

## ショウジョウバエの飢餓条件下における早期蛹化現象に関する研究

阿部 奏仁 (筑波大学 生物学類)

指導教員：岡本 直樹 (筑波大学 生存ダイナミクス研究センター)

## 【背景・目的】

栄養は、生物の成長や発達の制御に必須な環境因子である。しかし、自然界において常に十分な栄養があるとは限らない。そのため、生物は、様々な栄養条件に応じて、成長や発生タイミングを適切に制御する分子機構を持つと考えられる。

昆虫では、幼虫が成虫になるのに十分な栄養を摂取した後に飢餓条件に置かれた際、通常の餌条件よりも早く蛹化する現象「早熟蛹化」が知られている<sup>1</sup>。早熟蛹化は、栄養の損失を防ぎ、成虫として羽化するタイミングを早める適応現象であると考えられる。しかし、早熟蛹化がどのようなメカニズムによって引き起こされているかは未解明である。

所属研究室では、モデル生物であるキロショウジョウバエ *Drosophila Melanogaster* を用いて、早熟蛹化における昆虫ステロイドホルモン/エクジステロイドの役割に着目している。エクジステロイドは、前胸腺 (Prothoracic Gland : PG) と呼ばれる内分泌器官で生成されて、昆虫の脱皮と変態を制御する<sup>2</sup>。エクジステロイド合成酵素遺伝子の1つである *shroud (sro)*<sup>3</sup> を PG 特異的にノックダウンした幼虫 (*sroRNAi* 個体) は、エクジステロイド生成の低下により蛹化しなくなる。ところが驚くべきことに、早熟蛹化を誘導する飢餓条件下では *sroRNAi* 個体が蛹化することが見出された (Lin ら, 未発表)。この結果から、早熟蛹化を誘導する飢餓条件では、何らかの機構によって、PG 以外の組織においてエクジステロイド生成が誘導される可能性、またはエクジステロイドの作用 (エクジソンシグナリング) が促進される可能性が示唆された。

そこで本研究では、早熟蛹化の条件下で PG 以外の組織においてエクジステロイド生成が誘導されるという仮説を立て、先行研究の結果を再検証するとともに、エクジステロイド生成遺伝子群の発現量の変化を解析した。

## 【方法】

## (1) 早熟蛹化の計測

孵化直後の幼虫を通常餌にて飼育 72 時間後、通常餌の入ったミニバイアル (餌条件) と湿らせたスポンジのみのミニバイアル (飢餓条件) に幼虫を分け飼育した。その後、24 時間ごとに蛹の数をカウントし、蛹化率を計測した。

## (2) 早熟蛹化の精緻な計測

*Drosophila Individual Activity Monitoring and Detection System (DIAMonDS)*<sup>4</sup> を利用した個体別自動モニタリングシステムを用いて早熟蛹化の計測を行った。

(3) 組織特異的遺伝子発現誘導システム (*Gal4-UAS* システム)

を用いた遺伝子ノックダウン

PG 特異的 *Gal4* 系統 (*spok-Gal4*) を、*sroRNAi* 系統 (*UAS-sroRNAi*) と交配し、PG 特異的に *sro* をノックダウンした (*sroRNAi* 個体)。コントロールには、*spok-Gal4* を *w<sup>1118</sup>* と交配した個体 (コントロール個体) を用いた。

## (4) 定量 RT-PCR 法による遺伝子発現量の解析

餌条件または飢餓条件に分けて 6 時間後の個体または組織から RNA を抽出し、逆転写反応によって cDNA を作成した。各エクジステロイド合成酵素遺伝子群 (*neverland*, *spok*, *phantom*, *disembodied*, *shade*, *shadow*, *sro*) 及び、エクジソン受容体遺伝子 *EcR* に対する特異的プライマーを用いてリアルタイム PCR を実施した。得られた定量値をハウスキーピング遺伝子 *rp49* で補正し、遺伝子発現量を算出した。

## 【結果・考察】

飢餓条件下では、餌条件下と比べてどれほど早く蛹化するのかをより正確に調べるため、個体別かつ大量に自動モニタリング可能な DIAMonDS を利用して、精緻な蛹化タイミング測定を行った。その結果、飢餓条件では餌条件と比べて、約 10 時間の早熟蛹化が誘導されることが明らかになった。

先行研究の結果を確認するため、*sroRNAi* 個体を飢餓条件にて飼育し、蛹化率を調べた。その結果、*sroRNAi* 個体は餌条件では幼虫で発育停止するのに対して、飢餓条件では約 50% の個体が蛹化することがわかった。この時、何らかの機構によって、エクジステロイド生成が促進されるという仮説の下、餌条件及び飢餓後 6 時間における各エクジステロイド合成遺伝子の発現量を全身サンプルを用いて解析した。その結果、予想に反して、飢餓条件において、エクジステロイド合成遺伝子群の発現量は減少する傾向がみられた。次に、PG とそれ以外の組織における発現量の違いを考慮するため、PG-脳複合体とそれ以外の組織に分けて、エクジステロイド合成遺伝子群の発現量を解析した。その結果、飢餓条件下の *sroRNAi* 個体の PG において、一部のエクジステロイド合成遺伝子が、コントロールと比べて増加していた。また、PG-脳複合体以外の組織における *shade* の発現量は増加する傾向がみられた。

以上の結果から、飢餓条件において、PG と末梢組織でエクジステロイド合成遺伝子群の発現量が増加することによって、エクジステロイド生成が促進される可能性が支持された。

## 【今後の展望】

早熟蛹化を誘導する飢餓条件によって、エクジステロイド合成酵素遺伝子群の発現調節機構がどのように制御されているかを検討する。また、末梢組織におけるエクジソンシグナリングが飢餓によって活性化されることで、エクジステロイド合成不全の条件 (*sroRNAi*) でも蛹化が進む可能性を検討するため、エクジステロイド受容体や応答遺伝子の発現を解析する。

## 【参考文献】

1. Mirth, C.K., et al., *BioEssays*, 2007, 29 (4), 344-355.
2. Niwa, R., et al., *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2014, 78 (8), 1283-1292.
3. Niwa, R., et al., *Development*, 2010, 137 (12), 1991-1999.
4. Seong, K., et al., *eLife*, 2020, 9, e58630.