

寄生蜂 *Asobara japonica* の毒がショウジョウバエ幼虫の成虫原基に作用するメカニズムの追究

古平 真太郎（筑波大学生物学類）

指導教員：丹羽 隆介（筑波大学生存ダイナミクス研究センター）

【背景・目的】

寄生蜂とは、宿主である他種昆虫やクモ等の節足動物の栄養やエネルギーを利用して生活するハチ目昆虫の総称である。寄生蜂は宿主の体の内外に卵を産みつけ、孵化したハチの幼虫は成長し、宿主を食べて成虫へと成長する。このような独特の生活スタイルを持つ寄生蜂の種数は、現在の地球上で繁栄している昆虫類の約20%を占めるとされ、地球上で最も成功した戦略を持つ動物群の一つといっても過言ではない。こうした寄生蜂の巧みな生存戦略を分子レベルで解明することは、生物間相互作用の仕組みを理解する上で重要である。

寄生蜂の繁栄を支える基盤の一つは、寄生蜂が産生する毒にあると考えられている。特に、内部寄生蜂と呼ばれる一群の寄生蜂は、産卵（感染）時に宿主に毒のカクテルを注入することで、宿主の発生と生理を操作することで子ハチの成長と寄生の成立を助ける。

本研究で用いた寄生蜂 *Asobara japonica* はショウジョウバエ属に広く寄生する内部寄生蜂である^[1,2]。*A. japonica* はショウジョウバエ幼虫に卵と毒を注入する。感染された宿主の幼虫は成長を続けて蛹化するが、蛹化後に寄生蜂の幼虫が宿主本体を摂食し、最終的に宿主の蛹殻からは寄生蜂一匹が羽化する。

所属研究室の先行研究において、*A. japonica* の感染が、キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* 幼虫が内包する将来の成虫組織（成虫原基, imaginal disc）を縮退させる現象「成虫原基退縮 imaginal disc degradation (IDD)」が見出された^[3]。IDD は、成虫原基でのアポトーシスの誘導、細胞分裂の停止、そしてオートファジーの誘導によって引き起こされる。IDD は、宿主ハエ幼虫を蛹にまで生かしつつも、宿主の成虫原基の成長を阻害することで *A. japonica* の寄生を成功させるために必須である^[3]。

所属研究室はさらに、全ゲノム配列解読と RNA 干渉法の開発を行い^[4]、IDD の誘導に必須の役割を果たす二つの分泌タンパク質、IDD factor-1 (IDDF-1) および IDDF-2 を同定した^[3]。IDDF-1 と IDDF-2 のどちらか一方を欠くと、宿主幼虫での IDD 誘導が抑制される。また、両分子は、"Domain of Unknown Function 4803 (DUF4803)" と名付けられた機能未知のドメイン構造を共有する^[3]。しかしながら、*A. japonica* の IDDF-1 と IDDF-2 が、宿主ショウジョウバエのどのような分子メカニズムを介して IDD を引き起こすのかは依然として不明である。

本研究ではこの問題へのアプローチとして私は、「宿主ショウジョウバエの成虫原基には IDDF-1 および IDDF-2 に対する受容体が存在している」と仮説を立て、候補受容体の遺伝学的スクリーニングを行った。具体的には、2つの受容体ファミリーに注目した。

1つは Nimrod ファミリーである。このファミリーに属する受容体の1つ Draper が、ショウジョウバエに内在する DUF4803 ドメインタンパク質 Orion と結合するという報告があり^[5]、IDDF-1 と IDDF-2 も Nimrod ファミリーのいずれかの分子に受容される可能性がある。もう1つは、ペプチドグリカン認識蛋白質 (PGRP) ファミリーの受容体である。PGRP ファミリーは寄生蜂を含む感染

性生物が有する分子に対する異物認識に関わることが広く知られており^[6]、IDDF-1 と IDDF-2 を寄生蜂由来の異物として認識する可能性がある。そこで、キイロショウジョウバエのゲノムにコードされているこれらの受容体遺伝子の機能欠失変異体、あるいは遺伝子ノックダウン個体を宿主として感染実験を行い、宿主の翅原基でアポトーシス、細胞分裂、オートファジーを可視化した。

【方法】

<実験 1>

Nimrod ファミリー (draper, Nimrod-A, Nimrod-B1, Nimrod-B3, Nimrod-B4, Nimrod-B5, Nimrod-C2, Nimrod-C3) の突然変異系統の3齢幼虫と *A. japonica* を用いて感染実験を行い、感染4時間後に翅原基を宿主幼虫から解剖し、3.7%ホルマリン溶液を用いて固定した。ついで、分裂期のヒストンを標識する pH3 に対する抗体とオートファゴソームの構成タンパク質 Atg8 に対する抗体を用いて免疫染色を行い、また DNA 断片の末端を標識し細胞死を検出する TUNEL 染色を行った。その後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて染色シグナルを観察した。

<実験 2>

PGRP ファミリー (PGRP-LA, PGRP-LB, PGRP-LC, PGRP-LE, PGRP-LF, PGRP-SB1, PGRP-SC1a, PGRP-SC1B, PGRP-SC2) をコードするそれぞれの遺伝子に対して RNA 干渉を誘導するためのトランスジェニック系統を、翅原基特異的に誘導させるための系統 (*WP-GAL4*) と交配させた。この際、これらのハエにはオートファジーのレポーター (*GFP-Galectin*) を共に持たせた。得られたハエの3齢幼虫を用いて感染実験を行い、感染1.5時間後に翅原基を宿主幼虫から解剖して、上述と同様に固定した。その後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて *GFP-Galectin* の緑色シグナルの凝集の有無を観察することでオートファジーの誘導を評価した。

【結果・考察・今後の展望】

結果の詳細はすべて口頭発表にて報告する。

本研究では、用いるべきショウジョウバエ系統の飼育がうまくいかなかった、感染実験に十分な数のハエの幼虫が育たなかったなどの理由により、すべての候補遺伝子に対して十分な感染実験を行うことが出来なかった。今後、十分なハエの幼虫が得られ次第、未解析の遺伝子についても検討をする。

【参考文献】

- [1] Belokobyl'skij (1998) Key to the Insects of Russian Far East. *Tribe Alysiini*. In: Ler (ed.) 4: 163–298.
- [2] Mitsui et al. (2007) *J. Nat. Hist.* 41: 1731–1738.
- [3] Kamiyama et al. (2025) *Science Adv.* In press (bioRxiv preprint DOI: 10.1101/2024.06.13.598595).
- [4] Kamiyama et al. (2022) *DNA Res.* 29: 1–14.
- [5] Ji et al. (2023) *Proc. Acad. Natl. Sci. U. S. A.* 120: e2303392120.
- [6] Kurata (2014) *Dev. Comp. Immunol.* 42: 36–41.