

# カロテノイド搬送装置の分子機構の解明とその応用

国立感染症研究所・省令室長 土田 耕三

## ■ 目的

カイコには、カロテノイドの中腸での吸収や、体液を介して絹糸腺という絹を作る器官まで搬送するなかで、多種類のカロテノイドのうちルテインのみを選択的に中部絹糸腺に蓄積するメカニズムが存在する。また、カイコにはカロテノイドの搬送経路の一部や複数個所に現れる突然変異体があり、それらの遺伝子座が多数同定されている。申請者は、カイコを用いて、カロテノイドの生体内搬送、特にルテイン選択的輸送の起こる仕組みの解明を行った。そこで申請者は、これまで知られているカイコの繭色を支配する遺伝子座を包括的に同定し、生体内カロテノイド搬送を支配する分子機構を網羅することで、物質の選択的取り込みや取り込み量を規定しているマシナリーの解明を大きく進めることにした。

## ■ 方法

ポジショナルクローニングによる繭色遺伝子(*C* 遺伝子)の同定

SNP マーカーを用いたポジショナルクローニングによって *C* 遺伝子の座位する領域を絞り込む。

絞り込んだゲノム領域に存在する遺伝子について、*C* と  $+^c$  の対立遺伝子間での配列あるいは発現の違いを、ノーザンブロッティング、シークエンスなどで調べ、*C* の候補遺伝子配列を得る。

最終的に同定した遺伝子をトランスジェニックの手法で導入し、表現型の復帰が起こるかどうかが検討する。

## ■ 結果および考察

*C* 遺伝子は第 12 染色体上、375kb に狭めることができた。この範囲には、哺乳類の HDL レセプターとして機能する、スカベンジャーレセプタークラス B タイプ I (SR-BI) に相同の遺伝子が 2 つ (*Cameo1* と *Cameo2*) 存在することがわかり、この 2 つの遺伝子が、*C* 遺伝子の有力な候補であると判断した。

*C* 系統から *Cameo1* と *Cameo2* の塩基配列を決定した。*Cameo1* と *Cameo2* はそれぞれ 11,10 エクソンからなり、120kb の長さを持つ遺伝子であった。塩基配列から想像されるアミノ酸配列から、*Cameo1* は 495 アミノ酸からなる 56.2kDa、*Cameo2* は 494 アミノ酸からなる 56.0kDa のタンパク質であることがわかった。両者の発現解析を行ったところ、*Cameo2* の発現は  $+^c$  系統の中部絹糸腺において抑制されていた。この結果は、中部絹糸腺における *Cameo2* の発現は、*C* 系統のみで起こっており、 $+^c$  系統では発現を抑制する機構が存在することが想像された。黄色の体液を持ち白色繭を作る系統に、*Cameo2* 遺伝子を導入したところ、中部絹糸腺にルテインが選択的に取り込まれ、黄色い繭に復帰することが分かった。

以上の結果から、中部絹糸腺においてルテインの取り込みを支配する *C* 遺伝子は *Cameo2* をコードすることが明らかとなった。餌に含まれているルテインは中腸の内腔から *Cameo2* の働きで中腸細胞に吸収され、中腸細胞内の CBP に結合し細胞質内を搬送される。そして、細胞から体液のリポホリンにルテインが受け渡され、リポホリンは中部絹糸腺に達すると細胞膜のレセプターに結合する。このレセプターは *Cameo2* そのものと考えられる。ルテインは、細胞膜トランスポーターを介して細胞内に取り込まれ、細胞内の CBP に結合して中部絹糸腺細胞質内を搬送される。これによって中部絹糸腺は黄色くなり、黄色の繭を作るようになる。*Cameo2* に突然変異が起こった場合、中部絹糸腺のルテイン取り込みに支障が現れ、白い繭を作るようになる。

## ■ 結語

以上のように本研究において、ルテインの選択的搬送が 1) 細胞質内カロテノイド搬送タンパク質 CBP と 2) 細胞膜表面のカロテノイド搬送タンパク質 *Cameo2*、の協調した働きによって起こっていることを示した。