

2024年3月15日

本件の取り扱いについては、下記の解禁時間以降でお願い申し上げます。

TV・ラジオ・WEB … 日本時間 2024年3月18日(月)午前9時1分  
新聞 … 日本時間 2024年3月18日(月)夕刊

## 日本固有のホタル「ゲンジボタル」の全ゲノム解析を達成！ ～ホタルの発光周期の謎を解き明かすカギとなる成果～

### ■ 概要

日本固有種のゲンジボタルは生息地域によって発光周期が異なります。発光周期の違いの要因を明らかにするには、ゲンジボタルの発光に関連する遺伝子の情報が必要になります。しかしながら、ゲンジボタルの全ゲノム配列は解読されておらず、発光関連遺伝子の構造や特徴はわかっていませんでした。

鹿児島大学大学院理工学研究科の加藤太郎准教授と情報・システム研究機構データサイエンス共同利用基盤施設の野口英樹特任教授の研究グループは、情報システム研究機構国立遺伝学研究所の藤山秋佐夫特命教授および豊田敦特任教授、東京ホタル会議の鈴木浩文博士、佐賀大学総合分析実験センターの永野幸生准教授、神戸大学大学院理学研究科の塚本寿夫准教授、産業技術総合研究所の丹羽一樹主任研究員らとの共同研究において、世界で初めてゲンジボタルの全ゲノム解読を達成し解析を行いました。

今回の解析で、ゲンジボタル体内には既知の発光酵素「ルシフェラーゼ<sup>(1)</sup>」の他にも、微弱ながら発光活性を示し、ルシフェラーゼと構造の似た「ルシフェラーゼ様タンパク質」が複数存在していることを突き止めました。また、その他の発光関連遺伝子のゲノム構造やその遺伝的背景の一端も明らかにすることができました。

本成果によって、ホタルの発光周期制御の仕組みおよびゲンジボタルを含めたホタルの起源にも迫る事が期待できます。

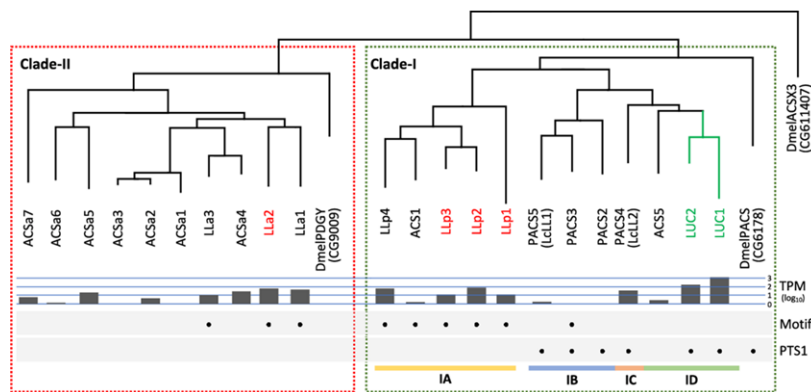


図: 今回の研究で新たに見出した、発光器にて遺伝子が発現し、かつ既知のルシフェラーゼと相同性を示すルシフェラーゼ様タンパク質(LLp1~4, LLa1~3)と、既存のルシフェラーゼとの系統関係を示した図。既知のルシフェラーゼ (LUC1, LUC2)は緑文字で、新たに微弱ながら発光活性を示すことが分かったルシフェラーゼ様タンパク質 (LLa2, LLp1, LLp2, LLp3)を赤文字で示している。緑枠と赤枠で囲まれたタンパク質は別々のクレード<sup>(2)</sup>に分類される。発光器での遺伝子発現量を模式的に表したものが TPM であり、それぞれのタンパク質がホタルルシフェラーゼ様モチーフ(Motif)や PTS1 配列を持っている場合に黒丸を付けている。発光活性を示した LLa2 はホタルルシフェラーゼ様モチーフを持ちながら、既存ルシフェラーゼと別のクレードに分類され、かつ PTS1 配列を持っていない新しいタイプの発光タンパク質であることが明らかとなった。

## ■ 成果掲載誌

本研究成果は、国際科学雑誌「DNA Research」に 2024 年 3 月 18 日(日本時間)に掲載されます。

論文タイトル: Genome assembly of Genji firefly (*Nipponoluciola cruciata*) reveals novel luciferase-like luminescent proteins without peroxisome targeting signal  
(ゲンジボタルのゲノムアセンブリからのペルオキシソーム標的シグナルを持たない新規ルシフェラーゼ様発光タンパク質の発見)

著者: Kentaro Fukuta, Dai-ichiro Kato, Juri Maeda, Atsuhiko Tsuruta, Hirobumi Suzuki, Yukio Nagano, Hisao Tsukamoto, Kazuki Niwa, Makoto Terauchi, Atsushi Toyoda, Asao Fujiyama and Hideki Noguchi  
(福多賢太郎、加藤太一郎、前田樹里、鶴田篤弘、鈴木浩文、永野幸生、塚本寿夫、丹羽一樹、寺内真、豊田敦、藤山秋佐夫、野口英樹)

DOI: 10.1093/dnares/dsae006

## ■ 研究の詳細

### ● 研究の背景

ホタルは、甲虫目ホタル科に分類される昆虫で、世界でおよそ 2,800 種、日本にも 50 種以上が生息しています。古くは日本書紀にもホタルの生物発光に関する記述がみられます。その中でもゲンジボタル (学名 *Nipponoluciola cruciata*) は日本固有種として、昔から日本人に最も親しまれてきた光る生き物の代表格です。

ゲンジボタルと一口に言っても地域によって性質が異なり、日本各地に生息するゲンジボタルの発光周期にはいわゆる地理的「方言」があることが知られています。特に、新潟-長野-静岡にまたがる中部山岳地域 (フォッサマグナ地帯) を境として、発光周期が短周期型 (2 秒西日本型) と長周期型 (4 秒東日本型) の 2 つに大別されます。これまでの私たちの研究で、この発光周期の違いと部分ゲノムレベルでの DNA 配列変化 (変異) には関連があることを見出していました。しかしながら、より詳細に発光周期と DNA 配列変化の関連を知るために必要な全ゲノム配列の決定と、その配列を用いた発光関連遺伝子のゲノム構造やその遺伝的背景を詳細に調べた研究はこれまでありませんでした。

### ● 本研究の成果

今回、著者らは、西日本型 (短周期型) のゲンジボタルのオスの全ゲノム配列を決定し、662 Mb の高品質ゲノムアセンブリ<sup>(3)</sup>を構築しました。またその全ゲノム配列の中に 15,169 個のタンパク質をコードする遺伝子を同定しました。これらの情報を基に発光関連遺伝子 (ルシフェラーゼ、チオエステラーゼ<sup>(4)</sup>、オプシン<sup>(5)</sup>) のゲノム構造やその遺伝的背景の一端の解明を試みました。

発光酵素ルシフェラーゼに関連しては、発光器にて遺伝子が発現し、かつ既知のルシフェラーゼと相同性を示すルシフェラーゼ様タンパク質を新たに 7 つ (LLp1~4, LLa1~3) 同定することができ、このうち 4 つが非常に微弱ながら生物発光活性を示すことを確認しました (図)。興味深いことにこれらの遺伝子は、既知のルシフェラーゼとは異なり、ミトコンドリアに局在するアシル-CoA 合成酵素を祖先に持つタンパク質であることがわかったのです。このタンパク質のホタル体内での本来の機能はまだ分かりませんが、発光酵素の祖先をめぐる研究に新た

な視点を与える発見です。

その他、D-ルシフェリンの生合成に関与するチオエステラーゼが発光器に発現していることを確かめると共に、光を感知するために必要なオプシンタンパク質も 2 種検出され、それらはホタルのルシフェラーゼが発する波長域の光を効率よく検出できるようになっていることを実験的に確認しました。

## ● 今後の期待

ゲンジボタルの発光周期は 2 つに大別されます。その発光周期の違いには遺伝子配列の違いが関与しているはずですが、今回の研究によって得られた西日本型のオスのゲノム配列を参考配列とすることで日本全国に生息するゲンジボタルのゲノム配列の再解析が容易に実施できるようになり、日本全国の各地域に生息する個体のゲノム全域にわたる遺伝子配列の違い(SNP<sub>s</sub>)の全貌を詳細に比較できるようになります。

また、配列解析の結果を統合することで、ゲンジボタルが日本各地にどのように進出していったのかという進化の経路を特定することも可能になります。

一方、近年では人為的なゲンジボタルの移出入による地域固有のゲンジボタルの遺伝子攪乱が危惧され、様々なゲンジボタル保全活動が行われています。今回の研究成果がゲノム情報を利用した科学的エビデンスに基づいたゲンジボタルの保全活動にも貢献できると期待しています。

## ■ 用語解説

### (1) ルシフェラーゼ

ホタルの発光反応を進める触媒としての機能を果たす酵素タンパク質のこと。発光時には発光基質である D-ルシフェリンが酸化されオキシルシフェリンに化学変換されるが、ルシフェラーゼがないとこの反応がスムーズに進まない。また酵素タンパク質はアミノ酸が多数つながってできており(ルシフェラーゼの場合は 550 個ほどのアミノ酸からなる)、そのアミノ酸の種類や順番が変わることで、発光の効率や色が変化する。

### (2) クレード

進化の過程で共通の祖先タンパク質から進化したと考えられるタンパク質の集まりのこと。分類学や分子系統学で重要な概念で、タンパク質間の類縁関係を理解する時に役立つ。

### (3) ゲノムアセンブリ

ホタルの細胞にあるゲノム DNA は高分子量であるためそのままでは配列情報を読み取ることができない。そこでゲノム解読では、細胞から取り出した DNA を一旦細かく断片化してから DNA 配列をシーケンサーにて読み取る。その DNA 配列の短い断片を繋げて元の高分子量のゲノム配列を復元するデータ処理のことをゲノムアセンブリと呼ぶ。

### (4) チオエステラーゼ

発光基質である D-ルシフェリンはホタル体内で合成されている。その生合成に関わる酵素タンパク質としてチオエステラーゼが重要な役割を果たしていると考えられている。具体的にはホタル体内では一旦 L-ルシフェリンという発光しない物質が合成され、それが立体反転を起こすことで発光する D-ルシフェリンが生成される。ルシフェリンはその過程でルシフェリル-CoA という中間体に変換されるが、チオエステラーゼはルシフェリル-CoA を加水分解しルシフェリンに戻す働きをする。

## (5) オプシン

オプシンは光を感知するタンパク質であり、検出することのできる光の波長域によっていくつかの種類がある。ホタル内には紫外光と可視光を検出できると予想されるオプシンタンパク質が存在している。

### ■ 研究体制と支援

本研究は、JSPS 科学研究費基盤研究 C (18K05320、26410185)、新学術領域研究ゲノム支援(221S0002)、およびデータサイエンス共同利用基盤施設公募型共同研究 ROIS-DS-JOINT (001RP2019、008RP2021)によって支援されました。

### ■ 問い合わせ先

<研究に関すること>

- 情報・システム研究機構 データサイエンス共同利用基盤施設 ゲノムデータ解析支援センター  
特任教授 野口 英樹 (のぐち ひでき)
  
- 鹿児島大学 大学院理工学研究科 理学専攻 化学プログラム  
准教授 加藤 太郎 (かとう だいいちろう)

<報道担当>

- 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 リサーチ・アドミニストレーター室 広報チーム
  
- 鹿児島大学 広報室
  
- 情報・システム研究機構 本部広報室

※Zoom 会議での取材にも対応できますので、Zoom 会議をご希望の場合には、その旨お知らせください。

配付先

文部科学記者会、科学記者会、三島記者クラブなど