

## 研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		共生細菌によって完全に転換される昆虫の性：その一般性の探索と分子メカニズムの解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Symbiont-induced complete reversal of insect sex: a search for its generality and mechanistic analyses at the molecular level			
研究氏 代 表 名 者	カカナ CC	姓) カゲヤマ	名) ダイスケ	研究期間 B	2010 ~ 2012 年
	漢字 CB	陰山	大輔	報告年度 YR	2012 年
	ローマ字 CZ	KAGEYAMA	DAISUKE	研究機関名	農業生物資源研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		農業生物資源研究所・主任研究員			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>2 種類の細胞内共生細菌ボルバキア(wGl と wFem)に重複感染された宿主昆虫(キチョウ)は染色体型がオス型(ZZ)であるにもかかわらず、完全なメスとして生殖能力を持つことがわかっている(オスからメスへの性転換現象)。一方、wGl のみに感染された個体では性における遺伝子型と表現型の不一致はみられない。性決定遺伝子 doublesex (dsx) は性特異的なスプライシングを受けるが、性転換によってメスになった宿主(染色体はオス型)では、dsx がメス型のスプライシングを示すことがわかっていた。そこで成長過程の幼虫を詳細に解析することにより、成長過程では雌雄両方のスプライシングがみられることがわかった。さらに、成長の初期ではオス型のスプライシング産物が多く、後期になるとメス型のスプライシング産物が多くなるという傾向がみられた。性転換を受けない wGl 単感染の宿主を調査すると、どの成長段階においても個体ごとに dsx のスプライシングは明瞭にどちらかの性の型をとっていたことから、ボルバキアは dsx スプライシングを、胚発生の初期に切り替えてあとはそれを維持していくという機構ではなく、生育途中に徐々にメス型に切り替えていっているという方法をとっていることが判明した。ボルバキアの密度を調査すると、生育途中、とくに幼虫後期から蛹、成虫にかけて劇的に上昇していることがわかり、dsx のスプライシング切り替えは、Wolbachia の密度に依存している可能性が示唆された。さらに、カイコオス培養細胞を用いて dsx スプライシングパターンを解析することにより、ボルバキアに感染してからその密度上昇にしたがって dsx のスプライシングはオス型から徐々にメス型にシフトしていき、最終的にはメス型のスプライシングのみが見られることがわかった。また、性決定遺伝子のカスケードが解明されているショウジョウバエの培養細胞にこれらのボルバキアを感染させることを試みた。様々な条件検討の結果、従来困難であるとされてきたショウジョウバエ細胞へのボルバキア人工感染に初めて成功した。そこで現在、ショウジョウバエ細胞を用いて性決定関連遺伝子の発現を解析することにより、性転換の分子機構を解明することを試みている。</p>					
キーワード FA	細胞内共生	細菌	性転換	昆虫	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Insect sex determination manipulated by their endosymbionts: incidences, mechanisms and implications							
	著者名 <sup>GA</sup>	Daisuke Kageyama, Satoko Narita, Masaya Watanabe	雑誌名 <sup>GC</sup>	Insects					
	ページ <sup>GF</sup>	161~199	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	2	巻号 <sup>GD</sup>	3
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要<sup>EZ</sup>

Coexistence of two strains of endosymbiotic bacteria Wolbachia (wCI and wFem) is known to transform a chromosomally male insect host (Eurema butterflies) into a functional female (feminization). On the other hand, discordance of sexuality in genotype and phenotype has never been observed in individuals singly infected with wCI. Doublesex (dsx), a sex-determining gene subject to sex-specific alternative splicing of mRNA, of feminized individuals was known to be spliced in a female-specific manner. Here, I investigated the splicing pattern of dsx in feminized individuals during their developmental course and found that, during development, they exhibited both male-specific and female-specific splicing patterns. More specifically, they tended to exhibit larger amount to male-specific splicing products in their early life, which gradually decrease during development. In the final stage (i.e., adult), they exclusively exhibit female-specific splicing of dsx. Each of the non-feminized individuals (wCI singly infecteds) exhibited either male-specific splicing or female-specific splicing depending on individuals. These results demonstrated that Wolbachia adopt a strategy to transform the dsx splicing gradually from male to female pattern during host development instead of completely transforming it in the early embryogenesis and retain it in the rest of their hosts' life. Wolbachia density was found to increase greatly during host development, particularly during late larval, pupal and adult stages, which implies that transformation of dsx splicing is dependent on Wolbachia density. Similar results were obtained also from the examination of the dsx splicing using the silkworm cell culture. A male cell culture showing male-specific dsx splicing tended to show female-specific pattern after inoculation of Wolbachia, which was dependent on Wolbachia density. Furthermore, I succeeded in transfecting the Wolbachia into Drosophila cell culture, which I am currently using to elucidate the mechanism of sex reversal of insects caused by the endosymbionts.