Prestwich : *Science*, **237**, 999 (1987).
- 15) G. D. Prestwich, K. Touhara, L. M. Riddiford & B. D. Hammock : *Insect Biochem. Mol. Biol.*, in press (1994).
- 16) E. Whitmore & L. I. Gilbert : *J. Insect Physiol.*, **18**, 1153 (1972).
- 17) K. J. Kramer, L. L. Sanburg, F. J. Kezdy & J. H. Law :

- Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**, 493 (1974).
- 18) W. G. Goodman & E. S. Chang : in "Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology", ed. by G. A. Kerkut and L. I. Gilbert, Vol. 8, 1985, p. 491.
- 19) J. K. Koeppe & G. E. Kovalick : in "Biochemical Actions of Hormones", ed. by G. Litwack, Vol. 13, 1986, p. 265.
- 20) K. A. Lerro & G. D. Prestwich : *J. Biol. Chem.*, **265**, 19800 (1990); K. Touhara, K. A. Lerro, B. C. Bonning, B. D. Hammock & G. D. Prestwich : *Biochemistry*, **32**, 2068 (1993).
- 21) H. Wojtasek & G. D. Prestwich : *Int. Symp. Mol. Insect Sci.*, Flagstaff, AZ, USA, 1993.
- 22) L. L. Sanburg, K. J. Kramer, F. J. Kezdy, J. H. Law & H. Oberlander : *Nature*, **253**, 266 (1975).
- 23) B. D. Hammock, J. Nowock, W. G. Goodman, V. Stamo-dis & L. I. Gilbert : *Mol. Cell Endocrinol.*, **3**, 167 (1975).
- 24) H. G. Dohlman, J. Thorner, M. G. Caron & R. J. Lefkowitz : *Annu. Rev. Biochem.*, **60**, 653 (1991).
- 25) R. M. Evans : *Science*, **240**, 889 (1988).
- 26) E. O. Osir & L. M. Riddiford : *J. Biol. Chem.*, **263**, 13812 (1988).
- 27) S. R. Palli, E. O. Osir, W.-s. Eng, M. F. Boehm, M. Edwards, P. Kulcsar, I. Ujvary, K. Hiruma, G. D. Prestwich & L. M. Riddiford : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 796 (1990).
- 28) S. R. Palli, L. M. Riddiford & K. Hiruma : *Insect Biochem.*, **21**, 7 (1991).
- 29) S. R. Palli, K. Hiruma & L. M. Riddiford : *Dev. Biol.*, **150**, 306 (1992).
- 30) S. R. Palli, K. Touhara, J. P. Charles, B. C. Bonning, J. K. Atkinson, S. C. Trowell, K. Hiruma, W. G. Goodman, T. Kyriakides, G. D. Prestwich, B. D. Hammock & L. M. Riddiford : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, in press (1994).
- 31) K. Yamamoto, A. Chadarevian & A. Pelligrini : *Science*, **239**, 916 (1988).
- 32) T. T. Ienichuk & K. G. Davey : *Insect Biochem.*, **17**, 1085 (1987).
- 33) T. A. Coudron, P. E. Dunn, H. L. Seballos, R. E. Whareu, L. L. Sanburg & J. H. Law : *Insect Biochem.*, **11**, 453 (1981).
- 34) B. D. Hammock : in "Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology", ed. by G. A. Kerkut and L. I. Gilbert, Vol. 7, 1985, p. 431.
- 35) Y. A. I. Abdel-Aal & B. D. Hammock : *Science*, **233**, 1073 (1986).
- 36) K. Hiruma & L. M. Riddiford : *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, **22**, 103 (1993).
- 37) M. Philpott & B. D. Hammock : *Insect Biochem.*, **20**, 451 (1990).
- 38) 渡部 仁 : "微生物で害虫を防ぐ", 裳華房, 1988, p. 163.
- 39) B. D. Hammock, B. C. Bonning, P. D. Possee, T. N. Hanzlik & S. Haeda : *Nature*, **344**, 458 (1990).
- 40) B. F. McCuthen, P. V. Choudary, R. Crenshaw, D. Mad-dox, S. G. Kamita, N. Palekar, S. Volrath, E. Fowler, B. D. Hammock & S. Maeda : *Biotechnology*, **9**, 848 (1991); M. D. Tomalski & L. K. Miller : *Nature*, **352**, 82 (1991); L. M. D. Stewart, M. Hirst, M. L. Ferber, A. T. Merryweather, P. Cayley & R. D. Possee : *Nature*,

352, 85 (1991).

41) K. Touhara, B. C. Bonning, B. D. Hammock & G. D. Prestwich : manuscript submitted (1994).

42) B. D. Hammock *et al* : *Arch Insect Biochem Physiol.*, 22, 315 (1993)

43) S. P. Sparagana, G. Bhaskaran & P. Barrera : *Arch Insect Biochem. Physiol.*, 2, 191 (1985).

44) K. Touhara & G. D. Prestwich : *J. Biol. Chem.*, 267

19604 (1993).

45) K. Touhara & G. D. Prestwich : *Insect Biochem Mol. Biol.*, in press (1994)

46) P. P. Halarnkar & D. A. Schooley : *Anal Biochem*, 188, 394 (1990).

47) K. Touhara, V. Sorokov & G. D. Prestwich : *Insect Biochem Mol Biol*, in press (1994)

続 サイエнтиスト ゲーム

——若き科学者のための生き残り戦略

カール J. シンダーマン／山崎 昶 訳 四六判／250頁／2200円(税込)

「サイエンティストゲーム—成功への道」に続く、若き科学者の自己啓発のための指針。科学者の世界も1つの社会である。象牙の塔の中での立居振舞いと人間関係の調整、いかにして指導教授とうまくやっていくか、テーマの選択から論文の作成・発表に至る過程の巧みな処理、種々の転機をいかに乗り越えるか、研究費捻出のノウハウ等々。プロを目指す科学者のためのもう1つの科学論。

プロローグ

1. 一人前と呼ばれるまでに
2. 象牙の塔の中での立居振舞い
3. キミは指導教授とうまくやっているか
4. 賢明なる女子大学院生
5. 舞台の上の若手の科学者
6. 舞台裏での若き科学者
7. 若き科学者の小規模の会合

8. 人世の節目を生き残るために

9. 募集を応募

10. 科学の仕事場の特性

11. 科学における知的な取引と妥協

12. 科学のプロフェッショナルファサード

13. 信頼されること

14. 科学者の役割の変化

エピローグ

サイエンティスト ゲーム 成功への道

C.J. シンダーマン／山崎 昶 訳 四六判／300頁／2200円(税込)

著者シンダーマン博士の「若き科学者の自己啓発のためのハンドブック」ともいえるべき三部作の第一作。1990年代に向けてきびしい「科学」の世界でいかにして勝つ残るか。これから科学の社会に進む若き学徒や転機を迎えた科学者各位のための優れた教訓やガイドラインが、著者の長年の経験や調査に裏付けられた洒落なエピソードを含めて語られる。

学会出版センター