©2024 筑波大学生物学類

寄生蜂 *Asobara japonica* の感染に対する宿主ショウジョウバエ 10 種の応答性の比較

中山　友萌香（筑波大学 生物学類）　　指導教員：上山　拓己（筑波大学 生存ダイナミクス研究センター）

【背景・目的】

寄生蜂は、宿主となる植物や節足動物に卵を産み付け、栄養を搾取することによって成長するハチ目の昆虫である。寄生蜂は種ごとに特異的な宿主を有し、宿主とすることができる種の範囲（宿主範囲）が大きく異なる。宿主範囲の特徴から、広範囲の種に寄生ができる寄生蜂は generalist、ある限られた宿主種にのみ寄生する寄生蜂は specialist と呼ばれる[1]。この寄生蜂が宿主範囲を決定するメカニズムについては不明な点が多い。

寄生蜂の一種である *Asobara japonica*（以下、*A. japonica*）はショウジョウバエ属の幅広い種を宿主とする generalist 的な寄生蜂である[2]。*A. japonica* は宿主幼虫の体内に毒と卵を注入し（感染）、宿主体内で孵化する。*A. japonica* の幼虫は宿主体内で成長し、やがて宿主が蛹に達すると蛹の内部で宿主を食い殺し、宿主の蛹から *A. japonica* の成虫が羽化する。所属研究室の先行研究において、*A. japonica* の感染時に注入される毒が *Drosophila melanogaster*（以下、*D. mel*）幼虫の成虫原基（成虫の前駆組織）で細胞死と細胞分裂の停止を誘導し、宿主の成長を制御し寄生を成功させることが見出された（島田ら、未発表）。この *A. japonica* の寄生戦略は *D. mel* 以外の宿主種に対しても共通しているのか、あるいは宿主種ごとに細分化された異なる寄生戦略を持つのだろうか。この疑問を明らかにするため、本研究では *A. japonica* 感染後の成虫原基の細胞死および細胞分裂活性を宿主ショウジョウバエ 10 種で比較した。

【方法】

実験１．寄生成功率の計測

A. japonica を 10 種のショウジョウバエ（*Drosophila simulans, melanogaster, yakuba, erecta, suzukii, ananassea, pseudoobscura, willistoni, mojavensis, virilis*）の 3 齢幼虫に感染させた。その後、感染個体から羽化した *A. japonica* もしくはショウジョウバエの成虫の個体数と蛹または幼虫で死亡した個体数を計測した。

実験２．感染後の翅原基の細胞死および細胞分裂活性の比較

A. japonica の感染 4 時間後に、成虫原基の一つである翅原基を宿主幼虫から解剖し、固定した。細胞死により断片化した DNA の末端を標識する TUNEL（Roche）染色と、アポトーシス実行因子である切断型 death caspase（cDcp1, Cell Signalling Technology）特異的抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。加えて、細胞分裂期の細胞を標識する pH3（Cell Signalling Technology）特異的抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。*D. moj* においては感染 6 時間後と 8 時間後の翅原基も同様の方法で染色を行った。その後、共焦点レーザー顕微鏡（Carl Zeiss, LSM700）でこれらのシグナルの観察と撮影を行った。

【結果・考察】

実験１：今回観察したショウジョウバエ（ハエ）10 種すべてにおいて、*A. japonica* の感染を受けた個体から *A. japonica* 成虫が羽化した。ハエ成虫が羽化した割合は観察した個体の 1%以下であった。従って、*A. japonica* は *D. sim, mel, yak, ere, suz, ana, pse, wil, moj, vir* の幼虫に対して寄生を成立できることが示された。また、*D. moj* においては他の宿主種と比較して寄生成功率が低く、*A. japonica* 成虫が羽化した割合は感染個体の 20%以下であった。

実験２：感染 4 時間後の *D. sim, mel, yak, ere, suz, ana, pse, wil, moj, vir* の翅原基において、非感染個体の翅原基と比較して TUNEL 陽性細胞数と cDcp1 の蛍光面積が顕著に増加し、pH3 陽性細胞数が顕著に減少していた。これに対し、*D. moj* の翅原基では感染 4 時間後、TUNEL 陽性細胞数と cDcp1 の蛍光面積は顕著に増加していたものの、pH3 陽性細胞数の減少はみられなかった。しかし感染 6 時間後と 8 時間後の翅原基を観察すると、pH3 陽性細胞数は非感染個体の翅原基と比較して顕著に減少していた。よって、本研究で観察した *D. sim, mel, yak, ere, suz, ana, pse, wil, moj, vir* は、*A. japonica* の感染を受けると翅原基の細胞死と細胞分裂の停止が誘導されることが示された。また、*D. moj* では他の 9 種よりも *A. japonica* 感染後に細胞分裂の停止が起こるまでにかかる時間が長いことが示された。

本研究から、*A. japonica* は宿主成虫原基に対する細胞死と細胞分裂の停止の誘導を *D. mel* 以外の複数の宿主種で共通して引き起こすことが分かった。また、*D. moj* で観察されたように、寄生が可能な宿主種同士であっても細胞分裂が停止し始める時間には種ごとに差異があることが示唆された。*D. moj* の寄生成功率が低かったことから、宿主成虫原基で細胞分裂の停止が誘導されるまでのスピードが寄生成功率に影響する可能性が示唆された。

【今後の展望】

宿主成虫原基の細胞死および細胞分裂活性を観察し、寄生蜂 *A. japonica* が複数の宿主種に対し共通する生理反応を誘導することを示した。所属研究室の先行研究において、*D. mel* を宿主とした時、翅原基の細胞死と細胞分裂の停止の誘導に必須である２つの毒タンパク質が同定されている（上山ら、未発表）。この毒タンパク質遺伝子を RNA 干渉法によりノックダウンした *A. japonica* を作成し、細胞死と細胞分裂停止の誘導の有無を観察することで、同定された二つの毒タンパク質が *D. mel* 以外の宿主種の成虫原基に対する細胞死と細胞分裂の停止においても必須の役割を担うのかを検討することができる。この解析により、*A. japonica* と異なる複数の宿主種に対する寄生戦略の共通性と多様性の理解を分子レベルまで深めることが期待できる。

【参考文献】

1) Schlenke, T.A., Morales, J., Govind, S. and Clark, A.G. (2007). PLoS Pathogens, 3, e158.
2) Ideo, S., Watada, M., Mitsui, H. and Kimura, M.T. (2008). Entomol. Sci. 11, 1–6.