

クワガタムシ菌囊に発見された共生酵母が成虫オオアゴの形態に及ぼす影響と共生酵母の代謝のラマン分光法による評価

山本達之, 古田賢次郎

目 的

ごく最近になって、昆虫の高度の多様性を進化的に説明する一つのヒントとして、昆虫の共生細菌の遺伝子情報が宿主に取り込まれ、宿主の進化に直接影響を与えるという現象が産総研の深津らによって報告された [Hosokawa et al., 2010]。また、クワガタムシのメス尾部に菌囊と命名された特殊な袋状組織が存在すること、そしてその内部に特殊な共生細菌の生育が見出された。[Tanahashi et al., 2010]。共生細菌の中には、一群の *Pichia* 属酵母に類似した酵母が見つかった。これら酵母は、キシロース資化能を有し、クワガタムシ幼虫の朽木の消化吸収を助けていると推定されている。

一方、クワガタムシやカブトムシオスのオオアゴは、幼虫時の飼育温度に応じて、様々な変異があることが古くから知られている。幼若ホルモン (JH) には、昆虫の体サイズの大型化をもたらす作用があることから、幼虫の飼育温度が幼虫のホルモン分泌系に影響を与える可能性が想定されている。深津らの発見により、クワガタムシ母体の共生細菌が卵を経由して幼虫に引き継がれる可能性が出てきたことから、温度が共生細菌の代謝に影響を与え、結果的に共生細菌の代謝がこれら甲虫類の成虫の形状に影響を及ぼす新たな可能性が出てきた。

そこで申請者らは、飼育が容易で1年で幼虫期間を終えるカブトムシ (*Trypoxylus dichotomus*) 幼虫の飼育時の温度と、カブトムシにおける JH である JH III の体内濃度が成虫の形状に及ぼす影響を調べた。また、クワガタムシ菌囊内の共生酵母を取り出し調べた。

方 法

実験に用いたカブトムシ幼虫は、松江市内で捕獲したメスが2011年9月に産卵した卵から育てた。2令幼虫までは、市販の腐葉土を与えて、室温でそのまま飼育し、11月までに3令幼虫に育てた。その後、幼虫を2群 (室温管理、20℃管理、各8匹ずつ) に分けて2月末まで飼育した。室温を定期的に記録したところ、11月から翌年2月までの飼育室の室温は、概ね10℃以下であった。それぞれ群の幼虫の体液から JH III を抽出した後、Xevo-TQ による LC-MS 分析を行い、体液中の JH III 濃度を比較した。菌囊から見出された酵母のラマンスペクトルは、HeNe レーザを光源に、平均出力 5 mW 程度の低出力で測

定した。

結 果

室温飼育を行った個体群の JH III 濃度が、平均で 2.02 ng/ml、20℃管理飼育を行った群が 1.32 ng/ml であった。この結果は、統計学的には有意の差とは言えないが、低温管理を行ったほうが、高温管理を行った場合よりも、JH 濃度が高いという傾向を示した (図1)。

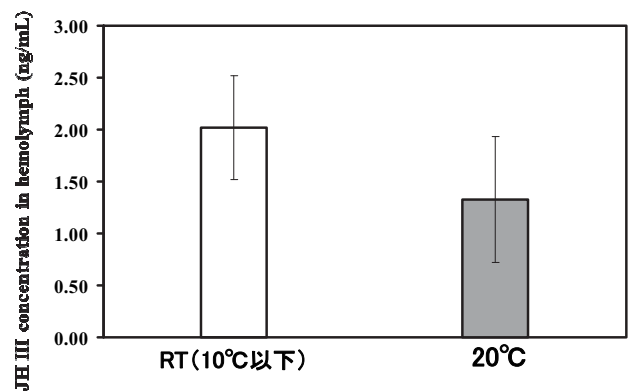


図1. 室温および20℃管理した個体群の JH III 濃度の比較

また、幼虫の体重と JH III 濃度の相関を調べたところ、図2のような結果が得られた。体重が大きい個体ほど、JH III 濃度が高くなる傾向が見られた (図2)。

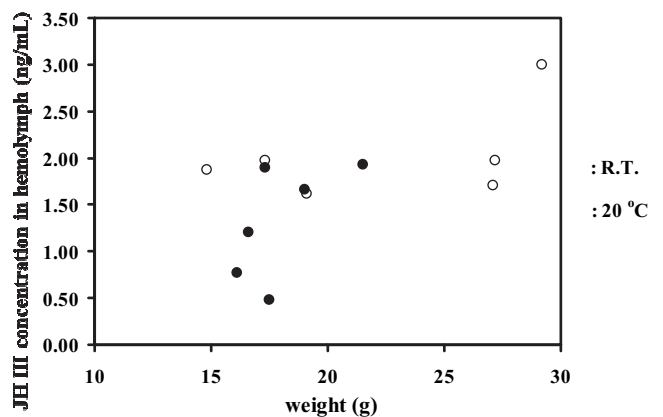


図2. 体重と JH III 濃度の相関

一方、菌囊から見出された新規の酵母のラマンスペクトルを測定したところ、分裂酵母や出芽酵母の典型的なスペクトルパターンと全く異なる異質なスペクトルが得られた。これら酵母において、代謝の目安となり、1602

cm⁻¹に観測される, いわゆる「生命のラマン分光指標」[Huang et al.,] は全く観測されなかった。

考 察

クワガタムシやカブトムシの飼育において, 低温飼育を行った方が, 高温飼育を行った場合よりも大型個体が得られることが経験的に知られているが, 今回の結果はそれを支持する結果となった。今年度は, 研究の1年目であったために, 数ヶ月で幼虫期間を終えるカブトムシを用いることしかできなかったが, 今後は, 幼虫期間の長いクワガタムシを用いて, 飼育温度の影響を更に調べる予定にしている。更に, JHの類縁体のフェノキシカルブを γ -シクロデキストリンで包接した包接体を幼虫に与えた場合の体重への影響を調べる予定にしている。

一方, 昨年度末に, 本学部の共同設備として, 本学に始めて本格的に導入した顕微ラマン分光装置を用いて, 新規酵母の代謝を分光学的に精査する研究も開始する予定にしている。

謝 辞

産総研の深津武馬博士と棚橋薫彦博士には, 昆虫の共

生進化について数多くのご助言をいただきました。濱口宏夫教授(東京大学名誉教授, 現台湾国立交通大学教授)には, ラマンスペクトル測定に広く便宜を図っていただきました。この場を借りてお礼を申し上げます。

引用文献

- Hosokawa T., Koga R., Kikuchi Y., Meng X.-Y., Fukatsu T. (2010) Wolbachia as a bacteriocyte-associated nutritional mutualist. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**: 769-774.
- Huang, Y.-S., Karashima, T., Yamamoto, M., and Hama-guchi, H. (2005) Molecular-Level Investigation of the Structure, Transformation, and Bioactivity of Single Living Fission Yeast Cells by Time- and Space-Resolved Raman Spectroscopy”, *Biochemistry*, **44**: 10009-10019.
- Tanahashi M, Kubota K, Matsushita N, Togashi K., (2010) Discovery of mycangia and the associated xylose-fermenting yeasts in stag beetles (Coleoptera: Lucanidae). *Naturwissenschaften*, **97**(3): 311-317.