

第13回昆虫病理研究会シンポジウム

[講演要旨集]

第13回昆虫病理研究会シンポジウムプログラム

- 開催日：平成30年9月20日（木）～9月22日（土）
- 会場：富士 Calm（財団法人 人材開発センター富士研修所）

第13回昆虫病理研究会シンポジウムプログラム

○ 開催日：平成30年9月20日（木）～9月22日（土）

○ 会場：富士 Calm（財団法人 人材開発センター富士研修所）

第1日目：2018年9月20日（木）

14:00～14:10	開 会
14:00～14:05	開会の挨拶
14:05～14:10	会長の挨拶
14:10～16:40	シンポジウム I 昆虫病原細菌研究の最前線 座長：畠山 吉則（日大生物資源）
14:10～14:40	1) ○Takashi Yamamoto, Michi Izumi Willcoxon, Jingtong Hou, Albert Lu*, Virginia Crane*, Mark Nelson*, John Mathis*, Zhenglin Hou*, Gusui Wu (Corteva Agriscience, Agriculture Division of DowDuPont) 「 <i>Bacillus thuringiensis</i> Cry1B to Enhance the Activity against <i>Helicoverpa zea</i> (Corn Earworm)」
14:40～15:10	2) 小池 正徳（帯畜大） 「 <i>Bacillus thuringiensis</i> の生態学」
15:10～15:40	3) 武部 聡（近大） 「 β 型膜孔形成毒素 Cry46Ab の殺虫活性について」
15:40～16:10	4) 榊原 暁 ¹ ・植田 翔 ² ・武部 聡 ² ・井出 徹 ¹ ・○早川 徹 ¹ （ ¹ 岡山大・ 院・ヘルスシステム統合科学、 ² 近畿大・生物理工） 「新規な殺蚊トキシシン Cry46Ab の小孔形成」
16:10～16:40	5) 阿出川 さとみ（農工大院 BASE） 「受容体 ABC トランスポーターへの結合に寄与する Cry 毒素ドメイン II のループ根元領域」
16:40～17:00	休 憩
17:00～18:00	特別講演 I 座長：仲井 まどか（農工大） Yu Yong Man（忠南大学 韓国） 「Current status and task of scientific research of biological control in Korea」
18:00～19:00	夕食
19:00～21:00	懇親会

第2日目：2018年9月21日（金）

～9:00	ポスター・セットアップ
9:00～10:00	シンポジウムⅡ ～微生物防除の最前線 座長：小池 正徳（帯畜大）
9:00～9:30	1) 増田 俊雄（一社 宮城植防、元宮城農園研） 「害虫防除研究におけるこれまでの取組と将来展望」
9:30～10:00	2) 相内 大吾（帯畜大） 「昆虫寄生菌による感染症ベクターの行動制御」
10:00～11:00	休 憩
11:00～12:00	特別講演Ⅱ 座長：佐藤 令一（農工大 BASE） 岩野 秀俊（日大生物資源） 「研究の生きがいと微胞子虫病研究のおもしろさ」
12:00～13:00	昼 食
13:00～14:30	シンポジウムⅢ ～昆虫ウイルス研究の最前線 座長：池田 素子（名大院生命農）
13:00～13:30	1) 高務 淳（森林総研） 「ポリントウイルス」
13:30～14:00	2) 國生 龍平（金沢大理工） 「宿主体内におけるバキュロウイルスの感染拡大機構」
14:00～14:30	3) 伊藤 克彦（農工大農） 「カイコ濃核病ウイルス抵抗性/感受性遺伝子産物からウイルス感染機構を考察する」
14:30～14:50	休 憩

14:50~17:20	<p>シンポジウムⅣ ～病原体による昆虫の性・生殖操作の最前線</p> <p>座長：勝間 進（東大農）</p>
14:50~15:20	<p>1) ○勝間 進・川本 宗孝・庄司 佳祐・木内 隆史（東大農）</p> <p>「ボルバキアがアワノメイガのオス殺しを実行する仕組み」</p>
15:20~15:50	<p>2) ○大手 学・嘉糠洋陸（慈恵医大）</p> <p>「ボルバキアによる宿主操作の分子基盤」</p>
15:50~16:20	<p>3) ○井上 真紀・仲井 まどか・国見 裕久（農工大農）</p> <p>「チャハマキにおける共生微生物による性操作」</p>
16:20~16:50	<p>4) ○藤田 龍介¹・井上 真紀²・高松 巧²・新井 大²・小山 裕徳²・阿部 信彦²・西野 真由²・糸川 健太郎³・仲井 まどか²・国見 裕久²（¹北大農・²農工大農・³感染研）</p> <p>「チャハマキで後期オス殺しを誘導する Osugoroshi virus に関する研究」</p>
16:50~17:20	<p>5) ○陰山 大輔¹・和多田 正義²（¹農研機構・²愛媛大）</p> <p>「ショウジョウバエで見つかったウイルスが原因と思われるオス殺し現象」</p>
17:20~18:00	ポスター準備
18:00~19:00	夕食
19:00~21:00	ポスター発表とイブニングディスカッション

第3日目：2018年9月22日（土）

9:00~11:20	シンポジウムV ～微胞子虫・線虫研究の最前線 座長：青木 智佐（九大院農）
9:00~9:30	1) ○島山 吉則・中村 春花・井村 祐二・荒井 怜奈・小山内 春陽・高橋 萌会・岩野 秀俊（日大生物資源） 「外来性巨大微胞子虫の国内侵入状況とその性状について」
9:30~10:00	2) ○神崎 菜摘 ¹ ・浴野 泰甫 ² （ ¹ 森林総研関西・ ² 鹿児島連大／佐賀大農） 「菌食、捕食、昆虫寄生：食性の多様化に伴う構造的変化」
10:00~10:20	3) ○小野 雅弥・早川 洋一・濱 洋一郎・吉賀 豊司（佐賀大農） 「自活性線虫 <i>Caenorhabditis elegans</i> による昆虫の包囲化回避機構の解明」
10:20~10:50	休憩
10:50~11:20	4) 新屋 良治（明治大農／JST さきがけ） 「昆虫便乗性線虫における遺伝学モデル系の確立」
11:30~11:50	ポスター賞の発表・表彰
11:50~12:00	閉会の辞

1)

A Cry1B Protein Showing High Activity against *Helicoverpa zea*

○Takashi Yamamoto, Michi Izumi Willcoxon, Jingtong Hou, Albert Lu*, Virginia Crane*, Mark Nelson*, John Mathis*, Zhenglin Hou*

(Corteva Agriscience, Trait Discovery & Optimization, Hayward CA and Johnston IA*, USA)

Bacillus thuringiensis (Bt), Cry1B-family insecticidal proteins have diversified Domain III. For example, Cry1Bd has a Cry1Ac-type Domain III while Cry1Be has a Cry1Cb-type Domain III. We are interested in a group of Cry1Bs, which have a Cry1Ac-type Domain III, such as Cry1Bd, Cry1Bh, Cry1Bi, and Cry1Bj.

Cry1Ac is known for its high activity against the *Heliothis/Helicoverpa* complex. However, having a Cry1Ac-type Domain III alone does not make Cry1B active against these insects, especially *H. zea* (corn earworm). For instance, we have observed that Cry1Bd inhibits the feeding of *H. zea* but causes almost no mortality at a dose below 200 ppm. Also, Cry1Bh (Lira *et al.* 2013) and Cry1Bi (Sampson and Tomso, 2011) were reported to have low activity against *H. zea*.

Conversely, we have discovered that Cry1Bj has relatively high activity against *H. zea*. Single amino acid and block swapping between Cry1Bd and Cry1Bj identified a combination of amino acid residues specific to Cry1Bj, particularly those in Domain I, that appears important for its *H. zea* activity, not any single amino acid. Nevertheless, the observed activity level of Cry1Bj is not high enough for the commercial application of transgenic corn to control *H. zea*. We are interested in engineering Cry1Bj to enhance the activity by DNA-shuffling and saturation-mutagenesis technologies. A 3D structure model of Cry1Bj was produced based on 3D X-ray structures of Bt Cry proteins and used to identify amino acid residues which may be important for enhancing the activity of Cry1Bj by saturation mutagenesis.

First, we conducted a family shuffling (Stemmer, 1994) among Cry1Bj, Cry1Bd, and Cry1Ka to create a sequence-diversified library and screened the library for higher *H. zea* activity than that of Cry1Bj. One variant showed a 3.4-fold activity enhancement over Cry1Bj. Selected amino acid residues, mostly solvent exposed, of this variant were subjected to saturation mutagenesis to find specific sites where certain substitutions caused significant activity increase (up-mutants). Those up-mutants were combined to make new Cry1B variants showing further improved activity against *H. zea*.

This process of selecting sites and making saturation mutagenesis to find up-mutants followed by combinatorial assembly was repeated several times to create a new Cry1B protein, which demonstrated a 30-fold activity increase against *H. zea* over the original Cry1Bj. After it was confirmed that this variant retains the original insect specificity of Cry1Bj to *H. zea* by competitive BBMV binding, the *in-planta* efficacy of this variant to control *H. zea* was examined in stably transformed corn plants. This engineered variant protected the transgenic plant especially ears against insect damage.

Crickmore (2000) in J. F. Charles *et al.* (eds.), Entomopathogenic Bacteria: From Laboratory to Field Applications, 65-79, Kluwer Academic Publishers

Lira et al. (2013) Appl. Environ. Microbiol. 79, 7590-7597

Sampson and Tomso (2011) NCBI Accession Number: AGU13865

Stemmer (1994) Nature 370, 389-391

2)

Bacillus thuringiensis の生態学

小池正徳（帯広畜大・環境微生物）

Bacillus thuringiensis (BT) は微生物殺虫剤として古い歴史を持ち、現在では世界中で使用されており、もっとも販売量の多い微生物殺虫剤である。また、遺伝子組み換え作物へのCry毒素遺伝子の導入や毒素-レセプターの分子生物学、ゲノム解析等に関して、その研究は進んでいる。最近になり、BTが糸状菌や細菌による植物病害や植物寄生性線虫の被害を抑制することがわかってきた。これはBTの代謝産物がエリシター（エフェクター）として作用し、植物の病害抵抗性関連遺伝子を誘導し、発病を抑制することが示唆されている。しかし、このメカニズムに伴うBTの生態学の知見は明らかに他の*Bacillus*剤に比べると少ない。本シンポジウムでは現在までに報告されているBTの生態学をまとめ、今後の新しいBTの使用法について提案したい。

3)

β 型膜孔形成毒素 Cry46Ab の殺虫活性について

○武部 聡¹, 仲川 直¹, 秋山 翔¹, 東 慶直¹, 早川 徹² (1 近大・BOST, 2 岡山大・院・ヘルスシステム統合科学)

Cry46Ab は *Bacillus thuringiensis* TK-E6 株が産生する 33 kDa のタンパク質で、アミノ酸配列から予想される立体構造はアエロリシンやライセニンなどの β 膜孔形成タンパク質毒素 (β PFT) と似ている。 β PFT は標的細胞膜上でオリゴマー化および膜陥入により β バレル型の膜孔を形成するが、その作用に重要とされる β ヘアピン構造やヒドロキシア

ミノ酸が豊富なβシートなどはCry46Abにも認められる。

Cry46Abはパラスポリンの一つとして発見されたので、プロテナーゼK処理で活性化するとガン細胞に細胞毒性を示す。また、Cry46Abの不溶性顆粒はボウフラ、イトミミズ、スクミリンゴガイ稚貝などの水生生物に対して高い食毒性致死作用を示すことがわかった。一方、ヒメダカやセンチュウには毒性を示さない。

Cry46Abは、130 kDaや70 kDaタイプの3dCryとのアミノ酸配列相同性がほとんど無いことから殺虫機構も異なると予想される。Cry46Abの複数の生物種に跨がる毒性は、BT剤の欠点を補う殺虫剤への利用が期待できる。

シンポジウム I 昆虫病原細菌研究の最前線

座長：畠山 吉則（日大生物資源）

4)

新規な殺蚊トキシンCry46Abの小孔形成

榑原暁¹・植田翔²・武部聡²・井出徹¹・○早川徹¹（¹岡山大・院・ヘルスシステム統合科学、²近畿大・生物理工）

Cry46Abは土壌細菌 *Bacillus thuringiensis* TK-E6 株に由来するトキシンである。Cry46Abの構造はアエロリシン型小孔形成トキシンと類似しており、ヒト白血病ガン細胞に対する選択的な細胞損傷活性のほか、蚊(アカイエカ)幼虫に対して強い殺虫活性を示す。また殺蚊活性においては既知のCryトキシン、特にCry4Aaとの相乗作用が観察されてお

り、その利用は持続可能な新しい蚊防除システムの構築に資すると期待される。本研究グループでは近年、この新しい殺蚊トキシン Cry46Ab の作用機構に関する研究を進めている。ここでは作用機構の中心となる小孔形成、特に人工脂質平面膜を用いた電気生理学的な解析やリポソームを用いた解析で得られた最近の結果を紹介すると共に、小孔形成と殺虫活性、他の殺蚊 Cry トキシンとの相互作用との関連についても議論する。

シンポジウム I 昆虫病原細菌研究の最前線

座長：畠山 吉則（日大生物資源）

5)

受容体 ABC トランスポーターへの結合に寄与する Cry 毒素ドメイン II のループ根元領域

○阿出川さとみ・佐藤令一（東京農工大院 BASE）

多様な種類を持つ *Bacillus thuringiensis* Cry 毒素が、様々な昆虫の ABC トランスポーターファミリー分子を受容体として広く利用し、その毒性を発揮することが明らかになってきている。基本的な構造がよく似た Cry 毒素のどの領域が ABC トランスポーターとの相互作用に重要なのか、またその領域は異なる毒素間でどの程度共通しているのか。筆者らはこれらの問いに答えを出すため、多数の Cry1Aa 毒素変異体を作製し、カイコガ *Bombyx*

mori の ABC トランスポーターC2 受容体 (BmABCC2) との結合親和性および、BmABCC2 を介した細胞障害活性を詳細に解析してきた。その結果、Cry1Aa 毒素の三つのドメインのうち、ドメイン II の柔軟なループ部位がクレフト状の複雑な窪みを形成していること、そして BmABCC2 との結合に重要なアミノ酸残基がその窪みの奥まった位置にあるループ 2、3 の根元の領域を跨ぐように何点か存在することが明らかとなった。本発表ではこれらの結果に加え、現在解析中の異なる Cry 毒素間でこの根元の領域のアミノ酸をすげ替えた変異体の結果や、筆者らが解析した BmABCC2 側の Cry1A 毒素と相互作用する領域や他の研究グループの報告も紹介し、Cry 毒素が様々な昆虫種を殺すため、それぞれの昆虫の ABC トランスポーターに対応し、進化してきた様相について考えたい。

特別講演 I

座長：仲井 まどか（東京農工大院）

Current status and task of scientific research of biological control in Korea

Yu Yong Man (Chung Nam University, Korea)

最近韓国の農業は、化学農薬の過剰使用による農業生態系の破壊が加速され、消費者の安全農産物を見つける要求度が高くなってきている。一方、政府は、次世代のための持続可能な農業を推進する目的で、環境保全型農業を大規模に始める方針である。環境にやさしく安全な農産物を生産するため新しい防除資材の開発が急務である。そのため、生物的防除資材として使用される天敵昆虫の利用や、植物抽出物、天敵微生物資材の研究が非常

に活発に研究され商品化が推進されてきている。韓国における昆虫病原微生物に関する研究は、細菌、ウイルス、真菌および線虫などの防除資材としての研究が進められてきているが、専門の研究者や研究機関が非常に少ないのが現状である。昆虫病原細菌 *Bacillus thuringiensis* の研究は、主に新しい宿主範囲を示す菌株の選抜や、農業現場に新たな問題となった害虫への適用拡大などの研究が進められている。最近の施設栽培において問題となっているチビクロバネキノコバエ (*Bradysia agrestis* Sasakawa) に対して毒性を示す菌株の研究、きのこパリ (*Lycoriella ingenua*) に対して生物活性を示す菌株についての研究が報告されている。一方、昆虫ウイルスの研究については、韓国の農業現場で使用が難しいため、主に研究室で昆虫生体を用いた動物のワクチン試作品製作と実用化技術が試みられている。昆虫病原性線虫の研究については、*Steinernema carpocapsae* Pocheon が国内で活発に研究されており、Bicosys 会社によりセーフグリーンという商品名で商品化され使用されている。

シンポジウム II 微生物防除の最前線

座長：小池 正徳（帯広畜産大）

1)

害虫防除研究におけるこれまでの取組と将来展望

増田俊雄（一社 宮城植防、元宮城農園研）

今回のシンポジウムでは、私が現役時代に行った研究のうち、思い返すと「面白かったなあ」とか「頑張ったなあ」と感じている仕事の一部を紹介します。

始めに、マイナー害虫の発生生態の仕事に関わった土着天敵類による害虫密度抑制効果について、一つ目はウドの害虫ヒメシロコブゾウムシの発生生態調査で、産卵前成虫の急

激な密度現象がなぜ起こったのかを推察します。二つ目は南方系昆虫であるミツモンキンウワバのダイズでの大発生と急激な密度低下要因について、現地調査の結果を基に解説します。

続いて、過去に実施した仕事に関して、当時は気が付かなかったけれども経験を積み、知識が増えたことで新たに見えてきたこと、当時得られた結果で疑問に思っていたことが解消されたり、理論付けができたことなどに関して、リビングマルチ、光（視覚刺激）、昆虫病原糸状菌を利用した害虫防除の仕事を紹介します。

現場に近い研究者として、過去に行ってきた仕事が総合的病害虫管理（IPM）にどのように繋がってきたのかを改めて考え、これからの病害虫被害軽減方策の方向性を議論できればうれしいと思います。

シンポジウム II 微生物防除の最前線

座長：小池 正徳（帯広畜産大）

2)

昆虫寄生菌による感染症ベクターの行動制御

相内大吾（帯広畜産大学・GAMRC）

演者らは、これまで*Beauveria bassiana*のハマダラカ体内における感染動態の観察により、口吻からの感染経路が早期致死を引き起こす上で重要であり、菌体の脳への侵入が致死要因となっている可能性を明らかにした。これらの事象は様々な感覚器や感覚神経、中枢神経系が集中するハマダラカ頭部で起こることから、昆虫寄生菌の感染がハマダラカの

行動に与える影響を調査した。その結果、宿主探索行動および吸血行動が抑制され、総産卵数も低下することを明らかにし、昆虫寄生菌の感染によりハマダラカの行動を制御するベクター防除が可能であることを示した。また、近年では、昆虫寄生菌感染ハマダラカが吸血後すぐに致死する現象を捉え、致死・行動制御・吸血致死といういずれもベクターとしての機能を失う袋小路に昆虫寄生菌感染ハマダラカを閉じ込められる可能性を見出している。現在は、昆虫寄生菌の病原性を人為的にコントロールする技術を確立し、分子生物学的・生化学的比較解析を通じた「ハマダラカ行動制御遺伝子」の探索を進めており、その知見に関する紹介も紹介する。

特別講演 II

座長: 佐藤 令一(東京農工大院 BASE)

研究の生きがいと微孢子虫病研究のおもしろさ

岩野 秀俊 (日大生物資源応昆研)

私は、元々理科の教員志望であったので、研究者になるとは考えておらず、まさか大学に残って大学教員という研究教育職に従事するとは考えていなかった。1975年の学部卒業と同時に、私の恩師である石原廉先生の教えを受けながら、研究生活がスタートしたが、当初は研究の進め方もよくわからず、設備・施設や予算も乏しい中でとても苦労した。そ

れでも石原先生が家蚕微粒子病（＝昆虫感染性微胞子虫病）の専門家であったため、この道を継承することが一番の近道と考えて、地道にコツコツと微胞子虫病研究を今日まで続けてきた。微胞子虫（Microsporidia）は、様々な無脊椎動物や脊椎動物に感染症を引き起こす偏性細胞内寄生体であり、今までに約 1,300 種の微胞子虫が記載されている。記載された属の半数以上が昆虫に感染性を示すが、昆虫以外にも微胞子虫がヒトに感染して AIDS 患者の日和見感染症の原因となったり、ウナギや養殖アユなどの魚類にも感染することが知られている。ここでは、昆虫やヒトに感染症を引き起こす微胞子虫の属の特徴や近年の分子生物学的研究から得られた系統関係について言及し、人獣虫共通感染症的な側面を持つ微胞子虫のユニークさを紹介する。合わせて、数多く行ってきた微胞子虫病研究の中から、家蚕微粒子病病原体 *Nosema bombycis* の体内伝播機構と生活史を解明する際の苦労や喜びなどを研究の経緯と共に紹介することで、研究のおもしろさなども伝えたいと考えている。

シンポジウム III 昆虫ウイルス研究の最前線

座長：池田 素子（名古屋大院）

1)

ポリントウイルス

高務 淳（森林総研）

ポリントンと呼ばれる DNA トランスポゾン、原生物や、昆虫を含む動物のゲノムに広く分布しています。ポリントンは、メガウイルスやアデノウイルス、ビドナウイルス、ヴィロファージなどのモバイロームを生み出したのではないかと推測されています。ポリントンは、近年の解析からキャプシド遺伝子も持っていることが明らかとなり、もはや、ポリントンはウイルス、ポリントウイルスと言ってもいいのではとも考えられています。ただし、ウイルス粒子としてのポリントンを目で見えた人はいません。ポリント

ンに似たエレメントに原生生物のメガウイルスに寄生するヴィロファージが知られています。ヴィロファージは、正二十面体のウイルス粒子を形成します。ヴィロファージはメガウイルスの複製機構を利用して複製し、メガウイルスの複製を妨げますので、宿主である原生生物にとっては”いいウイルス”もしくは“ディフェンス”として機能します。最近、ヴィロファージは、原生生物のゲノムに組み込まれること、その結果として、原生生物の個体群がメガウイルスから守られることが報告されました。ポリントンが原生生物や動物のゲノムに組み込まれている理由は、上の例のように、メガウイルスの感染に対抗するため？なののでしょうか？ さて、その回答は誰にもわかりませんが、私と共同研究者は、昆虫ボックスウイルスから、ゲノム外のポリントン様エレメントを発見しており、当初はヴィロファージなんじゃないか！と一同大変エキサイティングしました。今は少し冷静にエキサイティングしています。このエレメントやポリントンや関係するエレメントのお話をしたいと思います。

シンポジウム III 昆虫ウイルス研究の最前線

座長：池田 素子（名古屋大院）

2)

宿主体内におけるバキュロウイルスの感染拡大機構

○國生龍平（金沢大理工）・勝間進（東大農）

病原体が宿主体内において感染領域や増殖効率を最大化するためには、病原体の移動の妨げとなる宿主の構造的障壁を突破する必要がある。昆虫の場合、基底膜と呼ばれる緻密な細胞外マトリックスの層が体組織の表面を覆っており、病原体が血リンパ液中から組織内部に侵入する際の大きな障壁となる。それに対し、バキュロウイルスは全身の組織に張

り巡らされた気管の末端の細胞への感染を足がかりにすることで、基底膜を迂回して組織内部へ侵入することが知られている。我々は、最近、バキュロウイルスが基底膜を回避するだけでなく、基底膜を突破する機構を持つことを発見した。バキュロウイルスの4回膜貫通タンパク質であるARIF-1の機能を解析した結果、ARIF-1を発現することで、ウイルス感染血球が気管幹部の表面に付着し、基底膜下の気管上皮細胞層に感染を広げる様子が観察された。このように、バキュロウイルスは気管の末端だけでなく基底膜に覆われた幹部からも組織内部に侵入することにより、感染拡大効率を飛躍的に向上させていると考えられる。本発表ではARIF-1の作用機序に関するこれらの結果を紹介するとともに、ARIF-1とは異なるメカニズムで感染拡大を促進するviral fibroblast growth factorと機能を比較することで、バキュロウイルスの全身感染における血球の重要性について議論したい。

シンポジウム III 昆虫ウイルス研究の最前線

座長：池田 素子（名古屋大院）

3)

カイコ濃核病ウイルス抵抗性/感受性遺伝子産物からウイルス感染機構を考察する

伊藤 克彦（東京農工大院）

カイコ濃核病ウイルス 2 型の感染の成否は、宿主であるカイコがもつ抵抗性/感受性遺伝子によって決定している。そして、この抵抗性遺伝子をもつカイコは、ウイルスの接種量をどれだけ増やしても感染しない“完全抵抗性”を示す。2008 年、我々の研究グループは、カイコゲノム情報を利用したポジショナルクローニングにより原因遺伝子の単離に成功した。抵抗性/感受性遺伝子は、ウイルスの標的組織である中腸の膜タンパク質をコー

ドしており、抵抗性型ではこの遺伝子の大部分が欠失していた。よってこの抵抗性は、ウイルスの細胞内への侵入を阻害することで機能していると推測された。

今回の発表では、単離した抵抗性/感受性遺伝子と濃核病ウイルスの関係について、最近明らかにした研究成果を中心に報告する。特に、抵抗性/感受性遺伝子がウイルスの標的組織である中腸においてどのような発現分布を示すのか、そして、ウイルス感染が抵抗性/感受性遺伝子の発現量に与える影響について報告したい。また、これら得られた結果からウイルスの感染機構について考察する。

シンポジウム IV 病原体による昆虫の性・生殖操作の最前線

座長：勝間 進（東京大院）

1)

ボルバキアがアワノメイガのオス殺しを実行する仕組み

○勝間 進・川本 宗孝・庄司 佳祐・木内 隆史（東京大院）

共生細菌であるボルバキアは、様々な方法で宿主の性や生殖を操作する。私たちは、カイコにおける性決定研究を通じて、カイコオス化因子 *Masculinizer* (*Masc*) が遺伝子量補償も制御すること、そして *Masc* を胚子期にノックダウンすると遺伝子量補償機構の破綻により、オス特異的な致死が引き起こされることを発見した (Kiuchi et al., *Nature*, 2014)。この現象はボルバキアが引き起こす「オス殺し」現象のフェノコピーであると考

えられたため、オス殺しボルバキアが感染したアワノメイガをモデルとしてその検証を行なった。トランスクリプトーム解析により、ボルバキア感染によってアワノメイガ *Masc* の発現が低下していること、および初期胚において遺伝子量補償機構が破綻していることが判明した。一方、人工的に合成した *Masc* cRNA をボルバキア感染胚子にインジェクションしたところオス殺しが回避されたことから、ボルバキアが宿主の *Masc* をターゲットにしてオス殺しを実行していることが明らかになった (Fukui et al., *PLoS Pathogens*, 2015)。

シンポジウム IV 病原体による昆虫の性・生殖操作の最前線

座長：勝間 進（東京大院）

2)

ボルバキアによる宿主操作の分子基盤

○大手 学・嘉糠洋陸（慈恵医大）

昆虫の体内には多様な微生物が共生する。その中でも特に、共生細菌ボルバキアと昆虫との密な関係は他の共生微生物とは一線を画する。例えば、ボルバキアは例外なく母親の生殖細胞の細胞質に感染し、卵の発生に必要な母性因子と共に子へと伝わることにより確実に垂直伝播する。また、宿主昆虫に雌化、雄殺し、単為生殖、細胞質不和合性といった生殖攪乱を引き起こすことにより、集団内での感染を拡大する。加えて、ボルバキアは宿

主細胞内においてデングウイルスなどのプラス鎖 RNA ウイルスの増殖を抑制することが知られており、この性質を利用して、人為的にボルバキアを導入したヤブカを放飼し感染症を阻止する試みが世界各地で実践されている。このようにボルバキアは、洗練された伝播様式と卓越した宿主操作機構を持つが、その詳しいメカニズムについては不明な点が多い。我々はボルバキア-宿主昆虫の相互作用を分子レベルで明らかにすることにより、その進化・生態学的意義を明らかにしたいと考えている。本講演では、モデル生物を用いた遺伝学的解析や、ボルバキア感染培養細胞を用いた研究から得られた最新の知見を紹介したい。

シンポジウム IV 病原体による昆虫の性・生殖操作の最前線

座長：勝間 進（東京大院）

3)

チャハマキにおける共生微生物による性操作

○井上真紀・仲井まどか・国見裕久（東京農工大院）

1976 年ノーベル生理学・医学賞を受賞したアメリカの医学者 Blumberg, B. は「しばしば最も面白い発見は『偶然』あるいは予想しない結果から現れてくる」と述べた。*Drosophila* におけるオス殺しも、やはり 1950 年に Cavalcanti, L. が飼育系統において偶然発見したものであった。チャハマキにおけるオス殺しの発見もまた、偶然による産物である。もともと茶の害虫の生物的防除研究において天敵相を調べる目的のために、1995 年、

つくば市の茶園から採集したチャハマキにメスに極端に性比が偏る性比異常系統が見つかった。しかも幼虫～蛹期に致死する後期オス殺しであり、バクテリアは検出されなかった。これまで、バクテリア以外が原因因子でなおかつ後期オス殺しは微孢子虫とカノ系でしか報告されていない。本講演では、チャハマキにおけるオス殺しの原因解明に向けた経緯と、そこから派生したバクテリアによる繁殖操作の研究も含めて、約 20 年におよぶ研究の歴史と今後の展望について発表する。

シンポジウム IV 病原体による昆虫の性・生殖操作の最前線

座長：勝間 進（東京大院）

4)

チャハマキで後期オス殺しを誘導するOsgoroshivirusに関する研究

○藤田龍介¹・井上 真紀²・高松 巧²・新井 大²・小山 裕徳²・阿部 信彦²・西野 真由²・糸川 健太郎³・仲井 まどか²・国見 裕久²（¹九州大院・²東京農工大院・³感染研）

オス殺しはオス個体特異的な致死によって集団における性比異常を引き起こす現象である。昆虫ではボルバキアやスピロプラズマなどのバクテリア感染によりオス特異的な胚性致死が引き起こされる例が知られている一方、日本国内で捕集されたチャハマキ個体群の一部で、幼虫-蛹期にオス特異的な致死を引き起こす例（後期オス殺し）が確認され、

この後期オス殺しを引き起こす因子（病原体）はバクテリアではなく少なくとも 2 種の RNA 分子を含むウイルスであると推察された。我々はこの後期オス殺し因子の同定を行い、これが新規パルチチウイルス様ウイルスであることを確認し、これを Osgoroshivirus (OGV) と命名した。パルチチウイルス科のウイルスはこれまでに植物や真菌類で分離されているウイルス群であり、昆虫からは OGV が初のパルチチウイルス分離例となる。OGV は分節型の 2 本鎖 RNA ウイルスで、そのゲノム構成も独特であり、現在はその詳細な解析を進めているところである。今回の講演では OGV についてこれまでの研究経緯と今後の展望について紹介させて頂く。

シンポジウム IV 病原体による昆虫の性・生殖操作の最前線

座長：勝間 進（東京大院）

5)

ショウジョウバエで見つかったウイルスが原因と思われるオス殺し現象

○陰山 大輔¹・和多田 正義²（¹農研機構・²愛媛大）

節足動物では、子どもがメスのみになる母系遺伝形質が広く知られており、原因因子としてボルバキア、スピロプラズマ、カルディニウム等、多岐の分類群に属する細菌が知られている。我々は、ヤマカオジロショウジョウバエ (*Drosophila bauraria*) で、非細菌性の全メス現象を発見した。この現象は母系遺伝で子孫に伝わり、テトラサイクリン処理を行っても全メス形質は維持されるが、滅菌フィルタ

一を通した摩砕物を正常系統に注射することにより、以降の世代がメスのみとなる。全メス系統では卵の孵化率が半減することから、全メスの仕組みは胚期にオスのみが死亡する初期型オス殺しであると考えられる。rRNA 除去した RNA-seq 解析により、約 1 kb のコード領域を持つ 4 種の転写産物が全メス系統のみに高レベルで存在していることが判明した。そのうちの 1 つが Partitiviridae 科に属する二本鎖 RNA ウイルスの RNA 依存型 RNA ポリメラーゼに高い相同性を示した。また FISH による観察から、4 配列が細胞質内に共局在していることが示唆されたことから、これら 4 種の産物は同一ウイルスに由来していると考えられる。本科に属するウイルスは、カビや植物ではよく知られているが、昆虫由来の NGS データベースにも相同性の高い配列が多数登録されていることから、新たな共生ウイルスあるいは生殖操作ウイルスとして今後の研究が期待される。

シンポジウム V 微胞子虫・線虫研究の最前線

座長：青木 智佐（九州大院）

1)

外来性巨大微胞子虫の国内侵入状況とその性状について

○畠山 吉則・中村 春花・井村 祐二・荒井 怜奈・小山内 春陽・高橋 萌会・岩野 秀俊
（日大生物資源）

微胞子虫は過去には原虫として認知されていたが、現在では特殊な菌類であると定義づけられている。微胞子虫の研究は蚕微粒子病の研究をもとに開始され、母蛾検査の実施により養蚕現場ではこれまで未然に防がれてきた。演者らのグループは長年にわたり、蚕室に侵入する微胞子虫の研究をおこなっており、これまでヤガ由来の蚕感染性の微胞子虫を

多数報告している。これまでにおこなった調査から国内で検出される微胞子虫の種類は比較的安定しており、微胞子虫感染層にもそれほどの異変はなかった。

しかし 2012 年におこなった小笠原諸島父島のヤガ捕獲調査で、これまでに国内では発見報告のない巨大な微胞子虫が発見された。この巨大微胞子虫は蚕に感染すると微粒子病の原因微胞子虫である *Nosema bombycis* ほどの猛烈な致死性を示さず。絹糸腺に集中感染するため吐糸時に薄眉をつくる。そのため病徴が現れにくく、発見が難しい微胞子虫である。この巨大微胞子虫が 2012 年以降国内各所で発見され、2015 年には蚕室でも初めて検出された。本講演ではこの巨大微胞子虫の侵入状況とその性状について発表する。

シンポジウム V 微胞子虫・線虫研究の最前線

座長：青木 智佐（九州大院）

2)

菌食、捕食、昆虫寄生：食性の多様化に伴う構造的変化

○神崎菜摘（森林総研関西）・浴野泰甫（鹿児島連大）

線虫類は非常に高い遺伝的可塑性をもつ生物群である。それゆえ、系統群内において短期間で生理、生態的多様化が起こる。このような線虫の一群、Aphelenchoididae 科は、樹木病原体であるマツノザイセンチュウを含むため、植物病理学的側面からの研究対象になることが多い。しかし、科内には、捕食性、昆虫寄生性種を主体とする一群、絶対的植物寄生者などが存在し、食性多様化研究の材料として、利用が期待される。今回は、捕食、

昆虫寄生種の生活史とその微細構造の関係に着目し、これらを科内での系統関係と比較した。そして、捕食種のひとつ、*Seinura* sp. を中心に、この捕食、寄生種群を紹介する。まず、系統解析結果から、本科内では、糸状菌食性種を起源として、捕食性種が出現し、ここから捕食能を保持したまま昆虫寄生性を獲得するに至ったものと考えられた。また、捕食、昆虫寄生種には角皮のクチクラのうち、最外層が肥厚し、明瞭な三層構造を持つという共通の特徴が見られた。この構造は近縁の糸状菌食者、植物寄生者には見られず、同様の構造をもつもの間では互いに捕食率が著しく低下したことから、この構造は自種、および近縁種からの捕食（共食い）回避機構の一つであると考えられた。

シンポジウムⅤ 微胞子虫・線虫研究の最前線

座長：青木 智佐（九州大院）

3)

自活性線虫 *Caenorhabditis elegans* による昆虫の包囲化回避機構の解明

○小野 雅弥^{1, 2}・早川 洋一^{1, 2}・濱 洋一郎^{1, 2}・吉賀 豊司^{1, 2}（佐賀大¹・鹿児島連大²）

昆虫は血体腔内に侵入した大型の異物を血球により包囲することで不活化する。当研究室のこれまでの研究で、昆虫病原性線虫だけでなく、非寄生性の *C. elegans* をチョウ目のハチノスツヅリガ幼虫の血体腔に注入しても線虫は包囲されないことが明らかになった。このことは、血球の包囲を抑制または回避する機構が線虫一般に存在する可能性を示唆している。我々は線虫による昆虫の免疫抑制・回避機構を解明するため、*C. elegans* とハチ

ミツガ幼虫を用いて、線虫が血球の包囲を回避するために利用する物質の探索を試みた。昆虫の血球は侵入した異物を包囲する際に活性化して、spreading と呼ばれる形態変化を起こす。ヘキサン-メタノールの混合溶媒（1：1）に *C. elegans* を浸漬して得た抽出物にはハチミツガ血球の spreading を阻害する効果が見られた。抽出物を薄層クロマトグラフィーにより展開するとトリグリセリド (TG)、コレステロール (Ch)、複合脂質のスポットが検出された。検出されたスポットの spreading 阻害効果を検討したところ、TG や Ch に阻害効果は見られず、複合脂質に阻害効果が見られた。これらの結果から、*C. elegans* の複合脂質にはハチミツガ血球の活性化を阻害する効果があることが示された。

シンポジウムⅤ 微胞子虫・線虫研究の最前線

座長：青木 智佐（九州大院）

4)

昆虫便乗性線虫における遺伝学モデル系の確立

新屋良治（明治大農・JST さきがけ）

線虫類と昆虫類はともに地球上で最も繁栄した動物群であり、お互いに様々な関係性を有している。線虫の中には昆虫を単に移動のための「乗り物」として利用する昆虫便乗性線虫というグループが存在し、この昆虫便乗性線虫の中には、マツ枯れの病原体であるマツノザイセンチュウのような植物寄生性を有する線虫種も含まれる。媒介昆虫による植物寄生線虫病の感染拡大を防ぐためにも昆虫便乗の仕組みを明らかにすることは重要であ

るが、実験材料としての扱いづらさもあり、分子レベルでの知見はこれまであまり得られていない。この問題を解決するために、近年演者はマツノザイセンチュウの近縁種である *Bursaphelenchus okinawaensis* という線虫種を用いて遺伝学モデル系を確立することに取り組んできた。本講演では、この新しい実験系を紹介し、現状の課題および今後の応用可能性について情報を提供したい。