

宿主・非宿主ショウジョウバエに対する寄生蜂 *Asobara japonica* の毒作用の比較解析

森 一葉 (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】

ハチ目に属する寄生蜂のグループは、昆虫全体の種数の約20%を占めると推定されるほどに、多様性に富む¹。生態学的調査・研究から、それぞれの寄生蜂はその種に特異的な宿主を有することが明らかとなっている。興味深いことに、たとえ宿主と非常に近縁な種であっても、寄生蜂による寄生が成立しない非宿主が存在する事例が多く報告されている。このような寄生蜂の宿主特異性は、宿主と非宿主の生理学的な特性の違いに基づくと推測されてきたが、そのメカニズムが解明された例はほとんどない。

寄生蜂の一種である *Asobara japonica* (以下、*A. japonica*) は、キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* (以下、*D. mel*) を含むショウジョウバエ属の多くの種を宿主とする。*A. japonica* に産卵された宿主の幼虫は、その後も成長を続けて蛹化する。その蛹からは、*A. japonica* 一個体が羽化する。一方、*D. mel* と同属他種で形態の似たイチジクショウジョウバエ *Drosophila ficusphila* (以下、*D. fic*) は、*A. japonica* に産卵されても寄生が成立しない非宿主であることが報告されている²。

所属研究室の先行研究において、*A. japonica* の毒が、*D. mel* の成虫の成虫原基 (成虫の前駆組織) でアポトーシスを誘導することが見出されている (島田ら、未発表)。私は、宿主 *D. mel* と非宿主 *D. fic* において、この毒に対する応答性の違いがあるのではないかと考えた。そこで本研究では、*A. japonica* の寄生過程における宿主 *D. mel* と非宿主 *D. fic* の行動と組織の応答を比較解析することにより、*A. japonica* の対する毒の作用機序と宿主特異性を決める分子機構を明らかにすることを目指した。

【方法】

実験1. 寄生の成功率と感染行動の観察

A. japonica を *D. mel* と *D. fic* の幼虫 10 個体ずつに産卵 (感染) させ、その後、感染個体から羽化した種と個体数を計測した。また、感染時の行動を動画で撮影した。

実験2. *A. japonica* 感染後の翅原基のアポトーシス活性の比較

A. japonica の感染4時間後に、*D. mel* と *D. fic* の翅原基を解剖・固定し、アポトーシス実行因子である切断型 death caspase (cDcp1, Cell Signalling Technology) に対する免疫組織化学染色を行った。加えて、アポトーシスによる DNA の断片化を標識する TUNEL (Roche) の染色を行った。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を観察した。

実験3. 翅原基と毒腺の共培養実験

D. mel と *D. fic* の翅原基、及び *A. japonica* の毒腺を切り出し、Schneider's *Drosophila* medium にて4時間共培養した。培養後、2の実験と同じ方法で翅原基でのアポトーシス活性を観察した。

実験4. 感染個体に含まれるアポトーシス誘導活性の比較

感染24時間後の *D. mel* と *D. fic* の全身を PBS 中ですり潰し、遠心分離した上清を回収して抽出液を得た。各抽出液を *D. mel* のアポトーシスレポーターGC3Ai を翅原基で強制発現させた系統に顕微注入した。注入4時間後に翅原基を固定し、GC3Ai の蛍光を観察した³。

【結果・考察】

実験1: 感染時、*D. fic* では *D. mel* よりも *A. japonica* に針を刺されると激しく抵抗する様子が見られた。しかし、産卵行動は最後まで行われた。その後、*D. mel* 感染個体からは *A. japonica* のみが羽化し、*D. fic* 感染個体からは *D. fic* のみが羽化した (先行研究と一致⁴)。従って、*A. japonica* は産卵行動以外の要因により、*D. fic* への寄生を成立できないことが支持された。

実験2: 感染4時間後の *D. mel* の翅原基では cDcp1 と TUNEL の蛍光が顕著に上昇していたのに対して、感染4時間後の *D. fic* の翅原基では cDcp1 と TUNEL の蛍光の増加は見られなかった。よって、*D. mel* では感染後に翅原基のアポトーシスが誘導されるのに対して、*D. fic* では誘導されないことが示唆された。

実験3: *D. mel* だけでなく *D. fic* の翅原基でも cDcp1 と TUNEL の蛍光が増加した。この結果は、感染個体を用いた実験2の結果とは異なり、培養下の *D. fic* の翅原基は *A. japonica* の毒に応答することが示唆された。よって、*D. fic* の体内成分が毒のアポトーシス誘導活性を抑制する可能性が示唆された。

実験4: *D. mel* 感染個体の全身抽出液にはアポトーシス誘導活性が検出されたのに対して、*D. fic* 感染個体の全身抽出液ではアポトーシス誘導活性がみられなかった。よって、*D. fic* の体内成分が毒のアポトーシス誘導活性を抑制する可能性が支持された。

本研究から、宿主 *D. mel* と異なり、非宿主 *D. fic* では翅原基でアポトーシスが誘導されないことが明らかとなった。また、*D. fic* の翅原基以外の体内成分により、毒のアポトーシス誘導活性が抑制することが強く示唆された。これらの結果から、非宿主の *D. fic* は *A. japonica* の毒のアポトーシス誘導作用に対して、有効な防御機構をもつことが示唆された。

【今後の展望】

以上の結果から、宿主 *D. mel* と非宿主 *D. fic* において、*A. japonica* の感染後に起こる体内の防御機構の差異が、寄生の成功を左右する可能性が強く支持された。現在はこの防御機構の差異をもたらす遺伝子を特定するために、感染後に発現が変動する遺伝子の違いを比較するトランスクリプトーム解析を行っている。

今後、寄生者と宿主、非宿主を含めた宿主特異性のメカニズムの解明により、寄生を取り巻く進化・種分化や生態系の構造へ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) LaSalle, J., & Gauld, I. (1991). *Redia*, 74(3), 515–334.
- 2) Ideo, S., Watada, M., Mitsui, H., & Kimura, M. T. (2008). *Entomological Science*, 11(1), 1–6.
- 3) Schott, S., Ambrosini, A., et al. (2017). *Development (Cambridge)*, 144(20), 3840–3846.
- 4) Furihata, S. X., & Kimura, M. T. (2009). *Physiological Entomology*, 34(3), 292–295.