

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：37601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K05680

研究課題名(和文)細胞質因子起因の性比異常現象：2種のチョウ目昆虫における原因とその機構の追求

研究課題名(英文) Sex-ratio distortion derived from cytoplasmic factors: examination of the causal agents and mechanisms in two lepidopterans

研究代表者

新谷 喜紀 (Shintani, Yoshinori)

南九州大学・環境園芸学部・教授

研究者番号：50389574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：農業害虫であるガ類のハスモンヨトウにおける雌に偏った性比異常系統を発見して累代飼育をしてきた。本種の性比異常のメカニズムはオス殺しであり、その原因因子は母系伝播性のウイルス(SISRVと命名)であることを発見した。SISRVのゲノムにコードされるRNAポリメラーゼのアミノ酸配列を用いて系統解析を行ったところ、SISRVはTombusviridaeやCarmotetraviridaeに近縁であることが分かった。本ガは毎年日本に飛来するものの日本本土での越冬は稀だとされる。このような生活史の本種において、野外でこのウイルスの感染虫の再捕獲を試みたところ、1～2%の個体からSISRVが検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昆虫類では、微生物の感染によってメスに偏った性比異常が起こることがしばしば報告されているが、この原因因子の多くは細菌である。我々はほとんど知られていなかったウイルスが原因で起こる性比異常を発見し、野外に分布する個体のうちのどの程度の割合が、このウイルスに感染しているかを調べた。このような研究は、ウイルスを含む微生物と寄主の動物の間の関係の進化をひも解く礎となりうるものである。

研究成果の概要(英文)：We have discovered a female-biased strain with an aberrant sex ratio in the agricultural pest, the moth, *Spodoptera litura*, and have been breeding it for generations. The mechanism of this sex-ratio abnormality is male-killing, and the causal factor was found to be a maternally transmitted virus (named SISRV). The amino acid sequence of the RNA-dependent RNA polymerase encoded in the genome of SISRV was used for phylogenetic analysis, and SISRV is closely related to Tombusviridae and Carmotetraviridae. This moth is thought to fly to Japan each year and then pass several generations in Japan, although it is almost impossible for the moth to overwinter in mainland Japan. In this species with such a life history, we investigated whether individuals of the sex-ratio aberrant lineage could be recaptured, and SISRV was detected in about 1-2% of the field-collected adult females.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：ガ類 ハスモンヨトウ RNAウイルス 性比異常 オス殺し

## 1. 研究開始当初の背景

2015年9月に宮崎県都城市の南九州大学構内からメスに偏った性比を示すガの一種（ハスモンヨトウ）の系統を採集した。正常性比を示す系統のオスと交配させて25世代以上にわたって累代飼育してきたが、性比異常は続いている。節足動物では、微生物によって性比異常が起こることが多数の種で報告されており、そのほとんどにおいてメス親から子へ垂直伝搬する細胞内共生細菌が原因因子であることがわかっている。しかし、ハスモンヨトウの性比異常においては、診断PCRの結果から原因因子の候補となるような細菌は検出されず、また、抗生物質処理に対して抵抗性を示したため、非細菌性の因子の関与が示唆された。また、性比異常系統のホモジネート上清を細菌を通さないフィルターで濾過して正常系統に注射したところ、正常系統でも性比異常を示すようになった。これらの結果から、ハスモンヨトウの性比異常の原因因子はこれまでに全昆虫の性比異常を通して報告例の少ないウイルス様因子であると推測され、これに基づいて原因因子やメカニズムについて詳細な研究を進めることにした。

## 2. 研究の目的

前述のように、昆虫類で見つかっている性比異常の原因因子は、ほとんどの場合に細菌であり、ウイルス様因子はほとんど注目されてこなかった。従って、性比の現れ方やメカニズムなど性比異常の特徴についてもチャハマキ以外の種では最近になってようやく明らかにされてきたところである。本研究の結果によって、ウイルス様因子が昆虫類の性比異常における原因因子としての普遍性について予測が立てられる可能性がある。

細菌が原因因子の場合、宿主昆虫の性決定の遺伝子カスケードおよび性比異常の分子機構まで解明されたケースもある。このような研究の結果からわかることは、昆虫の性決定機構は種によって異なっており、原因因子の関与の仕方も様々だということである。このことは、宿主・原因因子の組み合わせによって、寄主の性決定機構と原因因子の性比操作機構の両方が特異的な形に共進化してきたことを物語っている。このように考えると、ウイルス様の複製因子も過去に昆虫の性決定機構の進化に大きな影響を与えてきた可能性が考えられ、本研究はそのモデルケースとなりうるものである。このように、本研究は、ウイルス様因子の普遍性を明らかにし、結果によってはその多様性にも言及する先駆的な研究である。

## 3. 研究の方法

RNAウイルス様因子が原因因子であることを想定して、性比異常系統と正常系統のそれぞれについて、虫体からRNAを抽出し、リボゾームRNAを除去したサンプルについてトランスクリプトーム解析（RNA-seq）を行う。性比異常系統のみに含まれる配列が、原因因子のRNAウイルス様因子の候補であると考えられる。これらについて、公開データベースを利用した相同性探索を行う。

性比異常系統の摩砕物を孔径0.20 μmのフィルターを通すとバクテリアは除去される。濾過液を正常系統に注射して、子孫に性比異常が現れるかを確認する。同時に先に特定したRNAウイルス様因子の候補遺伝子が検出されるかどうかをRT-PCRによって確認する。もし配列情報を総合的に見てウイルスだと判断できる場合、このウイルスの系統分類学的な位置について詳しく調べる。

性比異常のメカニズムについて、産卵時の個体数と生存数の比較などから、オス殺しかメス化かを調べる。

#### 4．研究成果

ハスモンヨトウの正常系統と性比異常系統から抽出したメスの卵巣について RNA-seq 解析を行ったところ、性比異常系統において特異的に高濃度に含まれる RNA 配列が見られ、この中にウイルスの配列を伺わせるものが存在していた。ハスモンヨトウの性比異常のメカニズムは個体数が半減することなどから、オス殺しであると断定でき、その原因因子は母系伝播性のウイルス(SISR<sub>V</sub> と命名)であることを発見した。SISR<sub>V</sub> 感染系統では、非感染系統と比較して孵化率が半減すること、孵化幼虫がすべてメスであることから、胚期にオス殺しが起きていることが確認された。また、非感染系統の幼虫に SISR<sub>V</sub> を接種すると、成虫の性比がメスに偏ったため、蛹期にも SISR<sub>V</sub> によるオス殺しが起こりうると考えられる。SISR<sub>V</sub> のゲノムにコードされる RNA 依存性 RNA ポリメラーゼのアミノ酸配列を用いて系統解析を行ったところ、SISR<sub>V</sub> は Tombusviridae や Carmotetraviridae に近縁 であることが分かった。SISR<sub>V</sub> の類似配列は様々な昆虫の TSA database から見つかることから、SISR<sub>V</sub> の近縁種が昆虫間に広く分布していることが示唆された。ハスモンヨトウは毎年春から夏にかけて西日本に飛来し、その後日本で数世代を経過するとされるが、日本本土での越冬は稀だとされる。このような生活史を持つ本種において、性比異常系統の個体が再捕獲できるかについて調べた。2019 年から 2021 年の夏から秋にかけて都城市近辺で野外からハスモンヨトウの雌成虫 を採集し、原因因子の検出のための診断 PCR を行ったところ、1~2%程度の個体から SISR<sub>V</sub> が検出された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 新谷 喜紀・岡本 悠吾・今村 菫華・菅野 善明・寺尾 美里・佐藤 嘉紀・長峯 啓佑・陰山 大輔
2. 発表標題 ハスモンヨトウにおける性比異常現象の特性と原因ウイルスの野外分布
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会第65回大会（松江）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長峯 啓佑・菅野 善明・佐藤 嘉紀・寺尾 美里・陰山 大輔・新谷 喜紀
2. 発表標題 ハスモンヨトウの性比異常を引き起こすRNAウイルスの特定と系統解析
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会第65回大会（松江）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本悠吾・塩田浩平・佐藤嘉紀・長峯啓佑・菅野善明・新谷喜紀
2. 発表標題 ハスモンヨトウの性比異常系統個体は蔓延しているのか
3. 学会等名 九州・沖縄昆虫研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 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
2. 発表標題 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
3. 学会等名 日本昆虫学会第78回大会
4. 発表年 2018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	陰山 大輔  (Kageyama Daisuke)  (60401212)	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   (82111)	
研究 分担者	菅野 善明  (Kanno Yoshiaki)  (60441929)	南九州大学・環境園芸学部・教授(移行)   (37601)	

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
---------	---------