

干からびた生物(昆虫)が元どおりに生き返るメカニズムを物質科学の手法で解明 － 水の代替物質トレハロースが鍵を握る生物の極限乾燥耐性の仕組み －

【背景】

生物の体の60～70%は水でできており、水は生命の営みにとって必須な蛋白質、核酸、或いは細胞膜などの構造や機能を維持するのに重要な役割を果たしています。そのため脱水状態になると普通の生物は死んでしまいます。しかし、ネムリユスリカの幼虫はほぼ完全に脱水しても死なずに、乾燥に耐えることができます。もちろん脱水状態ではすべての代謝活動が停止しており、あたかも物質のような状態になっているのですが、再び水を吸うと蘇生するのです。したがって、ネムリユスリカは生物と物質の間を行ったり来たりできると言えます。ここで、大変興味深いことに、ネムリユスリカの幼虫は、乾燥した環境に置かれると、失われていく水に代わってトレハロースという糖を体内に大量に合成・蓄積することが、農業生物資源研究所のグループの以前の研究から分かっていました。

トレハロースは食品や化粧品等の保湿剤などとして広く利用されている非還元二糖です。同糖は、自然界では、ネムリユスリカなど昆虫の血糖である他、きのこ類、酵母、乾燥に強い幾つかの動植物等に含まれています。近年、トレハロースが基礎科学及び工業的見地から脚光を浴びている最大の理由の1つに、同糖が生物の細胞やタンパク質を乾燥から効果的に保護するカギとなる物質であるとの認識が広がっていることがあります。細胞から水が失われるのに伴い、水分子の代わりにトレハロースが細胞膜やタンパク質などの生体物質と結合し(水置換仮説)、そして同時にこの糖がガラス状に固まりこれら生体物質を包み込む(ガラス状態仮説)ことによって、その構造が壊れることを防ぐと考えられています。しかしながら、ネムリユスリカ幼虫のような乾燥耐性能力をもつ動物では、体内のどこにトレハロースを蓄積しているのか、またそれがどのような物理的状态になっているのか、ということは分かっていませんでした。

東京工業大学バイオ研究基盤支援総合センター櫻井研究室では、農業生物資源研究所の乾燥耐性研究ユニット奥田グループと共同で、ネムリユスリカ幼虫の乾燥耐性メカニズムを詳細に解明すべく取り組んできました。今回、乾燥しても蘇生可能なネムリユスリカ幼虫はガラス状態にあり、同時に、体内に蓄積された大量のトレハロースが水の代替物質として細胞等を保護する役割を果たしているとの作業仮説を立て、物質科学の手法により解析を試み、その結果、動物(昆虫)の乾燥耐性メカニズムを解き明かすことに世界で初めて成功しました。

成果の概要は、2008年3月25日に米国科学アカデミー紀要(PNAS;<http://www.pnas.org/>)に、オンラインで公表の予定です。

【成果の概要】

ネムリユスリカ幼虫の脱水スピードを変えることによって、以下に示す2通りの乾燥幼虫を調製し、両者の特性を比較検討しました。特に断りの無い限り、乾燥幼虫の含水率は3%です。

Slow サンプル：常温で相対湿度を段階的に下げることによってゆっくりと乾燥させ、体内に大量のトレハロースを蓄積した幼虫で、常温乾燥にて保存可能です。水に戻せば、1時間程度で蘇生します。

Quick サンプル：常温乾燥にて急速に乾燥させた幼虫です。体内にはトレハロースは蓄積されず、また水

に戻しても蘇生しません。

尚、これら両サンプルのタンパク質及び脂質の含量には有意な差は見られませんでした。これらのサンプルを用いて次の実験を行いました。

- (1) トレハロースが体内のどこに分布するのか明らかにするため、乾燥幼虫の個体全体にわたって分光学的な測定（赤外吸収スペクトル測定）を行いました。得られたスペクトルを画像処理した結果、Slow サンプルでトレハロースは体内に万遍なく分布していることが明らかになりました。一方、Quick サンプルでは、体内の何処にもトレハロースの有意な存在は認められませんでした。
- (2) 物質科学の分野では、対象とする物質がガラス状態であるか否かを調べるために、熱測定がよく行われます。今回、乾燥幼虫を直接熱測定したところ、Slow サンプルは約 65℃以下ではガラス状態であることが分かりました。一方、Quick サンプルでは測定した温度範囲内ではガラス状態にはないことが分かりました。ネムリユスリカの幼虫が生息するアフリカ中部半乾燥地帯の岩盤の表面温度は、日中は 60℃にも達しますが、そのような過酷な環境下でもこの幼虫はガラス状態にあることを示しています。
- (3) 次に、Slow サンプルがガラス状態であることと、それが蘇生可能であることの関係を明確にするため、耐熱試験と吸湿試験を行いました。熱や湿気は、ガラス状態を保持するには不利な条件であることが物質科学の分野でよく知られています。実験の結果、加熱或いは吸湿により幼虫個体のガラス状態を失わせると、体内に大量のトレハロースを蓄積した幼虫でも蘇生できなくなることが分かりました。
- (4) 体内の大量のトレハロースが水の代替物質として細胞等を保護する役割を果たしているか否かを調べるため、Slow 及び Quick サンプルの分光学的な解析を、上記（1）とは別に詳細に行いました。その結果、Slow サンプルでは、トレハロースが細胞膜の表面に結合している可能性を強く示唆する結果を得ました。そこで、その確証を得るため、細胞膜の状態を温度可變的に分光分析したところ、乾燥した状態にあるにも関わらず、Slow サンプルの細胞膜は通常生命活動状態のときと同様に、常温では流動性の高い液晶状態に保たれていることが分かりました。一方、Quick サンプルでは、常温でも細胞膜の流動性は一部失われ、部分的にゲルと呼ばれる固い状態になっていることが分かりました。この結果と上記(1)に述べた結果から、Slow サンプルでは、体内に万遍なく分布したトレハロースが水の代替物質として細胞膜を保護していることが明らかになりました。

以上のように、本研究は、トレハロースという水の代替物質を利用して動物(昆虫)が乾燥をしのぐ物理的な仕組みを世界で初めて明らかにしました。

[今後の展開]

ネムリユスリカに倣って、トレハロースを生物の乾燥保護剤として応用するには、この糖を細胞に自由に出し入れする必要があります。農業生物資源研究所では、すでに、トレハロースを特異的に細胞の内外に輸送する蛋白質の遺伝子をネムリユスリカから単離することに成功しています(平成 19 年 7 月 6 日プレスリリース)。この成果と今回の研究成果を組み合わせれば、細胞等生体組織を生きのまま常温乾燥保存する方法の研究開発や、乾燥に強い作物の作出等を効率的に推進することが可能になり、今後、農業、医療をはじめ幅広い分野でトレハロースの新たな産業利用へ向けた動きが活発になることが期待されます。

【謝辞】

今回の研究は、(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業「ネムリユスリカの極限環境に対する耐性の分子機構の解明(研究代表：奥田隆、平成16年度～20年度)」」で実施されたものです。

【用語解説】

ネムリユスリカ：アフリカ中部に広がる半乾燥地帯にのみ生息するユスリカの一種で、成虫は形態的には蚊に似ているが吸血はしない。幼虫は岩盤の窪み等にできた小さな水溜りで生活する。カラカラに乾燥(含水率3%)しても、水に戻せば1時間程度で蘇生する。通常の遊泳時には幼虫体内には血糖として極わずかのトレハロース(2.5%)しか含まないが、乾燥過程における爆発的な体内合成により最終的には同糖が乾燥体重の約20%を占めるようになる。このため、水に代わってトレハロースが幼虫の細胞膜やタンパク質を乾燥ストレスから保護するものと考えられてきた。

トレハロース：ブドウ糖2分子がそのアルデヒド基末端同士で結合(α 、 α -1,1-グリコシド結合)してできた二糖類である。この糖は非還元性であるため、生体内に高濃度で存在してもタンパク質やアミノ酸と褐変性反応を起こさず、殆ど無害である。トレハロースは、きのこ類、酵母、海老、海藻類に比較的多く含まれ、食品の成分の1つとして古くから人間も摂取してきた。工業的には澱粉を酵素で加水分解して製造され、近年、その商業的な利用も盛んである。

ガラス状態：結晶とは異なり分子や原子が不規則な空間配置を維持したまま固形になった状態を指す。日常目にする窓ガラスはシリコンなど無機物質が”ガラス化した状態”である。バーナー等でガラスを加熱すると、やがて分子や原子の動きが急激に活発になり、ガラスは軟化する。これをガラス転移と言い、その境となる温度をガラス転移温度(T_g)と言う。ガラス細工はこの現象を利用した加工である。近年、トレハロースなどの糖類も温度や湿度等の条件に応じてガラス化することが広く知られるようになった。ガラスには分子などの配列に規則性は要求されないため、細胞膜やタンパク質が共存しても互いに分離することなくトレハロースは固化する。その結果として、ガラス状態のトレハロースによって生体物質がカプセル状に包み込まれると考えられている。

細胞膜の液晶・ゲル：代謝活動が行われている通常の生体では、細胞膜は潤沢な水に覆われて流動性が高く柔軟性をもった構造体である。このときの細胞膜の状態を液晶状態と呼ぶ。乾燥により細胞膜表面の水(結合水)が失われると、細胞膜は柔軟性を失いゲルと呼ばれる固化した状態に変化する。トレハロースによる細胞の保護機構の1つとして、水の代わりに細胞表面に結合することによって細胞膜が液晶状態を維持するとの仮説(水置換仮説)がある。

参考説明図

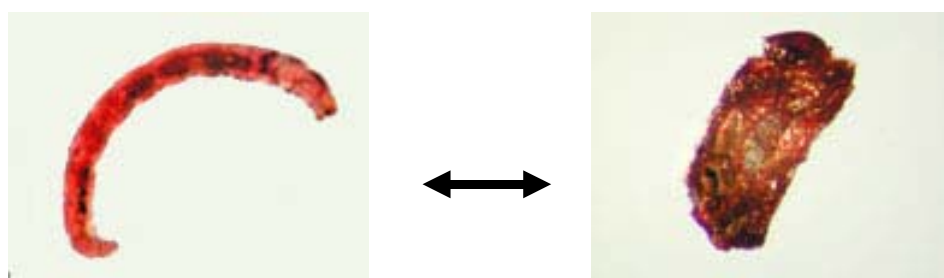


図1 ネムリユスリカの幼虫は、アフリカ中部半乾燥地帯の岩盤の窪みなどにできた小さな水溜りに生息する。乾季になるとカラカラに乾燥して代謝活動が停止するが、雨季になると再び生命活動を開始する。通常の代謝状態では、トレハロースは血糖として微量含まれるだけだが、乾燥に伴い爆発的に体内合成され、最終的には乾燥体重の約20%を占めるまでになる。

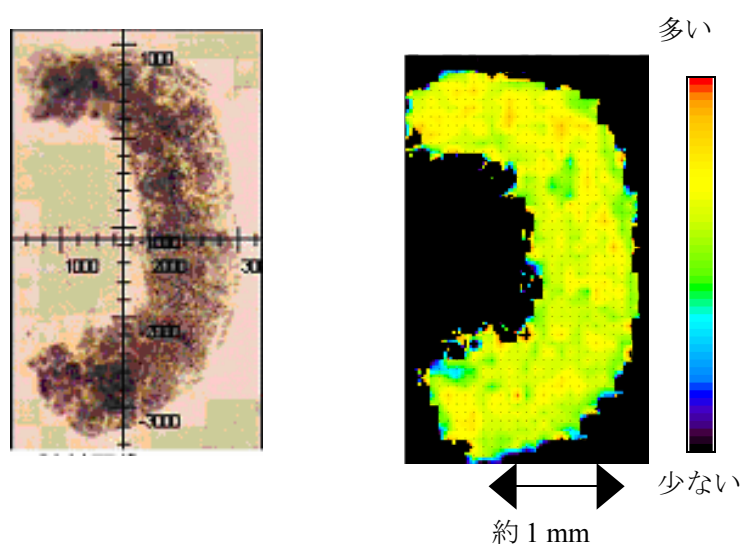


図2 左の図は干からびた幼虫の光学顕微鏡写真。右は、トレハロースが特異的に吸収する赤外領域の光をつかって、幼虫内のトレハロース分布を画像化したもの。乾燥幼虫に含まれる大量のトレハロースは体内に万遍なく分布する。