

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：13401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20663

研究課題名（和文）宿主の変態に着目したボルバキアが持つ新規機能の解明

研究課題名（英文）Elucidation of new functions of Wolbachia with a focus on host insect metamorphosis

研究代表者

宮田 真衣（Miyata, Mai）

福井大学・学術研究院工学系部門・助教

研究者番号：70946681

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、イラクサギンウワバ(以下、イラクサ)のボルバキア感染個体に対する抗生物質によるボルバキア除去処理が、イラクサの生存率を減少させるメカニズムの解明を目的とした。特に、イラクサに感染するボルバキアが宿主の脱皮や変態に影響を及ぼしていると仮定して実験を行った。ボルバキア除去処理を行った系統と無処理の系統を用意し、ELISA法によってエクダイソンの定量を行った結果、ボルバキア除去処理の有無によってエクダイソン量は変化しないことが明らかとなり、死亡のメカニズムには他の要因が関係している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イラクサは広食性を示す害虫種であり、世界中に分布が確認されている。ボルバキアを除去することで生存率が下がるという結果から、ボルバキアはイラクサの生存において重要な役割を果たしている可能性が高い。害虫種の生存において細胞内共生細菌が果たす役割を明らかにすることは、害虫の防除法の開発などの応用に繋がることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, I aimed to elucidate the mechanism by which antibiotic treatment of Wolbachia-infected individuals of *Trichoplusia ni* reduces their survival rate. Specifically, I conducted experiments based on the hypothesis that Wolbachia affects host insect molting and metamorphosis. First, I prepared two groups: one treated with tetracycline-containing feed to remove Wolbachia and another untreated group. Quantification of ecdysone in the larvae from each treatment was performed using the ELISA method, and the results revealed no change in ecdysone levels due to the tetracycline treatment.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：ボルバキア 生殖操作 イラクサギンウワバ 細胞質不和合

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

地球上で最も繁栄した生物である昆虫と、記載種の数には昆虫に及ばないものの潜在的な種数が膨大であると考えられている細菌は、様々な共生関係を築いていることが明らかとなってきた。このような共生のうち、細菌が宿主の細胞内に入り込むものは細胞内共生細菌と呼ばれる。細胞内に存在する共生細菌が次世代へ受け継がれるためには、宿主の受精卵に入り込む必要がある。卵子には細胞質が多く存在するために細菌が入り込むことができるため、一般的には母系遺伝によって次世代に伝播していく。細胞内共生細菌の中でも、宿主の生存に必須である共生細菌は親から子へ伝播する一方で、生存に必須でない共生細菌の伝播は完全でない。このため、感染メスの生殖の操作や、宿主の生育パフォーマンスに正の影響を与えることで、自身をより確実に次世代に伝播させる細菌も存在する(Werren et al, 2008)。

チョウ目ヤガ科に属するイラクサギンウワバ *Trichoplusia ni* (以下、イラクサ)は 36 科 160 種以上の植物を食害する広食性を示す害虫種であり、世界中に分布が確認されている。これまでに、近年関東地方で採集されたイラクサに感染するボルバキア wNi1 が宿主の生育パフォーマンスに与える影響について調査を行ってきた。抗生物質処理によって wNi1 を除去した系統(wNi1 除去処理系統)を作成し、感染個体と非感染個体の生育日数について比較した結果、wNi1 を除去することで死亡する個体

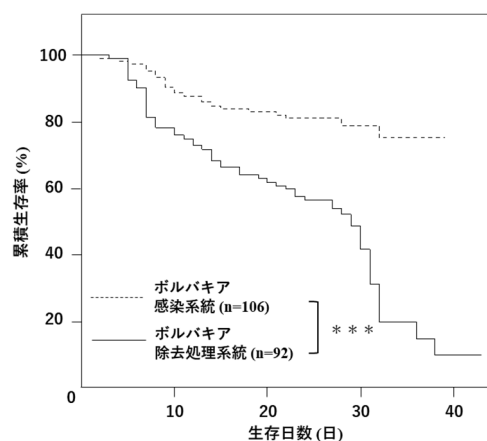


図1 各処理のカプランマイヤー生存曲線

*** $p < 0.001$, log-rank test

が大幅に増加した(図 1)。wNi1 の感染が恒常的にイラクサの生育へ正の影響を及ぼすものであった場合、wNi1 を除去することで生育の遅延などの悪影響を及ぼすことが予測されるが、実験では生育の遅延は確認されなかった(図 2,3)。また、これまでの観察では wNi1 を除去した個体で脱皮不全になる個体が増加したことを確認している。

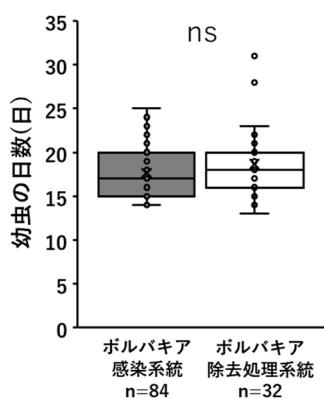


図2 各処理の幼虫期間

$P > 0.05$, Mann-Whitney U test

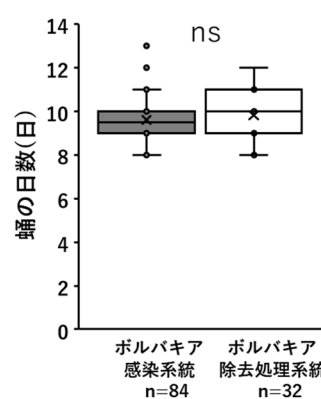


図3 各処理の蛹期間

$p > 0.05$, Mann-Whitney U test

2. 研究の目的

本研究では前述した実験結果・観察を踏まえ、イラクサにおいてボルバキアが特定のタイミングで役割を果たしている可能性を考えた。本研究では特に幼虫期から羽化にかけての脱皮・変態にボルバキアが関与する可能性について検討した。

3. 研究の方法

(1) 福井県産イラクサに感染するボルバキアの系統診断と宿主へ及ぼす影響の調査

研究開始時にそれまで在籍していた千葉の研究拠点から移動したため、最初に移動先の福井近郊で採集できるイラクサについて、関東地方のイラクサと同じボルバキアの系統 wNi1 に感染しているのかを確認した。具体的には、福井県で採集したイラクサについて *gatB* 遺伝子の一部から関東地方のイラクサに感染する wNi1 であるか、他の地方のイラクサに感染する wNi2 であるかを確認した。また、福井県産イラクサが宿主へ与える影響についても確認した。

(2) 抗生物質処理の有無による wNi1 感染イラクサ体内のエクダイソン量の測定

最初に野外で採集したイラクサから採卵し、幼虫を得た。幼虫に対し抗生物質としてテトラサイクリン入りのエサを与え、wNi1 を除去した系統を作出した。wNi1 感染系統と除去処理系統の終齢幼虫について ELISA 法によりエクダイソンの量を測定し、wNi1 の感染の有無で変化するかを調査した。

4. 研究成果

(1) 実験結果

最初に、福井県で採集したイラクサのボルバキアの感染系統診断を行った。分子系統解析の結果、確かに福井県産イラクサも関東のイラクサと同様に wNi1 に感染していることを確認した。また、関東地方のイラクサでは wNi1 が生殖操作の 1 つである細胞質不和合を引き起こすことが明らかとなっている。そこで、関東産イラクサと

福井県産イラクサに対し wNi1 が宿主へ同じ影響を与えるのか調査を行った結果、福井県産イラクサにおいても wNi1 は細胞質不和合を引き起こすことが明らかとなった(表 1)。

表1 福井県産イラクサ(FK系統)における各処理の孵化率

系統名	組み合わせ (メス×オス)	系統数	産卵数	孵化した 幼虫数	孵化率
FK	感染×感染	3	313	83	26.5%
	感染×除去処理	4	1264	381	30.1%
	除去処理×感染	6	2090	0	0.0%
	除去処理×除去処理	5	1692	855	50.5%

次に、幼虫に対し抗生物質入りのエサを与え wNi1 除去処理系統と通常のエサで維持した wNi1 感染系統を用意した。それぞれの処理の終齢幼虫から血リンパを採集し、ELISA 法によってエクダイソンの定量を行った結果、wNi1 除去処理の有無によるエクダイソン量の変化は認められなかった。

(2) 今後の予定

今回の結果から、ボルバキア除去処理の有無によるエクダイソン量の変化は認められなかった。本研究では死亡メカニズムの解明のため、イラクサの全身切片を作成し体内でのボルバキアの局在の調査を行った。現在、wNi1 の局在の解析と組織像の比較を進めており、体内の局在か

ら wNi1 が宿主の生存に対してどのように関わっているのかを明らかにしたい。また、本研究中に関東産イラクサに感染する wNi1 のゲノムデータが利用可能となった(Arai et al., 2024)。これら本研究で得られた結果から、ボルバキア除去によるイラクサの死亡メカニズムについて調査を進めてゆく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hiroshi Arai, Benjamin Herran, Takafumi N. Sugimoto, Mai Miyata, Tetsuhiko Sasaki, Daisuke Kageyama	4. 巻 -
2. 論文標題 Cell-based assays and comparative genomics revealed the conserved and hidden effects of Wolbachia on insect sex determination	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2024.02.24.581844	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉本 貴史, Heran Benjamin, 宮田 真衣, 佐々木 哲彦, 陰山 大輔
2. 発表標題 昆虫培養細胞を用いたメス化能を持つボルバキアのスクリーニング
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮田 真衣, 元木 彩子, 野村 昌史
2. 発表標題 同所的に存在する2種のウワバに感染するボルバキアが宿主へ及ぼす影響の比較
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡田 杏理, 宮田 真衣, 野村 昌史
2. 発表標題 ツマジロクサヨトウの防除に向けた細胞内共生細菌Wolbachia の種間移植
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡田 杏理, 宮田 真衣, 野村 昌史
2. 発表標題 ツマジロクサヨトウの防除に向けた細胞内共生細菌Wolbachia の種間移植実験
3. 学会等名 第26回農林害虫防除研究会東京大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 南 若果, 宮田 真衣
2. 発表標題 イラクサギンウワバにおけるオス殺し現象とその抵抗性の発見
3. 学会等名 第76回北陸病害虫研究会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 宮田 真衣
2. 発表標題 福井県で採集されたイラクサギンウワバに感染するボルバキアが宿主へ及ぼす影響
3. 学会等名 第76回北陸病害虫研究会
4. 発表年 2024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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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