

機関番号：82401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21770029

研究課題名 (和文) 共生細菌が昆虫に賦与する植物適応の生理・分子機構

研究課題名 (英文) Physiological and molecular mechanisms underlying symbiont-mediated plant adaptation of the insect.

研究代表者

土田 努 (TSUCHIDA TSUTOMU)

独立行政法人理化学研究所・松本分子昆虫学研究室・基礎科学特別研究員

研究者番号：60513398

研究成果の概要 (和文)：

エンドウヒゲナガアブラムシの寄主植物適応が共生細菌 *Regiella* の感染によって変化するという現象の機構を明らかにするために解析を行った。機器分析や共生細菌の体内動態の結果、本現象は、植物ごとに大きく異なる師管液のアミノ酸組成と、それによって影響を受けた共生細菌の複雑な相互作用によって生じていることが示唆された。また、*Regiella* のソラマメヒゲナガアブラムシへの移植実験を行った結果、これまで餌として利用できなかったシロツメクサへの適応能が上昇することが示された。

研究成果の概要 (英文)：

I examined the mechanisms underlying host plant adaptation of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* governed by an endosymbiotic bacterium *Regiella*. Analyses suggested that this phenomena was caused by 1) different amino acids composition between host plants, and 2) complex biological interactions between *Regiella* and essential symbiont *Buchnera* those were influenced by amino acids composition of the host plant. It was also revealed that transplant of *Regiella* symbiont improved adaptation of the vetch aphid *Megoura crassicauda* on the white clover.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：植物適応、共生微生物、アブラムシ

## 1. 研究開始当初の背景

植食性昆虫は、どんな植物でも餌にできるわけではなく、むしろごく限られた植物しか利用できない。寄主植物特異性として知られ

る本性質は、昆虫の食べ物や生活場所を規定するだけでなく、植物上で相互作用する他の生物にも影響を及ぼす、きわめて重要な生態的性質である。そのような状況で、私は先行

研究で大規模な分子生態学的調査や実験室内での厳密な操作実験を駆使した解析を行い、エンドウヒゲナガアブラムシは共生細菌 *Regiella* に感染することによりシロツメクサ特異的に産仔数が増加し、その結果、好適な寄主植物範囲が拡大するという、従来の常識を覆す発見を世界に先駆けて示した。これまでに、人工飼料を用いた栄養生理学的解析やトレーサー実験により、餌中に必須アミノ酸が少ない場合、*Regiella* 感染によって、体内で可決アミノ酸から合成される必須アミノ酸量が有意に増加することが示されてきた。

野外に生息する様々なアブラムシ種を対象にした感染状況の包括的調査や人工感染実験の結果から、*Regiella* のような任意共生細菌は、比較的最近の水平感染によって、様々な系統のアブラムシにその宿主範囲を拡大していることが、系統学的解析等から示唆されている。このような特定の餌資源の利用をつかさどる共生細菌の感染がほかの昆虫種に拡大すると、これまで利用することができなかった餌資源の利用能や、すでに餌である資源をより効率的に利用する性質も同時に拡大し、新たな能力を持った昆虫が生じること予想される。例えば、本来は無害な昆虫が、共生微生物を獲得することで、農作物の害虫になるといったことが起こり得ることになる。しかし、これまでに、共生細菌の水平感染によって、宿主昆虫に新たな餌資源の利用能が賦与された例は報告されていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究課題では、共生細菌 *Regiella* によって賦与される植物適応現象にかかわる生理・分子機構を明らかにすることを目的として、1) 植物師管液のアミノ酸組成の解析、2) 寄主植物適応と共生細菌の存在量の関係性、3) 植物適応に関与する共生細菌ならびに宿主アブラムシ遺伝子発現を解析する。さらに、エンドウヒゲナガアブラムシの共生細菌 *Regiella* を他種アブラムシに移植することで、共生細菌が水平感染することによる植物適応への影響を解析し、生態系における *Regiella* の役割を進化生態学的に解析した。

## 3. 研究の方法

本研究課題では、以下の項目に取り組んだ。

### (1) 本種アブラムシが生涯唯一の餌とする植物師管液のアミノ酸組成

本現象には、アブラムシが唯一の餌として利用する植物師管液の成分の関与が期待される。そこで、*Regiella* 感染によって適応度が賦与されるシロツメクサと、適応度上昇がそれほど観察されなかったカラスノエンド

ウの師管液組成の比較を行った。師管液の採取方法としては、スタイレクトミー法と EDTA 法の二通りを用いた。

### (2) 寄主植物適応と共生細菌の存在量の関係性の解析

餌中のアミノ酸組成が共生細菌の存在量に大きく影響していることが、他種アブラムシ等で報告されている(文献 1)。エンドウヒゲナガアブラムシ体内には、任意共生細菌 *Regiella* の他に、宿主の生存・繁殖に必須の共生細菌 *Buchnera* が存在しており、餌中のアミノ酸組成変化に伴う両細菌の増殖や局在、両者の相互作用が、シロツメクサ特異的な適応に大きく関与していることが予想される。共生細菌が賦与する植物適応という現象が、*Regiella* のどのような宿主体内での動態や、宿主や必須の共生細菌 *Buchnera* との相互作用によって成立しているのかを推定する。*Regiella* が適応度効果を賦与する植物と賦与しない植物上で、2 種類の共生細菌がどのような時空間動態を示すのかを、定量 PCR 法を用いて解析した。

### (3) シロツメクサ適応に関与する共生細菌遺伝子や宿主アブラムシの発現活性解析

本項目では、*Regiella* 感染虫がシロツメクサ特異的に宿主適応度を増大するメカニズムについて、*Regiella* および同一宿主体内に存在する *Buchnera*、そして宿主アブラムシの遺伝子発現変化に着目した。*Buchnera* ゲノムについては、2000 年に公表され、また宿主であるエンドウヒゲナガアブラムシの概要ゲノム配列については、2010 年に公表された。*Regiella* ゲノムについては、公表されていなかったため、共同研究者とともに本課題と同時並行して解析を進めた。

### (4) 共生細菌 *Regiella* の異種間移植による植物適応への影響の解析

微小注入法を用いて、エンドウヒゲナガアブラムシの体液中に存在する共生細菌 *Regiella* を、異なる場所から採集した 3 系統のソラマメヒゲナガアブラムシに移植した。移植した *Regiella* の新宿主での感染の安定性と、寄主植物適応に与える影響を解析した。

## 4. 研究成果

### (1) 本種アブラムシが生涯唯一の餌とする植物師管液のアミノ酸組成

純粋な師管液の採取のために、師管液を吸汁中のアブラムシの口針をレーザー等で切除し、滲み出てきた師管液を集めるという方法(スタイレクトミー法)を試みた。幾度にもわたる試行錯誤にも関わらず、本法によつ

て対象植物からの師管液を十分量採集することはできなかった。そこで、師管液成分の正確な濃度は分からないものの、その組成の正確さについては実績のある師管液抽出法（EDTA 法）を代用した。対象植物の茎を切断し、切断面をバッファー中に浸すことで得た師管液抽出液を高速液体クロマトグラフィーで解析した。その結果、両植物種のアミノ酸組成は大きく異なっており、シロツメクサでは多くの必須アミノ酸が特に少なく、逆に可決アミノ酸が多い傾向にあることが示された。以上の結果から、シロツメクサを餌にした際にのみ *Regiella* 感染が適応度効果を示す理由として、師管液の特殊なアミノ酸が影響を与えていることが示唆された。

#### (2) 寄主植物適応と共生細菌の存在量の関係性の解析

植物適応が共生細菌のどのような体内動態によって生じるのかを定量 PCR によって解析した。その結果、*Regiella* に感染すると、カラスノエンドウを餌にしたとき必須の共生細菌 *Buchnera* の存在量が著しく減少するのに対し、シロツメクサを餌にした場合はほとんど減少しないという結果が観察された。この結果は、*Regiella* 感染による植物適応は、*Regiella* 単体の機能によって賦与されているわけではなく、共存する必須の共生細菌 *Buchnera* との複雑な相互作用によって生じていることを示唆する。すなわちカラスノエンドウでは *Regiella* による正の効果と *Buchnera* 減少による負の効果で適応度への影響が相殺されてしまうのに対し、シロツメクサでは悪影響が生じないため、結果としてシロツメクサ特異的な適応度効果が観察されるのではないかと考えられた。

#### (3) シロツメクサ適応に関与する共生細菌遺伝子や宿主アブラムシの発現活性解析

本課題では DNA マイクロアレイを用いてアブラムシならびに共生細菌の遺伝子発現についての解析を予定した。そこで、公表されていない *Regiella* ゲノムの解析を共同研究者とともにこなしたが、その配列を得ることはできなかった。そこで、急速に発達した次世代シーケンサーを活用し、RNA-seq を用いた解析に着手している。

#### (4) 共生細菌 *Regiella* の異種間移植による植物適応への影響の解析

微小注入法によって異種であるソラマメヒゲナガアブラムシへと移植された *Regiella* は、すべての系統において親から仔へと安定に垂直感染して、移植後 70 世代経った後でも共生細菌 *Regiella* の感染率は 100%であった。このことは、ソラマメヒゲナガアブラムシが *Regiella* の潜在的な宿主であり、少なく

とも特定の環境下では *Regiella* の感染は安定して維持され、子孫へ綿々と伝えられていくことを意味している。

シロツメクサ上で *Regiella* を移植していないソラマメヒゲナガアブラムシを飼育したところ、80%は移行後 2 日以内に死亡した。系統によっては、成虫まで生き延びた虫がわずかに現れたが、ごく少数の仔を産んだ後に死亡した。一方、*Regiella* を移植したソラマメヒゲナガアブラムシでは、3 系統のうち 2 系統で、シロツメクサ上での生存期間が有意に延長し、成虫での生存期間が伸びたことで産仔数も増加した。

これらの結果は、ソラマメヒゲナガアブラムシが、エンドウヒゲナガアブラムシからの共生細菌移植によって、これまで餌として利用できなかった植物上での生存や繁殖が可能になるという、植物適応を獲得したことを示している。

この研究成果は、害虫防除の観点からも重要な“昆虫の植物適応”という性質が、共生細菌の感染によって生物種を超えて伝播し得ることを世界ではじめて実証したものであり、自然界における植物と昆虫の関係や、食性の進化、新興害虫の起源などの解釈に新たな観点を与えるものである。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Tsuchida, T., Koga, R., Matsumoto, S., Fukatsu, T. (2010) “Interspecific symbiont transfection confers a novel ecological trait to the recipient insect.”, *Biology Letters* in press.

② Koga R., Tsuchida T., Fukatsu T. (2009) “Quenching autofluorescence of insect tissues for In situ detection of endosymbionts” *Applied Entomology and Zoology* 44: 281-291、査読有り

[学会発表] (計 4 件)

① 土田 努 “アブラムシ共生微生物が物質循環に果たす多彩な役割” 有機農業研究者会議 2010, つくば市, 2010 年 11 月 4 日

② 佐々木 宏和, 土田 努, 坪井 裕理, 近山 英輔, 松本 正吾, 菊地 淳 “日本各地の自然環境下における植物—昆虫—共生細菌間相互作用に介在する化学物質と昆虫遺伝形質の共相関解析”, 日本農芸化学会 2010 年度大会,

東京大学安田講堂, 2010年3月29日

③ 土田 努, 佐々木 宏和, 坪井 裕理, 近山英輔, 菊地 淳, 松本 正吾, “Landsphere Ecomics: Correlation analysis between hemicals and insect genetic traits involved in plant-insect-symbiont interactions.” 基幹研—横浜研連携フォーラム, 理研横浜植物センター, 2010年2月9日

④ 佐々木 宏和, 土田 努, 坪井 裕理, 近山英輔, 菊地 淳 “陸圏エコミクス研究の始動: 植物—昆虫—共生細菌間相互作用に介在する化学物質と昆虫遺伝形質の共相関解析”, 第4回メタボロームシンポジウム, 横浜市立横浜サイエンスフロンティア高等学校, 2009年11月18~19日

〔図書〕(計1件)

① 土田 努, 古賀 隆一 (2010) . “昆虫細胞内共生細菌—その機能と応用”, 難培養性微生物研究の最新技術II—ゲノム解析を中心とした最前線と将来展望— (大熊盛也, 工藤俊章監修) pp.220-230.

〔その他〕

プレスリリース

① 土田 努 (理化学研究所)、古賀隆一 (産業技術総合研究所) “共生細菌の異種間移植で、アブラムシが新たな性質を獲得—これまで利用できなかった餌植物上での生存、繁殖が可能な体質に変化—”

2010 年 9 月 29 日

( <http://www.riken.go.jp/r-world/info/release/press/2010/100929/index.html> )

アウトリーチ活動

① 土田 努 “「昆虫の秘密 vs 光合成の実力」だから科学は面白い”, サイエンスカフェ ~ みらい倶楽部 ~ Vol. 3 日本未来科学館, 2010年1月11日

総説

① 土田 努, 古賀 隆一 (2009) "アブラムシの環境適応に共生細菌が果たす多彩な役割" *昆虫と自然* 44: 13-16

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

土田 努 (TSUCHIDA TSUTOMU)

独立行政法人理化学研究所・松本分子昆虫学研究室・基礎科学特別研究員

研究者番号: 60513398