

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：82111

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19351

研究課題名（和文）性比を巡る宿主と共生細菌との攻防：クサカゲロウにおける検証

研究課題名（英文）Arms race between hosts and symbionts over sex ratio

研究代表者

陰山 大輔（Kageyama, Daisuke）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・上級研究員

研究者番号：60401212

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：有性生殖種の多くは性比1:1だが、節足動物では時おり共生細菌が宿主の性比を雌に偏らせる。カオマダラクサカゲロウでは、スピロプラズマによる雄殺しによって性比が雌に偏っていたが、後に雄殺し抵抗性遺伝子が固定し性比が正常化した。その後、抵抗性遺伝子に関係なく雄殺しを起こす新規スピロプラズマ「ハイパー株」が発見されたが、各集団中にはごく低頻度に留まっている。スピロプラズマ感染率が年々減少していることが福山集団で確認された。ゲノム解析からハイパー株は従来株から派生したことが示された。また、ボルバキアによる細胞質選択的スイープを含め、日本列島におけるカオマダラクサカゲロウ遺伝構造の大枠が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今まであまり注目されてこなかったが、理論的に予測されていた核と細胞質との間の性比を巡る進化的軍拡競争をリアルタイムで観測するという取り組みは、生物の進化における普遍的ではあるはずだが今まで可視化されてこなかった具体的なモデルケースとなる。また、集団遺伝構造についても新たな発見があり、細胞内共生微生物の重要性を再認識させるものとなった。また天敵昆虫であるクサカゲロウについての新たな側面が明らかになったことから、農業上の応用利用といった文脈においても考慮すべき重要な視点を提供できた。

研究成果の概要（英文）：Most of the sexually reproducing organisms tend to have a 1:1 sex ratio, but in arthropods, symbiotic bacteria can sometimes skew the sex ratio toward females. In the lacewing *Mallada desjardinsi*, a strongly female-biased sex ratio induced by *Spiroplasma* was converted to a normal 1:1 sex ratio by fixation of a suppressor gene. Subsequently, a “hyper” strain of *Spiroplasma* was discovered that induces male killing regardless of the presence of suppressors, but whose frequency remains low in each population. In the Fukuyama population, the infection frequency of *Spiroplasma* decreased continuously each year. Genome analysis showed that the hyper strains are derived from the original strains of *Spiroplasma*. We also revealed the genetic structure of *M. desjardinsi*, including a selective sweep of the cytoplasm, probably due to *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility.

研究分野：進化生物学

キーワード：進化的軍拡競争

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

有性生殖する多くの生物種では性比が1:1であり、それが適応的であるとされる。ところが節足動物では、細胞質に寄生する細菌が宿主の性比をメスに偏らせる場合が知られる。カオマダラクサカゲロウ(以下クサカゲロウ)では、細胞内共生細菌スピロプラズマが宿主に対し雄殺しを引き起こすことで、集団性比が極端にメスに偏っていた。しかし数年後には、クサカゲロウ側の雄殺し抵抗性遺伝子が集団中に固定し、集団の性比が正常化したことを発見した。更にその後、宿主の持つ遺伝的抵抗性の影響を受けずに雄殺しを引き起こす新規スピロプラズマ株が見つかった。

2. 研究の目的

2019~21年に日本全国を調査したところ、クサカゲロウ集団内で雄殺しに対する抵抗性遺伝子が固定しているにもかかわらず、ごく一部のスピロプラズマ感染系統において雄殺しが生じていた。交配実験により数世代にわたり抵抗性遺伝子を導入し続けても、このスピロプラズマ感染系統では雄殺しが生じた。この新規スピロプラズマ「ハイパー株」に着目し、クサカゲロウとスピロプラズマ両者のあいだで繰り広げられる進化動態の一端をとらえることを目的とした。

3. 研究の方法

遺伝的抵抗性を保持するクサカゲロウに対しても雄殺しを引き起こすハイパー株は、2019年に広島県福山市で発見された。同様に、父島(小笠原諸島)と石垣島(八重山諸島)でも雄殺しが生じる系統が発見されていた。

母島系統および石垣島系統の交配実験

これらの雄殺しが生じる系統に、雄殺しに対する遺伝的抵抗性を保持する系統(すなわちスピロプラズマに感染し性比1:1で産出する系統)を3世代にわたり掛け合わせ、抵抗性遺伝子を導入し各家族(子ども)の性比を計測した。

広島県福山市等での野外サンプリング

ハイパー株が発見された福山市を中心に、クサカゲロウを採集した。野外で獲たメス成虫を個別に飼育し産卵させ、子どもを成虫まで育てて性別を確認した。各ブルードの性比を計測するとともに、PCRにより採集メスのスピロプラズマ感染の有無を調べた。

共生細菌探索と単感染系統の作成

雄殺しが生じていた系統のDNAを用いて16Sアンプリコン解析を行い、雄殺し因子を調査した。その結果、雄殺しが生じていた各系統では、スピロプラズマだけでなくリケッチアやボルバキアの重複感染も認められた。フィルターによる分離相の移植および抗生物質処理により各細菌の単感染系統を作成し、宿主に及ぼす影響を調べた。

新たに発見された雄殺し系統

2023年に行った福山市での調査において、雄殺しが生じるスピロプラズマ感染系統を発見した。このスピロプラズマが遺伝的抵抗性を打破する株かどうかを検証した。

スピロプラズマとクサカゲロウの分子解析

多地点で採集したクサカゲロウに感染するスピロプラズマのオリジナル株およびハイパー株について、*spo T* 遺伝子を解析し比較した。一部のオリジナル株およびハイパー株については、NGS解析を行いゲノムの比較を試みた。また、クサカゲロウのミトコンドリアについてはCOI領域を解析・比較し、核遺伝子はGRAS-Di解析を行いその多様性を検証した。

4. 研究成果

母島系統と石垣島系統も遺伝的抵抗性の効かない細菌株に感染

スピロプラズマに感染し雄殺しが生じていた系統に、性比1:1で産出する抵抗性系統を交配させたところ、3系統すべてにおいて雄殺しが生じ続けた(図1)。つまり、宿主個体の遺伝的背景を抵抗性に置換しても雄殺しが発現したことから、これらのスピロプラズマは宿主の遺伝的抵抗性を打破しオスを殺すハイパー株であることが示唆された。

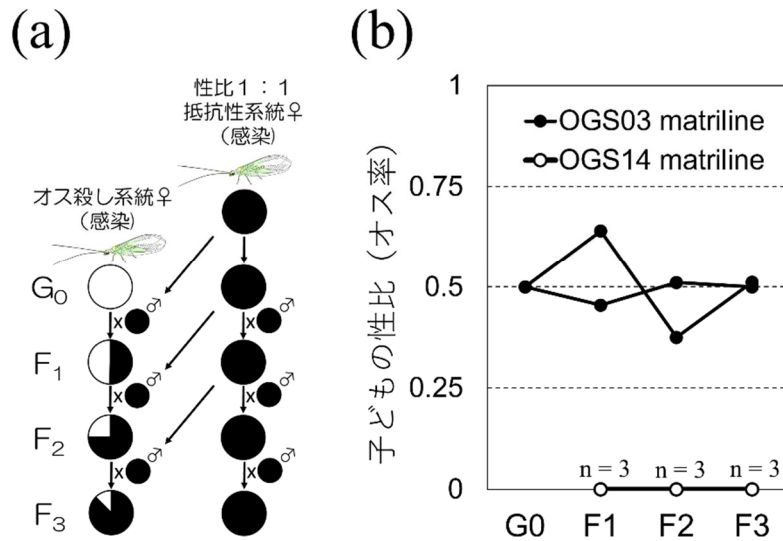


図1 交配実験のイメージ (a), および実験結果の一例 (b). OGS03 は小笠原諸島父島で採集した性比 1 : 1 で産出するスピロプラズマ感染系統であり, OGS14 は雄殺しが生じていた系統. OGS14 系統のメスに OGS03 のオスを 3 世代交配させたところ, 全ての家族でオスが産出されなかった.

経年データ収集

福山市のクサカゲロウ集団では、2019 年に抵抗性打破株に感染した 1 個体が発見された後は、2022 年まではオス殺しが生じている系統は見出されなかった。2023 年の調査では、スピロプラズマに感染しオス殺しが生じている系統がひとつだけ発見された (FK172)。また、クサカゲロウ集団のスピロプラズマ感染率が減少しつつあることがわかった (表 1)。クサカゲロウに感染するスピロプラズマの垂直伝播 (母から子への感染拡大) は完璧ではなく、稀に脱落することがわかっている。今後長期的には、オリジナル株感染率が更に落ちていけると同時に、抵抗性打破株の感染が徐々に広がっていくと予測される。

表 1 広島県福山市で採集したメスの細菌感染状況および集団性比

Year	Infection rate of females			F1 pooled sex (male) ratio
	<i>Spiroplasma</i>	<i>Rickettsia</i>	<i>Wolbachia</i>	
2019	0.568	0.977	NA	0.478
2020	0.424	0.909	NA	0.452
2021	0.370	0.926	0.148	0.488
2022	0.275	1.000	0.300	0.504
2023	0.350	0.950	0.250	0.487

雄殺し因子の確認

福山市、父島、石垣島で採集された雄殺しが生じている系統には、そのすべてにリケッチアが感染していた。また、石垣島の系統のみボルバキアの重複感染が認められた。これら系統のメス個体にテトラサイクリン塩酸塩を混ぜたハチミツ水を飲ませたのち、オス個体と交配させ子どもを得た。これらの個体を内系交配させ、その子どもの性比を見たのち、感染状況を確認した。スピロプラズマのみが除去されリケッチアやボルバキアのみが感染した家族では、性比が 1 : 1 に戻った。さらに、スピロプラズマを単離し別個体に注入したところ、雄殺しが発現した。これらの結果から、スピロプラズマが雄殺しを引き起こしていることが確認された。

2023 年にみつかった雄殺し系統 (FK172) はハイパー株に感染

FK172 系統に上記方法と同様に雄殺し抵抗性遺伝子を導入しても雄殺しが発現し続けたことから、ハイパー株に感染していることが示唆された。福山市のクサカゲロウ集団では、2019 年に抵抗性打破株に感染した 1 個体が発見された後は、2022 年まではオス殺しが生じている系統は

見出されていなかった。今後ハイパー株が宿主集団中に広がっていくのかどうか調査を継続する必要がある。

ハイパー株の由来

分子マーカー（*spo T* 遺伝子）によりオリジナル株とハイパー株を比較したところ、両者は配列が完全に一致した。このことから、ハイパー株はオリジナル株と全く異なる系統がクサカゲロウ集団に感染したわけではなく、オリジナル株から派生した系統であると考えられた。一方、NGS解析によるゲノム比較の結果、ハイパー株は同一クラスターにまとまらず単一系統から分岐したのではないことが明らかとなった。ハイパー株はそれぞれ独立に抵抗性を打破する形質を獲得した可能性が考えられる。

クサカゲロウの分子系統解析

ミトコンドリア（COI 領域）を比較したところ、南西諸島（沖縄本島および石垣島）と本州その他地域（福山市など本州の複数地点、隠岐島、対馬、八丈島、小笠原諸島など）で分岐した。一方、核遺伝子の多様性について GRAS-Di 解析を行ったところ、石垣島の個体は他地域の個体とは大きく遺伝的組成が異なり、沖縄本島の個体は本州その他地域の集団と類似する結果となった。南西諸島では、本州その他地域と異なり、ボルバキアに 100%の個体が感染しており、クサカゲロウに対し細胞質不和合を引き起こすことが交配実験により明らかとなった。これらのことから、沖縄本島の集団では、過去にボルバキアによる細胞質の選択的スイープが起きたことを示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 陰山大輔
2. 発表標題 昆虫の細胞内に共生する細菌を利用した農業害虫のコントロールについて
3. 学会等名 日本農業学会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 陰山大輔
2. 発表標題 共生細菌による昆虫の性操作 - メカニズムの多様性とその進化的意義について
3. 学会等名 染色体学会第74回年会公開講演会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 陰山大輔
2. 発表標題 Utilization of intracellular symbionts - an approach to control agricultural insect pests
3. 学会等名 ISol2023, Kuchin, Malaysia（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hornett EA, Reynolds LA, Kageyama D, Hurst GDD
2. 発表標題 How many ways can you rescue a male?
3. 学会等名 Wolbachia2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 林正幸・長峯啓佑・横山拓彦・陰山大輔
2. 発表標題 クサカゲロウとオス殺し細菌の進化的攻防：逆襲のスピロプラズマ
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会（摂南大学）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 陰山大輔
2. 発表標題 昆虫の細胞質寄生因子が引き起こすオス殺し：その意義、多様性、起源、波及効果について
3. 学会等名 ERATO深津シンポジウム「延長された表現型の機構解明」（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 陰山大輔
2. 発表標題 細胞質寄生因子による昆虫の性操作～オス殺しの起源、普遍性、影響力について～
3. 学会等名 第18回共生進化機構先端セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	林 正幸 (Hayashi Masayuki) (80837609)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・植物防疫研究部門・主任研究員 (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	リバプール大学			