助成番号　210448	５－２

研 究 成 果 報 告 書

研究テーマ（和文）	光遺伝学で読み解くアブラムシ細胞内共生の分子メカニズム		
研究テーマ（英文）	Exploring host-symbiont interactions in aphids using optogenetic tools		
研究期間	2021　年 ～ 2025　年	研究機関名　基礎生物学研究所	
研究代表者	氏名	（漢字）	依田　真一
		（カタカナ）	ヨダ　シンイチ
		（英文）	Shinichi Yoda
	所属機関・職名		基礎生物学研究所・特任助教
共同研究者 （計　0　名） ＊２名をこえる場合は、【別紙追加用紙】（P3）に３人目以降を追記してください。	氏名	（漢字）	
		（カタカナ）	
		（英文）	
	所属機関・職名		
	氏名	（漢字）	
		（カタカナ）	
		（英文）	
	所属機関・職名		

概要 （600 字～800 字程度にまとめてください。）

本研究は、アブラムシとその共生細菌ブフネラとの細胞内共生における分子基盤を明らかにすることを目的として、時期・組織特異的な遺伝子発現操作系の確立を目指したものである。具体的には、光遺伝学的手法の確立により、胚発生過程における共生関連遺伝子の発現動態を可視化・操作可能とする新たな実験系を構築することを目指した。

まず「好きなタイミングで遺伝子発現を誘導するシステム」については、piggyBac ベクターを用いたアブラムシ受精卵への遺伝子導入を試みた。低孵化率ながらも一部個体は成虫まで成育したものの、蛍光タンパク質の発現個体や次世代への導入は得られなかった。別種のトランスポゾンでも同様であった。一方、phiC31 インテグラーゼを利用した方法に可能性を見出し、将来的には CRISPR ノックインにより attP 配列を導入し、large fragment を挿入できるシステムの構築を進める予定である。加えて、RNA-seq 解析により、hsp70 以外のストレス応答性遺伝子群を新たに同定した。

次に「CRISPR-Cas9 を用いた菌細胞での遺伝子発現動態の観察」では、large DNA fragment のノックインは未達成だが、HDR を利用して、菌細胞特異的に発現する BCR 遺伝子の N 末端への短配列タグ（約 50 bp）挿入には成功した。このタグはユニバーサル抗体で検出可能であり、今後多様な共生遺伝子への応用が期待される。

さらに、本研究では卵生メス成虫に CRISPR-Cas9 を直接注入することで、受精卵におけるノックアウトを誘導する新技術を開発し、論文として報告した（Shigenobu, Yoda et al., 2024）。また、トランスポゾン導入の予備検証として、実験系が確立されたカイコを用いた比較実験を行い、論文作成に貢献した（Yoda, 2025）。

以上より、本研究は当初の目標に沿った技術的基盤の一部を確立し、今後のアブラムシ研究に貢献する成果を得た。

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	論文課題	Refined CRISPR/Cas9 genome editing in pea aphids uncovers the essential roles of *Laccase2* in overwintering egg adaptation.				
	著者名	Shigenobu, S., **Yoda, S.**, Ohsawa, S., Suzuki, M.	雑誌名	bioRxiv		
	ページ	2025.04.03.645855	発行年	2 0 2 4	巻号	https://doi.org/10.1101/2025.04.03.645855
雑誌	論文課題	Morphogen-driven melanin pathway dynamics regulated by *Wnt1* and *apontic-like* underlie larval spot coloration in *Bombyx mori*.				
	著者名	**Yoda, S.**	雑誌名	bioRxiv		
	ページ	2025.04.03.645855	発行年	2 0 2 5	巻号	https://doi.org/10.1101/2025.04.03.645855
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ﾍﾟｰｼﾞ	

英文抄録（100 語～200 語程度にまとめてください。）

Intracellular symbiosis between insects and bacteria provides an ideal model to explore the molecular basis of obligate mutualism. In this study, I aimed to establish a gene expression system in the pea aphid *Acyrthosiphon pisum* that allows for temporal and spatial control, enabling *in vivo* visualization of gene activity within symbiotic bacteriocytes. I initially attempted germline transformation using *piggyBac* and other transposon systems, but no fluorescent protein expression was observed in G0 or G1 individuals. However, my preliminary trials using the *phiC31* integrase system suggest this may be a viable alternative. I also identified several stress-inducible gene candidates through RNA-seq analysis of embryos, which may serve as potential promoters for inducible gene expression. Furthermore, I used CRISPR-Cas9-mediated homology-directed repair (HDR) to successfully insert a short sequence tag at the N-terminus of *BCR*, a bacteriocyte-specific gene. This tagged system is particularly useful for visualizing low-abundance proteins using universal antibodies. Although stable transgenic lines carrying large DNA inserts have not yet been established, my results lay the foundation for future development of versatile gene manipulation tools in aphids, with broad applications in the study of host-symbiont interactions and insect developmental biology.