

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2024年5月31日

採択番号	2023-共同-5		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	白藤 梨可
研究課題名	カブリダニの卵形成の分子機構解明と人工飼料開発への応用		
研究代表者	(ふりがな) 氏名	所属部局等・職名	
	すずき たけし 鈴木 丈詞	東京農工大学大学院農学研究院・教授	
研究分担者	もり こうたろう 森 光太郎	石原産業株式会社中央研究所・グループリーダー	
	のるえいでいん がじい あぶるはどる Noureldin Abuelfadl Ghazy	石原産業株式会社中央研究所・研究員	
	たけだ なおき 武田 直樹	東京農工大学大学院生物システム応用科学府・大学院生	
	すずき かな 鈴木 伽奈	東京農工大学大学院生物システム応用科学府・大学院生	
	しらふじ りか 白藤 梨可	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2023年4月1日 ~ 2024年3月31日		
目的・趣旨	<p>捕食性天敵であるカブリダニ類は、薬剤抵抗性が発達しやすいハダニ類に対する持続可能な生物的防除資材として、半世紀以上にわたって利用されてきた。ハダニ類に対する主要な天敵製剤として、国内では、チリカブリダニ(<i>Phytoseiulus persimilis</i>) 剤およびミヤコカブリダニ(<i>Neoseiulus californicus</i>) 剤が市販されている。2017年の統計では、これらカブリダニ剤の国内出荷金額は約7億円であり、近年増加傾向である。ただし、この金額は、殺虫剤全体の国内出荷金額のわずか0.6%程度である。さらなる普及拡大のためには効率的なカブリダニ剤の生産体制の構築が必要である。ミヤコカブリダニは国内土着種であり、ハダニ類のみ摂食するチリカブリダニと異なり、その大量生産には、ハダニ類の他に、害虫とならない節足動物あるいは花粉が餌として用いられている。しかし、これら天然物の管理は煩雑であり、安定的なミヤコカブリダニ生産のボトルネックとなっている。他方、同じダニ目に属するマダニ類では、卵形成の分子機構研究が進展し、栄養シグナル伝達を担うTarget of rapamycin (TOR) 経路によって卵黄タンパク質前駆体であるピテロジェニン(Vg)の合成が制御されることが判明している。</p> <p>そこで本研究では、ミヤコカブリダニのTOR経路やVg合成系で機能する遺伝子群を分子マーカーとし、卵形成を促す栄養成分のスクリーニングと、栄養シグナル伝達の分子機構の解明を目指す。</p>		

<p>研究経過の概要</p>	<p>2021 年度には、ミヤコカブリダニのゲノム全塩基配列のショートリードシーケンシングが完了した。2022 年度には、ロングリードシーケンシングも完了し、ショートリードとのハイブリッドアセンブリにより高品質なゲノム情報を構築した。</p> <p>このゲノム情報をもとに、2023 年度からは、RNA-Seq による比較トランスクリプトーム解析や RNAi による機能解析に取り組んだ。比較トランスクリプトーム解析に加え、比較プロテオーム解析も実施した結果、当初予定していた Vg 遺伝子や TOR 経路で機能する遺伝子群だけでなく、栄養条件に応じて顕著に発現量が変化する複数の遺伝子が同定された。</p> <p>そこで 2023 年度は、その遺伝子の中の一つであるミヤコカブリダニのトリアシルグリセロールリパーゼ (triacylglycerol lipase, NcTAGL) 遺伝子を標的とした機能解析について、発現レベル以外に、捕食量や産卵数など生理学的解析も進めた。</p>
<p>研究成果の概要</p>	<p>通常状態と飢餓状態のミヤコカブリダニ間でのトランスクリプトームおよびプロテオームの比較解析より、飢餓状態における NcTAGL の遺伝子およびタンパク質の顕著な発現減少が確認された。TAGL はエネルギー源として体内に貯蓄されているトリアシルグリセロール (TAG) を加水分解し、遊離した脂肪酸が β 酸化とクエン酸回路を経て ATP が産生される。血リンパ中の脂肪酸のレベルは摂食行動の制御因子でもあるため、NcTAGL 遺伝子の RNAi によって飢餓様状態を誘導できる可能性がある。そこで、ミヤコカブリダニの NcTAGL 遺伝子に対する二本鎖 RNA (dsNcTAGL) の経口投与による RNAi 誘導試験を実施した。</p> <p>その結果、dsNcTAGL 摂取 12 h 後に NcTAGL 遺伝子の発現量は低下し、RNAi の有効性が認められた。一方、dsNcTAGL 摂取 72 および 120 h 後では、予想に反して NcTAGL 遺伝子の発現量は上昇した。この原因として、NcTAGL 遺伝子の一時的な発現抑制に、上流因子 (転写因子など) が応答して、NcTAGL 遺伝子の発現を促進するフィードバック調節が生じた可能性がある。</p> <p>ここで、昆虫では、中腸細胞内で発現するリパーゼの上流因子として神経ペプチド F (Neuropeptide F, NPF) や NPF 受容体 (NPFR) が知られている。ミヤコカブリダニにおける NPFR のホモログ (NcNPFR) 遺伝子の発現量を解析した結果、dsNcTAGL 摂取 72 および 120 h 後において、NcNPFR 遺伝子の発現量の有意な上昇が確認された。これは、NcTAGL 遺伝子の RNAi に応答し、NcNPFR を介したフィードバック調節が生じた可能性を示唆する。</p> <p>他方、dsNcTAGL 摂取個体における捕食行動や産卵数に有意な影響はみられなかった。</p> <p>今後は、NcTAGL の上流因子として機能する可能性が示唆された NcNPFR 遺伝子の発現抑制による NcTAGL 遺伝子の発現変動や表現型に加え、NcNPF 遺伝子の発現変動も調査し、これら遺伝子による脂質代謝の恒常性維持のためのフィードバック調節機構の解明を進めていく必要がある。このフィードバック調節機構が解明され、そこで機能する遺伝子をゲノム選抜における分子マーカーとして利用すれば、高い捕食圧と定着率を兼ね備えたミヤコ系統の作出が期待できる。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>【国際会議での発表】</p> <p>Takeda, N., K. Kataoka, Y. Arai, K. Suzuki, K. Yura, and T. Suzuki (2023) The draft genome of the predatory mite, <i>Neoseiulus californicus</i>: Pesticide resistance and feeding behavior. 13th Spider Mite Genome Meeting, Logrono, La Rioja, Spain, September 11 to 14, 2023 (口頭、招待講演)</p>

【国内学会での発表】

武田直樹, 新井優香, 片岡孝介, 由良敬, 白藤 (梅宮) 梨可, N.A. Ghazy, 森光太郎, 刑部正博, 日本典秀, 鈴木丈詞 (2024) ミヤコカブリダニのゲノム全塩基配列解読とピリダベン抵抗性因子の推定. 日本昆虫学会第 84 回大会・第 68 回日本応用動物昆虫学会合同大会, 仙台, 2024 年 3 月 28-31 日 (ポスター)