

人工飼養ミツバチ(*Apis mellifera*)の幼虫における初期カースト分化関連遺伝子の発現解析

奥成 潤 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 古川 誠一 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

ミツバチは集団で1つのコロニーを形成して生活を営む社会性昆虫であり、カーストによって仕事の分業を行なう。女王蜂は主に産卵に従事し、働き蜂は営巣や育児を担当する。これら2つのカーストの分化は生まれ持ったゲノム情報ではなく、幼虫前期(孵化後1~3日)に与えられる餌の質によって、3日齢までにエビジェネティックに決定する。初期にワーカーゼリー、蜂蜜や花粉を与えられたときは働き蜂として、高栄養なローヤルゼリーを与えられたときには女王蜂として分化発生が進む。一方でショウジョウバエの栄養感受伝達経路として知られる insulin/insulin-like signaling system (IIS)や target of rapamycin (TOR) がこのミツバチの栄養の違いによるカースト分化にも機能していることが明らかにされている。また近年では、カースト分化に特異的に関与する物質としてロイヤラクチンが同定され、それに伴い新たな経路 Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) の関与が報告されている。しかしながら EGFR は、IIS 経路や TOR 経路との関連性について不明な点も多く、いまだ完全なカースト分化経路の解明には至っていない。

ミツバチの人工飼養を試みた研究において、本来女王蜂幼虫のみ与えられるローヤルゼリーを含む人工飼料で育てられた幼虫から羽化した成虫個体は、女王蜂とは形質が異なり、女王蜂と働き蜂の表現型を部分的に備え持つ個体となった。

そこで本研究では女王蜂、働き蜂、人工飼養ミツバチの三種の幼虫を用いて、ミツバチのカースト分化関連遺伝子の発現をカースト分化が決定した直後となる4齢幼虫期に比較し、ミツバチのカースト分化経路を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

ミツバチのサンプリング

働き蜂幼虫

女王蜂を卵採集用ケージに入れて産卵させた。孵化後、幼虫は巣内の働き蜂によって給餌させた。

女王蜂幼虫

女王蜂を卵採集用ケージに入れて産卵させた。卵は孵化後6時間以内にケージから取り出し、あらかじめ女王蜂を除外したコロニーに設置した王台(女王蜂幼虫育成用の巣穴)へ移し、働き蜂に給餌させた。

人工飼養幼虫

女王蜂を卵採集用ケージに入れて産卵させた。卵は孵化後6時間以内にケージから取り出し、グルコース、フルクトース、酵母エキス、ローヤルゼリーからなる培地で満たしたシャーレに移し、インキュベーター内で34.5°C、湿度95%の条件で育て、毎日新規の餌に交換した。

これらの幼虫は、カースト分化の決定直後となる孵化後96時間の4齢幼虫期にサンプリングし、-80°Cで凍結保存した。

遺伝子発現解析

幼虫全体から mRNA を抽出し、cDNA の合成を行った。real time RT-PCR では *actin1* をリファレンスとして IIS 経路遺伝子 (*AmILP-1*, *AmILP-2*, *InR-1*, *IRS*) および TOR 経路遺伝子 (*PDK1*, *amAKT*, *amFOXO*, *amTOR*, *amp60*, *amp110*) の発現解析を行った。

結果・考察

人工飼養ミツバチのカースト分化関連遺伝子の発現は、働き蜂や女王蜂と比べて *PDK1* を除くすべての遺伝子で顕著に低い発現を示した(図1)。また女王蜂の4齢幼虫は *PDK1* と *AmILP-1* の発現量が働き蜂より高くなることが Wheeler et al. (2006, 2013)の研究により明らかにされている。そのため人工飼養ミツバチの形態形成では *PDK1* と *AmILP-1* の発現が関与している可能性がある。

今後の展望

今後の研究では、人工飼養ミツバチを用いた *ILP-1* の過剰発現、または *PDK-1* の発現抑制による形質への影響の観察や、4日齢前後のカースト分化関連遺伝子について発現解析を行うことでカースト分化経路の探索を行っていききたい。

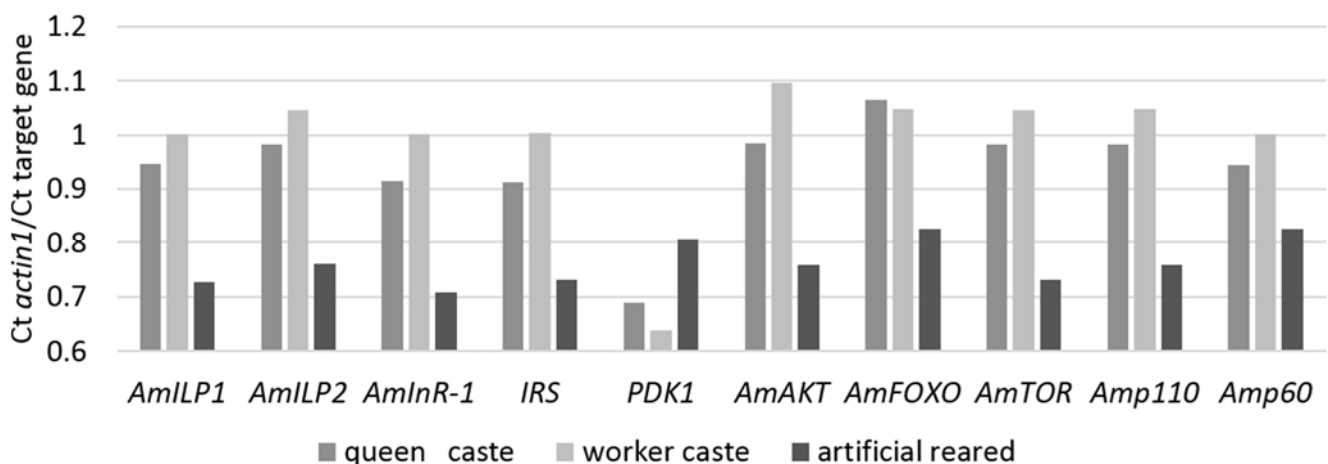


図1. IIS 経路および TOR 経路のカースト分化関連遺伝子群発現