

2020年12月2日

中部大学

長浜バイオ大学

鹿児島大学

科学技術振興機構 (JST)

1億年前のホタルの光を再現

— 現代に甦らせた原初のホタルの光は深い緑色だった —

【ポイント】

- ・ホタルが地球上に現れた約1億年前（白亜紀）の発光の再現に成功。
- ・1億年前のホタルがもっていた発光酵素（ルシフェラーゼ）を、計算科学と遺伝子工学により推定復元させた。
- ・復元したルシフェラーゼを発光物質（ルシフェリン）と反応させたところ、現在見られるゲンジボタルやヘイケボタルの黄緑色の発光とは異なる、深い緑色の発光が再現された。
- ・深い緑色の発光には、外敵に対する防御のための効果があったと考えられる。
- ・本成果は、失われた過去の光景の一部を現実に甦らせた世界最初の報告である。

【研究の概要】

中部大学応用生物学部の大場裕一教授と、長浜バイオ大学バイオサイエンス学部の白井剛教授、鹿児島大学大学院理工学研究科の加藤太郎 助教らは共同で、計算科学と分子生物学的手法を駆使し、世界で初めて白亜紀の最初のホタルの発光の再現に成功しました（写真、図1）。今回の成果は日本時間12月3日（木）午前4時、米国科学振興協会（AAAS）が発行する科学誌サイエンス・アドバンス（電子版）に掲載されます。

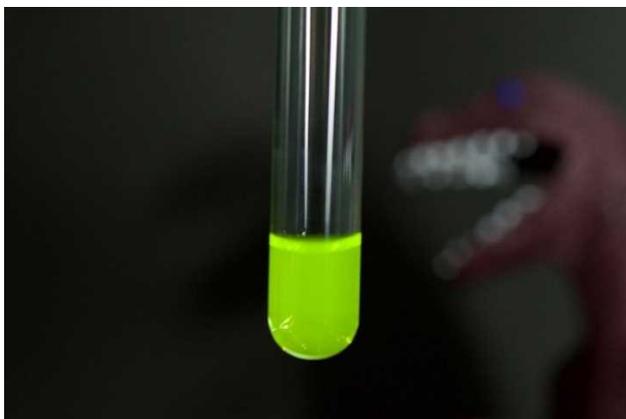


写真 実験室で再現した白亜紀のホタルの発光

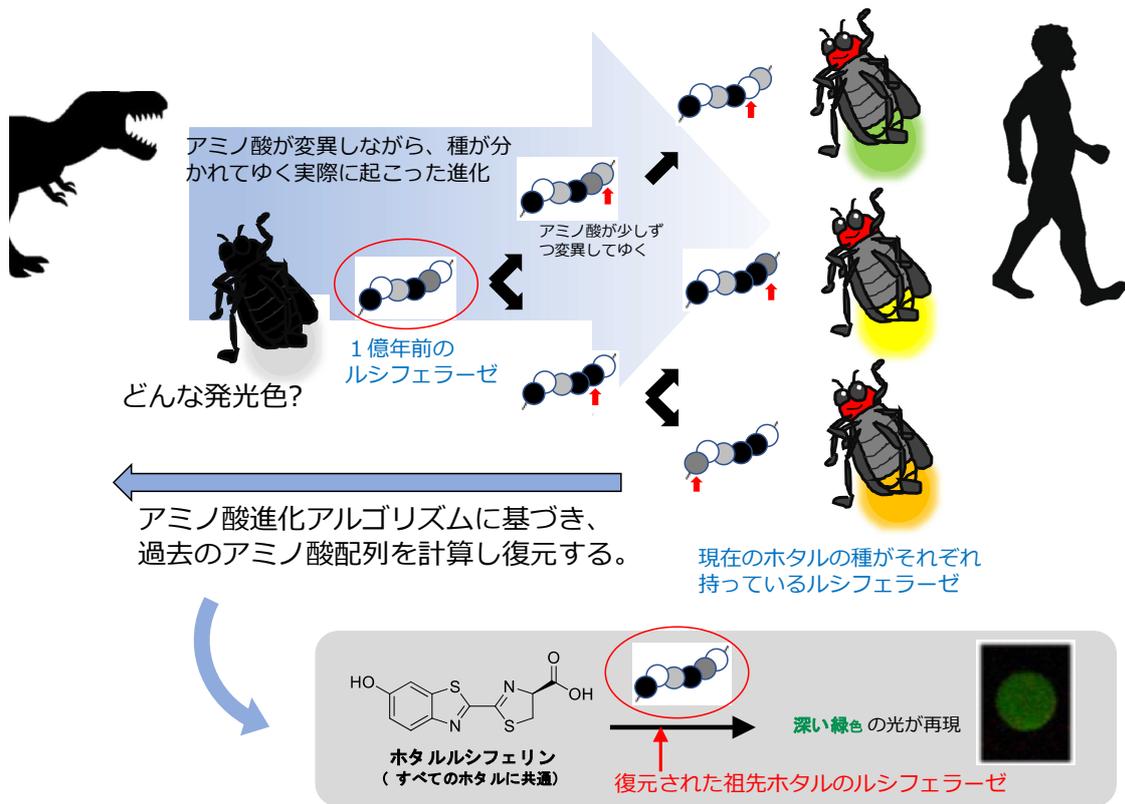


図1 ホタルの発光の進化と復元実験のイメージ

背景：ホタルの仲間（ホタル科）は、世界に約 2000 種が知られており、その発光の色も緑色から黄緑色、黄色、オレンジ色と、種によってさまざまです。ホタル科の昆虫は、約 1 億年前ころに地球上に現れ、そのときにはすでに発光する能力を持っていたと考えられます。ただし、化石記録などからは当時どのような発光色で発光していたのかはわかりません。

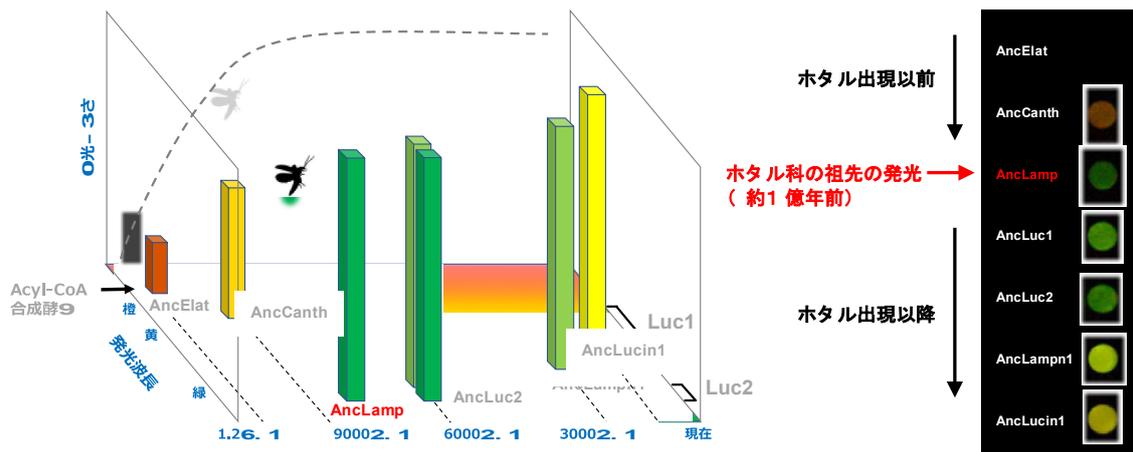
方法：我々が注目したのは、「祖先配列復元」という推論的解析に基づいて過去の遺伝子を復元する手法です。進化生物学では以前から使われている方法で、これまでも古代のヘモグロビンやホルモン受容体などのタンパク質が復元され、失われた過去を知る重要なテクニックとして認められています。しかし、これまでの祖先配列復元では、直接目で見えるような現象が復元されたことはありません。

ホタルの発光は、「ホタルルシフェラーゼ」という発光酵素による「ホタルルシフェリン」という化学物質の酸化反応です。このとき、ホタルルシフェリンはホタルの種すべてに共通の物質なので、発光の色はルシフェラーゼのアミノ酸配列の違いによって決まることがわかっていました。また、ホタルルシフェラーゼは、「光を使って生命を調べる」バイオテクノロジーや基礎医学の世界でとても有用なツールです。そのため、これまでにいろいろな種のホタルのルシフェラーゼ遺伝子が調べられており、正確な祖先配列復元に用いるための遺伝子情報量がとりわけ整っていました。このことから、私たちはホタルのルシフェ

ラーゼを祖先配列復元すれば、古代のホタルの光を再現できることに気が付き、これにチャレンジしてみたのです。

結果：復元されたホタルの最初の祖先が持っていたルシフェラーゼ配列を復元し、配列情報に基づきルシフェラーゼタンパク質を作製しました。これにホタルルシフェリンを加えたところ、深い緑色の強い発光が観測されました。さらに、最初のホタルが出現するより以前の配列を復元したところ、発光は非常に弱く、発光色は赤色でした。また、最初のホタルが出現した以降の様々な時代のホタルルシフェラーゼを復元したところ、深い緑から黄色まで幅広い発光色が確認されました。すなわち、「ホタルの仲間は、弱く赤い光を持った祖先の昆虫から進化し、最初に現れたホタルは深い緑色に光っていた。その後、進化の過程で種が分かれて行く中で少しずつ発光色の異なるホタルが現れてきた」（図2）という一連の進化のシナリオが明らかになったのです。

さらに、復元されたルシフェラーゼのX線結晶解析を行ったところ、古代のルシフェラーゼがどのような構造的メカニズムで緑色に光っていたのかが明らかになりました。



地球上にホタルが現れる1億年より以前（**ホタル出現以前**）は、その祖先は赤色に弱く発光していたが、最初のホタル（ホタル科）が現れた時は深い緑色（**AncLamp**）に強く発光するように進化が起こった。その後（**ホタル出現以降**）、緑色～黄緑色～黄色～橙色のいろいろな発光色のホタルが進化した。



参考画像：ミャンマーから発見された約1億年前のホタルの琥珀化石
尾端に発光器があるのがわかるが、当然ながらその発光の色は化石には残っていない。
（画像提供：モスクワ昆虫センター・カザンチェフ博士）

図2 発光の進化。最初は赤くて弱い光だった、それから多様な色彩の発光へ

【研究成果の意義】

過去を目撃すること、つまりタイムマシンは、SF や映画に繰り返し取り上げられる主題であり、人類の最大の夢のひとつと言ってもよいでしょう。ただし、古代の生物の姿を直接的に見ることができるものは、現在のところ化石しかありません。しかし、当然ながら化石

に封じ込められた生物には、当時の生物の行動や色彩は記録されていません。

今回、私たちは、部分的ではありますが、古代のホタルの発光という過去の光景をカラーで蘇らせることに初めて成功したと考えています。つまり、私たちの今回の研究の意義は、なによりも「古代のワンシーンを蘇らせることを実験的に可能であることを示した」点にあると言えます。

それだけではありません。今回の成果は、ホタルがなぜ発光する能力を獲得したのか、そしてホタルの祖先がなぜ発光したのかについての深い洞察を与えてくれます。ホタルのルシフェラーゼは「アシル CoA 合成酵素」という生物に普遍的な機能を持った酵素から進化したことがわかっていますが、今回の実験の結果、進化の過程でアシル CoA 合成酵素の機能を失いながら、それと入れ替わる形で発光能力が進化したことが確かめられました。これは、「新しい機能を持った酵素はどのようなプロセスで進化するのか」という、タンパク質の進化に関する大きな命題に対する明確な答えだと言えます。

また、ホタルは毒を持っていて不味い味がすることが知られています。このことから、ホタルの発光の一次的な意義は、敵に対する警告、つまり「不味いから食べるな！」というアピールであると考えられています。このことは、ホタルの最初の祖先は緑色に光っていたという我々の今回の結果でよく説明できます。緑色の光は、そのころのホタルの敵であったと考えられる夜行性動物（当時の我々の祖先である原始哺乳類や小型恐竜の仲間など）を含め多くの夜行性捕食者が最もよく見える色です。したがって、緑色で光ることは、相手に見てもらうには都合がよいのです。その後、発光を雌雄コミュニケーションに使うホタルが進化したことで、ホタルの光の色は、黄緑色、黄色、オレンジ色など、多彩になって行ったと考えられます。今回の結果は、この仮説も実証することができました。

今回の成果は、応用面でも重要です。祖先ルシフェラーゼの詳細なX線構造解析を行った結果、どのアミノ酸が発光色に関わっているのか、どのようなアミノ酸変化が発光色のシフトをもたらすのかについての重要な知見が多く得られました。これは、バイオツールとして幅広く利用されているホタルルシフェラーゼを人工的に改良する際に、今後極めて有用な情報となるでしょう。すなわち、進化プロセスを模倣したルシフェラーゼのデザインへの応用が大いに期待されます。

なお、本研究は、日本学術振興会科学研究費 JP17H01818（白井）、JP20H03002（大場）、日本医療研究開発機構（AMED）創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム JP19am0101111（白井）、科学技術推進機構（JST）戦略的創造研究推進事業チーム型研究（CREST）JPMJCR16N1（大場）の支援を受けて実施されました。

【論文情報】

掲載誌： Science Advances（米国科学振興協会 AAAS 発行）

タイトル：Resurrecting the ancient glow of the fireflies（邦訳：古代のホタルの光を呼び戻す）



中部大学



国立大学法人
鹿児島大学
KAGOSHIMA UNIVERSITY



著者：大場 裕一（おおば ゆういち）1,*、小西 花織（こにし かおり）1,2、矢野 大地（やの だいち）1、柴田 英介（しばた ひでゆき）3、加藤 太一郎（かとう だいいちろう）3、白井 剛（しらい つよし）4,*（*印は連絡著者）

1. 中部大学応用生物学部、2. 名古屋大学大学院生命農学研究科、3. 鹿児島大学大学院理工学研究科、4. 長浜バイオ大学バイオサイエンス学部

DOI : 10.1126/sciadv.abc5705

報道解禁：日本時間 2020 年 12 月 3 日午前 4 時 00 分

【本研究に関するお問い合わせ】

中部大学 応用生物学部

教授 大場 裕一（おおば ゆういち）

E-mail: yoba@isc.chubu.ac.jp

TEL: 0568-51-9332（直通）

Mobile: 090-4194-8201

長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部

教授 白井 剛（しらい つよし）

E-mail: t_shirai@nagahama-i-bio.ac.jp

TEL: 0749-64-8117

鹿児島大学 大学院理工学研究科

助教 加藤 太一郎（かとう だいいちろう）

E-mail: kato@sci.kagoshima-u.ac.jp

TEL: 099-285-8112

【JST 事業に関すること】

科学技術振興機構（JST） 戦略研究推進部 グリーンイノベーショングループ

嶋林 ゆう子（しまばやし ゆうこ）

Tel : 03-3512-3531 Fax : 03-3222-2066

E-mail : crest@jst.go.jp

【報道担当】

中部大学 学園広報部 広報課

Tel. 0568-51-7638

E-mail: cuinfo@office.chubu.ac.jp



中部大学



長浜バイオ大学
Nagahama Institute of Bio-Science and Technology



国立大学法人
鹿児島大学
KAGOSHIMA UNIVERSITY



長浜バイオ大学 アドミッション・オフィス 広報担当

Tel : 0749-64-8100

E-mail : kouhou@nagahama-i-bio. ac. jp

国立大学法人 鹿児島大学 広報センター

Tel : 099-285-7035

E-mail : sbunsho@kuas. kagoshima-u. ac. jp

科学技術振興機構 (JST) 広報課

Tel : 03-5214-8404 Fax : 03-5214-8432

E-mail : jstkoho@jst. go. jp

用語解説

1 祖先配列復元：失われた過去の遺伝子情報を計算科学的に復元する方法のこと。今回は、最尤法というアルゴリズムを援用してこれを実施した。これは、現在生きている生物の持つ遺伝子情報が、アミノ酸（または塩基配列）の進化モデルに基づいたときもっともうまく説明する進化経路を解析する方法で、この解析結果から過去の遺伝子配列が選り出されることになる。

2 ルシフェラーゼ/ルシフェリン：ルシフェラーゼは、発光生物の発光反応に使われる酵素の総称。したがって、異なる生物分類群のルシフェラーゼは、基本的にアミノ酸配列に類似性は見られない。そのため、ホタルのルシフェラーゼには「ホタルルシフェラーゼ」、ウミホタルのルシフェラーゼには「ウミホタルルシフェラーゼ」のように頭に生物名をつけて区別する。ルシフェリンも同様、発光生物の発光反応の基質の総称であり、生物分類群が異なればルシフェリンも異なるのが通常である。ホタルは全て同じルシフェリン物質を使っており、他と区別するときは「ホタルルシフェリン」と呼ばれる。

3 白亜紀：約1億4500万年前から6600万年前までの間のこと。その前のジュラ紀と並んで恐竜が最も繁栄した時代である。白亜紀の主な恐竜にティラノサウルス、トリケラトプス、プテラノドンなどがある。このころにホタルの最初の祖先が出現し、白亜紀の森で発光していたと推測され、実際このころの琥珀化石から発光器を持ったホタルの化石がミャンマーから見つかっている。なお、映画ドラえものの最新作『のび太の新恐竜』の中で、タイムマシンで白亜紀を訪れたドラえもんたちは森の中でホタルに遭遇するが、そのホタルたちは「正しく」緑色に発光していた。