

令和元年6月20日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08106

研究課題名(和文) 宿主の減数分裂に影響を与える共生細菌の存在を実証する

研究課題名(英文) Endosymbiotic bacteria that affect host meiosis

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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：昆虫の共生細菌ボルバキアは、様々な方法で自分の都合のいいように宿主昆虫の生殖を操作しているが、本研究により、全く新しい生殖操作のタイプが存在することがわかった。ボルバキア系統 wFem に感染されたキタキチョウは、オスと交配して、メスのみの子孫を残すが、これらメスの性染色体構成が Z0 であることが明らかになった。また、ボルバキアは宿主に働きかけ、Z染色体の母系伝達を阻害していることが示された。さらなる状況証拠から、ボルバキアは母方のZ染色体を完全に分解消化しているという可能性が浮上した。生殖や共生についての包括的な理解や害虫制御技術への基礎的貢献につながる成果である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、今まで全く知られていなかった方法で微生物が昆虫の生殖システムを操作していることが明らかとなった。ボルバキアとよばれる細菌が、昆虫の性決定に影響を与えるだけでなく、性染色体の遺伝を妨げていることを示すことができた。さらにその仕組みとして、状況証拠をもとに、メスの減数分裂期に性染色体をまるごと消失させているという仮説を提示することができた。この成果は、発生学、進化生物学に新たな光を当てるだけでなく、生物の人工制御の可能性を予感させる内容であり、基礎的に重要なものである。

研究成果の概要(英文)：Wolbachia is known to manipulate the insect hosts by various ways for their own benefit. Our study revealed a novel type of host manipulation by Wolbachia. Female *Eurema mandarina* butterflies infected with Wolbachia strain wFem produce all-female offspring by crossing with males. These offspring females, as well as their mothers, were revealed to have Z0 karyotype (sex chromosome constitution). Wolbachia was found to disrupt the maternal inheritance of Z chromosomes. Circumstantial evidence support the possibility that Wolbachia digests maternal Z chromosome during female meiosis. These results can lead to the better understanding of reproduction and endosymbiosis and basic contribution to future pest management strategies.

研究分野：進化生物学

キーワード：ボルバキア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

数多くの昆虫の細胞内に存在し、宿主の生殖を様々な方法で操作していることで知られる共生細菌ボルバキアが、キチョウの雌における減数分裂を歪めているという現象が明らかになりつつある。細胞内共生微生物が宿主の減数分裂を歪める可能性については英国の理論家 Laurence Hurst によって 25 年ほど前から指摘されてはいたが、今まで全く実例がなかった現象である。

2. 研究の目的

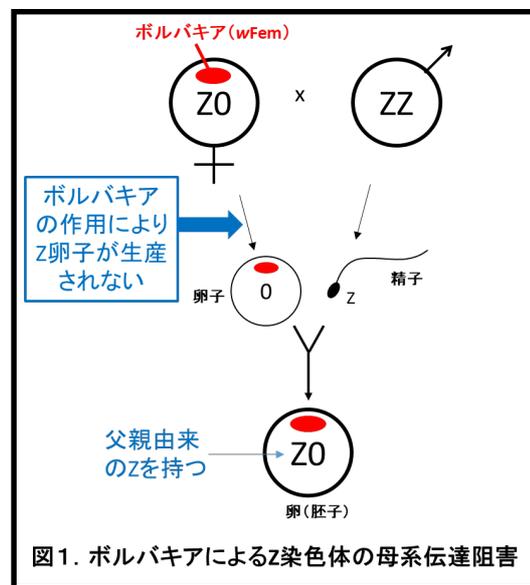
共生細菌ボルバキアが雌宿主の減数分裂を歪めているという、この注目すべき現象を分子レベル、染色体レベル、表現型レベルで詳細に理解するとともに、そのメカニズムを深いレベルで明らかにすることにより、生殖や共生についてのより包括的な理解や害虫制御技術への基礎的貢献を目指した。

3. 研究の方法

ボルバキア wFem 系統に感染した種子島由来の系統を用いた。抗生物質処理したキチョウとしないキチョウについて、染色体観察、遺伝子発現解析等を行うことにより、現象の詳細な記述を行うとともに、トランスクリプトーム解析等を通じて減数分裂の歪みや性決定の操作等の分子基盤を明らかにした。染色体観察に関しては高度な FISH 手法を駆使できる分担者が担当した。

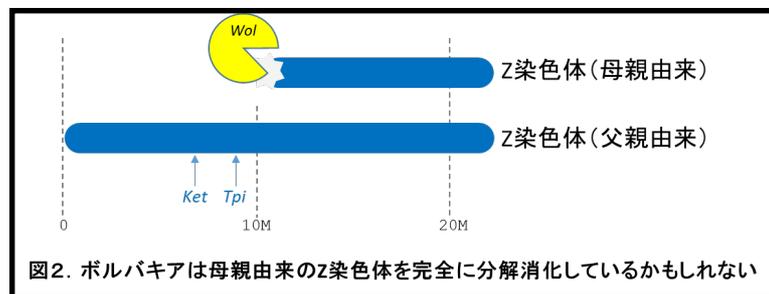
4. 研究成果

昆虫の共生細菌ボルバキアは、様々な方法で自分の都合のいいように宿主昆虫の生殖を操作しているが、本研究により、全く新しい生殖操作のタイプが存在することがわかった。ボルバキア系統 wFem に感染されたキタキチョウは、オスと交配して、メスのみの子孫を残すが、これらメスの性染色体構成が Z0 であることが、染色体 FISH、Z 染色体上遺伝子のリアルタイム PCR、次世代シーケンシングによるゲノム解析から明らかになった。これら Z0 メスが産下する卵（接合体）の遺伝子型はすべて Z0 であり、これらの卵が持つ Z 染色体は父親由来のものであることが分かった。また抗生物質を産卵前の成虫メスに投与することにより、Z0 と ZZ の卵が生じたことから、ボルバキアは宿主に働きかけ、Z 染色体の母系伝達を阻害していると考えられた（図 1）。抗生物質処理の結果、産み落とされた卵を育てると、成虫時にオスのみとなった。Z 染色体上の 2 遺伝子をターゲットとしたリアルタイム PCR と塩基多型解析によってこれら



らのオスは、1 個体を除いてすべて ZZ 型と推定された。このことから、ボルバキアなしの状態では、ほとんどの Z0 個体は生存（あるいは成長）できないと考えられ、Z0 と判別された 1 個体は、母親由来の Z 染色体の一部（たまたまマーカーとして用いた箇所）が欠損している ZZ 個体である可能性が考えられた。つまり、ボルバキアによる Z 染色体の母系伝達阻害のメカニズムは、ボルバキアが母方の Z 染色体を完全に分解消化していることによるという可能性が浮上した（図 2）。今後この可能性を検証していく予定である。また抗生物質処理によるボルバキア

密度の低下により間性個体が出現する現象（ボルバキアによるメス化）を分子レベルで解明するため、コントロールされた条件でトランスクリプトーム解析（RNAseq 解析）を行うことができた。現在データ解析中であり、性決定や性分化について新たな知見が期待できる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

1. Nishide Y, [Kageyama D](#), Yokoi K, Jouraku A, Tanaka H, Futahashi R, Fukatsu T: Functional crosstalk across IMD and Toll pathways: insight into the evolution of incomplete immune cascades. *Proceedings of the Royal Society B* **286**: 20182207. doi:10.1098/rspb.2018.2207 [査読有]
2. Hayashi M, Nomura M, [Kageyama D](#) (2018) Rapid comeback of males: evolution of male-killer suppression in a green lacewing population. *Proceedings of the Royal*

- Society B* **285**: 20180369. doi:10.1098/rspb.2018.0369 [査読有]
3. Kageyama D, Ohno M, Sasaki T, Yoshido A, Konagaya T, Jouraku A, Kuwazaki S, Kanamori H, Katayose Y, Narita S, Miyata M, Riegler M, Sahara K (2017) Feminizing *Wolbachia* endosymbiont disrupts maternal sex chromosome inheritance in a butterfly species. *Evolution Letters* **1**: 232-244. doi:10.1002/evl3.28 [査読有]
 4. Kageyama D, Yoshimura K, Sugimoto TN, Katoh TK, Watada M (2017) Maternally transmitted non-bacterial male killer in *Drosophila biauraria*. *Biology Letters* **13**:20170476. doi:10.1098/rsbl.2017.0476 [査読有]
 5. Kageyama D, Wang C-H, Hatakeyama M (2017) *Wolbachia* infections of the butterfly *Eurema mandarina* interfere with embryonic development of the sawfly *Athalia rosae*. *Journal of Invertebrate Pathology* **150**: 76-81. doi:10.1016/j.jip.2017.08.003 [査読有]
 6. Miyata M, Konagaya T, Yukuhiro K, Nomura M, Kageyama D (2017) *Wolbachia*-induced meiotic drive and feminization is associated with an independent occurrence of selective mitochondrial sweep in a butterfly. *Biology Letters* **13**: 20170153. doi:10.1098/rsbl.2017.0153 [査読有]
 7. Tamura M, Kageyama D, Honda N, Fujimoto H, Kato A (2017) Enzymatic activity necessary to restore the lethality due to *Escherichia coli* RNase E deficiency is distributed among bacteria lacking RNase E homologues. *PLOS ONE* **12**: e0177915. doi:10.1371/journal.pone.0177915 [査読有]

[学会発表](計22件)

1. 陰山大輔 (2019) チョウ目昆虫のW染色体と共生細菌ボルバキアとの関係についての進化的考察. 第63回日本応用動物昆虫学会[筑波大学], 3月26日 <小集会: 共生微生物と昆虫の研究~過去、現在、未来>
2. 林正幸・野村昌史・陰山大輔 (2019) クサカゲロウにおけるオス殺し細菌に対する急速な抵抗性進化. 第63回日本応用動物昆虫学会[筑波大学], 3月26日 <小集会: 共生微生物と昆虫の研究~過去、現在、未来>
3. 杉本貴史・粥川琢巳・渡邊和代・松尾隆嗣・石川幸男・陰山大輔 (2019) 共生細菌ボルバキアが宿主アズキノメイガにオス殺しを誘導する分子機構の解析. 第63回日本応用動物昆虫学会[筑波大学], 3月26日 <一般講演>
4. 宮田真衣・野村昌史・陰山大輔 (2019) キタキチョウにおいてメス化を引き起こす *Wolbachia* 系統の特定. 第63回日本応用動物昆虫学会[筑波大学], 3月26-27日 <学生ポスター発表>
5. 陰山大輔・和多田正義 (2018) ショウジョウバエで見つかったウイルスが原因と思われるオス殺し現象. 第13回昆虫病理研究会シンポジウム IV [@富士 Calm] 9月21日
6. 新谷喜紀・長峯啓佑・吾郷和也・根本優也・寺尾美里・菅野善明・陰山大輔 (2018) ハスモンヨトウにおけるメスに偏った性比異常現象の原因因子. 日本昆虫学会第78回大会[名城大学] 9月8日
7. 佐々木達史・陰山大輔・佐原健 (2018) FISH法を用いたボルバキア感染キタキチョウの性染色体構成の確定. 東北昆虫学会第1回大会 7月28日
8. Sugimoto TN, Tohji K, Nagamine K, Ishikawa Y, Jouraku A, Kageyama D (2018) Maternally inherited, non-bacterial male killer in *Ostrinia scapularis*: searching for a novel male-killing factor. Tenth International *Wolbachia* Conference "Wolbachia on the Waterfront" Salem MA, USA, June 17-22 [Poster]
9. Kageyama D, Fujiwara A, Jouraku A, Watada M (2018) A maternally transmitted male killer in *Drosophila biauraria*: Partitivirus as a reproductive manipulator of insects? Tenth International *Wolbachia* Conference "Wolbachia on the Waterfront" Salem MA, USA, June 19 [Oral]
10. 陰山大輔・王重雄・畠山正統 (2018) 共生細菌ボルバキアの人工感染による世代を越えた昆虫の胚致死現象. 日本生物地理学会第73回年次大会[東大農], 4月8日
11. 陰山大輔・藤原亜希子・杉本貴史・加藤雄大・和多田正義 (2018) 非細菌性因子による全メス現象: RNAウイルスが原因か? 第62回日本応用動物昆虫学会[鹿児島大], 3月27日
12. 宮田真衣・野村昌史・陰山大輔 (2018) 2種のキタキチョウ・2系統の *Wolbachia* ~その感染史を紐解く~ 第62回日本応用動物昆虫学会[鹿児島大], 3月26-27日
13. Watada M, Yoshimura K, Sugimoto TN, Katoh TK, Kageyama D (2017) Comparative study of two factors in the sex ratio distortion of *Drosophila biauraria*. (2P-1332) 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) [神戸ポートアイランド], 12月7日
14. 陰山大輔・大野瑞紀・佐々木達史・吉戸敦生・小長谷達郎・上樂明也・桑崎誠剛・金森裕之・片寄裕一・成田聡子・宮田真衣・Markus Riegler・佐原健 (2017) 宿主をメス化するボルバキア共生細菌は母から子への性染色体の伝達を阻害する (Feminizing *Wolbachia* endosymbiont disrupts maternal sex chromosome inheritance in a butterfly species) (1P-1442) 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)[神戸ポートアイランド],

12月6日

15. 和多田正義・芳村奏夢・陰山大輔 (2017) カオジロシヨウジョウバエで発見された2種類の性比異常現象の比較解析. 日本昆虫学会第77回大会[愛媛大学], 9月4日
16. 宮田真衣・野村昌史・陰山大輔 (2017) 2系統の *Wolbachia* が2種のキチヨウの宿主ミトコンドリアへ及ぼす影響. 日本進化学会第19回大会[京都大学], 8月24-26日
17. 陰山大輔 (2017) 共生細菌ボルバキアはどこまで巧妙に宿主を操るのか? キタキチヨウで明らかになった新知見を中心に. 日本生物地理学会第72回年次大会[東大農], 4月9日
18. 宮田真衣・野村昌史・陰山大輔 (2017) 共生細菌ボルバキアが与える宿主ミトコンドリアへの進化的影響について~キチヨウ姉妹種の例を中心に. 日本生物地理学会第72回年次大会[東大農], 4月9日
19. 陰山大輔・佐原健 (2017) 共生細菌ボルバキアは宿主の卵形成と性決定を2段階の協調したメカニズムで操作している. 日本蚕糸学会第87回大会[つくば], 3月21日
20. 陰山大輔・佐原健 (2017) 細胞内共生細菌 *Wolbachia* は核型 Z0 を持つキタキチヨウに0卵しか作らせないように操作し、W染色体が担うはずのメス決定機構を肩代わりしている. 第61回日本応用動物昆虫学会[東京農工大], 3月29日
21. 宮田真衣・野村昌史・陰山大輔 (2017) 異なる生殖操作を起こす2系統の *Wolbachia* (*wCI* と *wFem*) がキチヨウ姉妹種の宿主ミトコンドリアの分化へ及ぼす影響について. 第61回日本応用動物昆虫学会[東京農工大], 3月28,29日
22. 新谷喜紀・吾郷和也・長峯啓佑・陰山大輔・菅野善明・寺尾美里 (2017) ハスモンヨトウで見つかった全個体がメスになる現象. 第61回日本応用動物昆虫学会[東京農工大], 3月28,29日

〔図書〕(計3件)

1. Kageyama D (2018) "Chapter 35: Sex Determination, Insects" Encyclopedia of Reproduction (Editor: Michael K. Skinner), Elsevier pp. 3868
2. 陰山大輔 (2018) ボルバキア 『動物学の百科事典』(公益社団法人日本動物学会・編) 丸善出版, 800ページ
3. Kageyama D (2018) "Microbial Endosymbionts and Chemical Ecology" 114-130. Chemical Ecology in Insects, Plants, and Microbes - Interactions and Applications - (Editor: Jun Tabata), CRC Press/ Taylor & Francis

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等
昆虫を操作する微生物
<https://sites.google.com/site/kageyama000jp/>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 佐原 健

ローマ字氏名: SAHARA, Ken

所属研究機関名：岩手大学

部局名：農学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：30241368

(2)研究協力者

研究協力者氏名： 該当なし

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。