



筑波大学
University of Tsukuba



2022 年 6 月 14 日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学

国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）

巧みな生存戦略を持つ寄生蜂の全ゲノム配列解読に成功

寄生蜂とは、宿主（主に他種昆虫）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す。その種数は、昆虫類約 100 万種の中の約 20%をも占めると推定されており、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ありません。寄生蜂の巧みな生存戦略を解明することは、生物の進化を理解する上でも重要です。

本研究グループは、キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* を宿主とする寄生蜂ニホンアソバラコマユバチ *Asobara japonica* を用いて、寄生蜂の生存戦略を支えている分子生物学的基盤を明らかにすることを目指しており、今回、その全ゲノム配列の決定と全遺伝子予測、さらに、遺伝子ノックダウン法の開発に成功しました。

ニホンアソバラコマユバチは、キイロショウジョウバエのみならず、多くのショウジョウバエ属昆虫を宿主とすることが知られています。その中には、現在ヨーロッパを中心に果物の害虫として深刻な問題となっているオウトウショウジョウバエ *Drosophila suzukii* も含まれます。本研究成果は、ショウジョウバエの害虫種に対する農薬の開発シーズの創出にもつながると考えられます。

研究代表者

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター

島田 裕子 助教

丹羽 隆介 教授

研究の背景

寄生蜂とは、他種昆虫やクモ等の節足動物（宿主）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す。寄生蜂が宿主に卵を産みつけると、孵化した個体は、宿主の体を食べて成虫へと成長します。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% にも及ぶと推定されており、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ありません。よって、寄生蜂の巧みな生存戦略を解明することは、生物の進化を理解する上でも重要です。

中でも「内部寄生蜂」と呼ばれるタイプの寄生蜂の中には、孵化後に宿主を直ちに殺すのではなく、寄生蜂個体が十分に成長した後に、自ら都合の良いタイミングを見計らって宿主を殺す「飼い殺し型寄生者 (koinobiont)」がいます (図 1)。この寄生蜂は、宿主に麻酔をかけて産卵したり、宿主の免疫防御機構を破壊して身を守ったり、宿主の組織を分解して栄養を得たりするために、さまざまな種類の「毒」を宿主に注入します。寄生蜂のそれぞれの種は、宿主の種類に応じて進化させてきた多種多様な毒成分を有していますが、寄生蜂は体サイズが小さく飼育が困難であるため、これらの毒成分の大部分は未同定です。

本研究チームは、遺伝学的解析に優れたキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* (以下、ショウジョウバエ) を宿主とする飼い殺し型寄生者のニホンアソバラコマユバチ *Asobara japonica* を用いて、寄生蜂の生存戦略、とりわけ、寄生蜂が宿主に注入する毒成分の同定と、その毒が宿主に作用するメカニズムについて、分子レベル・細胞レベルでの解明を目指しています (図 2)。しかしながら、ニホンアソバラコマユバチは、従来、分子生物学的研究の対象として注目されておらず、ゲノム情報が全くありませんでした。また、毒を産生する遺伝子の役割を調べるためには、特定の遺伝子の機能を寄生蜂体内で低下 (ノックダウン) させる実験手法の開発も必要でした。そこで今回、ニホンアソバラコマユバチの全ゲノム配列の決定と全遺伝子予測^{注1)}、遺伝子ノックダウン手法の開発を行いました。

研究内容と成果

全ゲノム配列を決定するためには良質なゲノム DNA が大量に必要です。対象生物のサイズが小さい場合には、多数の個体からゲノム DNA を抽出する必要がありますが、突然変異や個体差があり、配列を一元的に決めることができない、という問題が生じます。そこで本研究では、ハチの単為生殖系統 (雌のみで繁殖する) を利用し、たった 1 匹の寄生蜂から 200 匹のクローン個体を増殖させることで、極めて均質なゲノム DNA を大量に採取しました (図 3)。これにより、ゲノムサイズ 322 Mbp、ヘテロ接合性^{注2)} 0.132% という均質性に優れたゲノムの構築に成功しました。また、このゲノム配列と転写産物情報をもとに、12,508 遺伝子の位置と構造を予測しました。この中には、既知のハチ目昆虫の遺伝子の 95.4% が含まれおり、現在までに公開されている各種寄生蜂のゲノム情報と比べても非常に高い完成度であると評価できます。

並行して、二本鎖 RNA 干渉法 (RNAi 法)^{注3)}を用いて、ニホンアソバラコマユバチ個体の中で特定の遺伝子の機能を抑制する方法を検討しました。まず、昆虫の体色を決めるメラニン色素の合成に関与する遺伝子 *ebony* に注目し、ニホンアソバラコマユバチのゲノム中に存在する *ebony* 遺伝子の配列を元に二本鎖 RNA を人工的に合成し、これを寄生蜂の幼虫に注入しました。その結果、羽化した個体表面の黄色みが減少して、黒色が濃いニホンアソバラコマユバチを得ることに成功しました (図 4)。このように、RNAi 法により効率的にノックダウンできることを見いだしました。またその際、寄生に関連する毒遺伝子候補の発現が約 90% 抑えられることも分かりました。

今後の展開

本研究成果により、寄生蜂ニホンアソバラコマユバチの生存戦略を遺伝子レベルで研究するための重要な基盤が整備されました。これまでの研究から、ニホンアソバラコマユバチが宿主に麻酔をかけたり、宿主の組織に細胞死を誘導したりする際に、さまざまな種類の毒を用いていることが実験的に示唆されています。今後、ニホンアソバラコマユバチのゲノム情報や RNAi 法を駆使することで、寄生蜂の毒遺伝子の機能を解析することにより、毒成分の実体と寄生の分子機構が解明できると期待されます。

また、ニホンアソバラコマユバチは、キイロショウジョウバエのみならず、ほとんどのショウジョウバエ属昆虫を宿主とすることが知られています。その中には、現在ヨーロッパを中心に果物の害虫として深刻な問題となっているオウトウショウジョウバエ *Drosophila suzukii* も含まれており、本研究成果は、ショウジョウバエの害虫種に対する農薬の開発シーズの創出にもつながると考えられます。

参考図

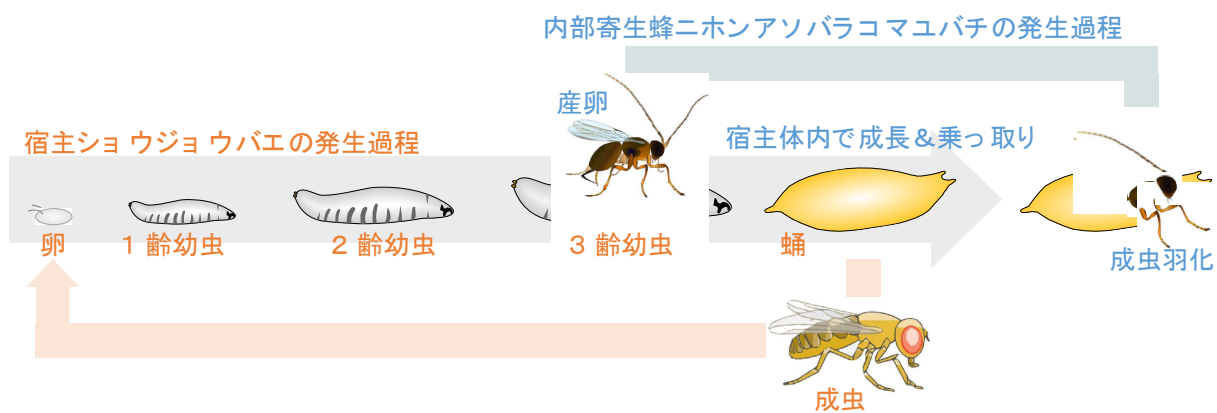


図1：内部寄生蜂ニホンアソバラコマユバチと宿主ショウジョウバエの生活環

ニホンアソバラコマユバチはショウジョウバエの幼虫に産卵する。寄生蜂の幼虫は、宿主幼虫体内で成長し、宿主が蛹化した後で殺して食べ、蛹殻から羽化する。



図2：内部寄生蜂ニホンアソバラコマユバチの産卵

寄生蜂が宿主であるショウジョウバエ幼虫の上に乗って、茶色の産卵管を突き立てている。寄生蜂は、毒成分を注入して宿主幼虫を麻酔した後に、産卵する。

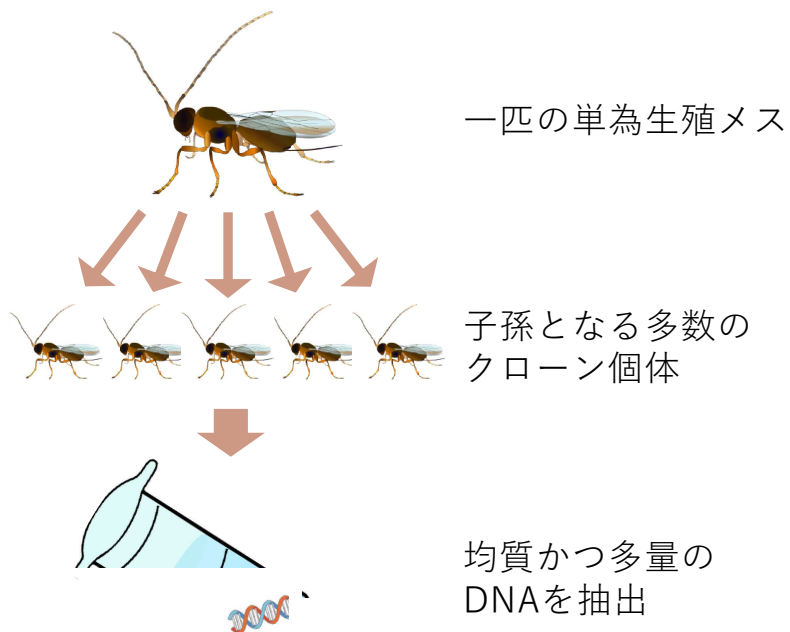


図3：内部寄生バチからのゲノム DNA 採取方法

ニホンアソバラコマユバチの単為生殖系統のメス 1 匹から 200 匹のクローン個体を増殖させることで、均質かつ多量の DNA を抽出した。

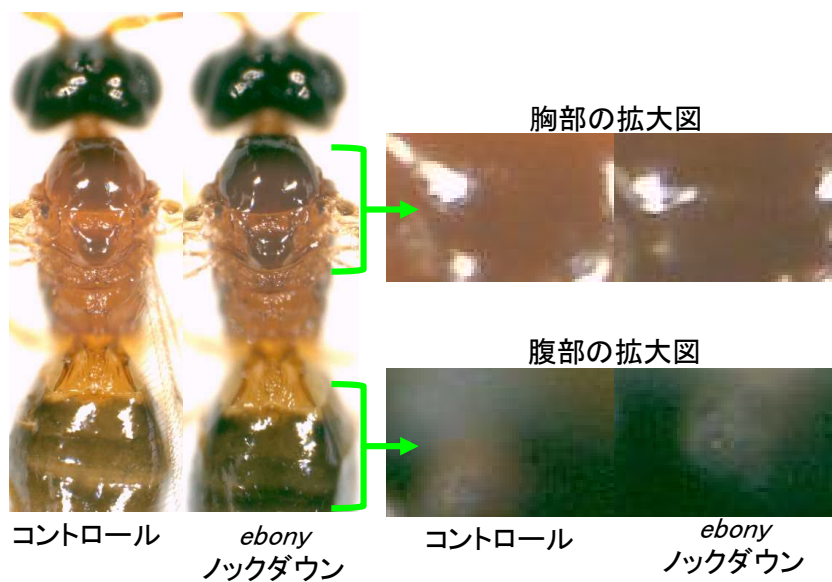


図4：寄生蜂 *ebony* 遺伝子ノックダウンによる体色変化

体色の黄色みを司る遺伝子である *ebony* をノックダウンした個体は、コントロール（*ebony* が正常に機能している個体）と比べて、やや濃い体色になった。

用語解説

注1) 全遺伝子予測

ゲノムを構成する DNA 配列を決めた後に、その配列の中でどの領域が遺伝子をコードしているのかを予測すること。ゲノム上には、遺伝子の発現を制御する領域やゲノム構造を保つための領域など、さまざまな役割の領域があるので、DNA 配列のモチーフや転写された RNA 配列をもとにして、遺伝子領域を予測する必要がある。

注2) ヘテロ接合性

ゲノム上の個々の DNA 配列が異なること。ゲノムを2セットずつ持つ二倍体生物では、2本の染色体が同一の DNA 配列であるとは限らないため、ゲノム解析の際に1つの場所が1つの塩基に決定されないことがある。また、1匹以上の生物集団から DNA を抽出した場合には、個体ごとに DNA 配列が異なる可能性がある。ヘテロ接合性が低いことは、ゲノム DNA 配列が一元的に決定されたことを意味する。

注3) 二本鎖 RNA 干渉法 (RNAi 法)

機能を低下させたい遺伝子と同一の塩基配列を有する二本鎖 RNA を細胞・組織に導入することによって、その遺伝子の機能が特異的に抑制される現象を利用した遺伝子機能解析法。

研究資金

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業 基盤研究 (C)「内部寄生蜂が宿主シヨウジョウバエ幼虫に誘導する組織特異的細胞死シグナル経路の解析」(研究費番号 18K05670、研究期間:2018~2020 年度)、特別研究員奨励費「寄生蜂の飼育型寄生を司る組織選択的アポトーシス誘導因子の同定と作用機序の解明」(研究費番号 21J10894、研究期間:2021~2022 年度)、JST さきがけ「生体における微粒子の機能と制御 (微粒子)」領域 (グラント番号 JPMJPR19H6、研究期間:2019~2022 年度)、文部科学省科学研究費助成事業学術変革領域研究「学術研究支援基盤形成」先進ゲノム解析研究推進プラットフォームの支援により実施されました。

掲載論文

【題 名】 Whole-genome sequencing analysis and protocol for RNA interference of the endoparasitoid wasp *Asobara japonica*

(内部寄生蜂ニホンアソバラコマユバチの全ゲノム配列解析と RNA 干渉法プロトコル)

【著者名】 Kamiyama, Takumi (上山 拓己、筑波大学 生命環境科学研究科 博士課程 (当時))、Shimada-Niwa, Yuko (島田-丹羽 裕子、筑波大学 生存ダイナミクス研究センター 助教)、Tanaka, Hiroyuki (田中 裕之、東京工業大学 生命理工学院 研究員)、Katayama, Minami (片山 南美、筑波大学 生命環境科学研究科 修士課程 (当時))、Kuwabara, Takayoshi (桑原 高佳、筑波大学 生命環境学群 生物学類 (当時))、Mori, Hitoha (森 一葉、筑波大学 理工情報生命学術院・生命地球科学研究群 生物学学位プログラム 修士課程)、Kunihisa, Akari (國久 茜里、筑波大学 生命環境学群 生物学類 (当時))、Itoh, Takehiko (伊藤 武彦、東京工業大学 生命理工学院 教授)、Toyoda, Atsushi (豊田 敦、国立遺伝学研究所 特任教授)、Niwa, Ryusuke (丹羽 隆介、筑波大学 生存ダイナミクス研究センター 教授)

【掲載誌】 DNA Research

【掲載日】 2022 年 6 月 10 日

【DOI】 10.1093/dnares/dsac019

問合わせ先

【研究に関すること】

島田 裕子（しまだ ゆうこ）

筑波大学 生存ダイナミクス研究センター 助教

URL: <https://sites.google.com/view/yukoshimada/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu[at]un.tsukuba.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

TEL : 03-5214-8404 FAX : 03-5214-8432

E-mail : jstkoho[at]jst.go.jp

【JST事業に関する連絡先】

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ

保田 睦子（やすだ むつこ）

TEL : 03-3512-3526 FAX : 03-3222-2064

E-mail : presto[at]jst.go.jp