## Elucidation of Induction and Termination Mechanism of Cryptobiosis of the Sleeping Chironomid, Polypedilum vanderplanki

National Institute of Agrobiological Sciences Takashi Okuda, Takahiro Kikawada, Fumiko Yukuhiro, Masahiko Watanabe and Keiko Kadono-Okuda

Some microscopic organisms, like nematodes or plankton are fully desiccated to go into a complete metabolic arrest (Cryptobiosis). Once desiccated, such a dormancy may last forever. There is an aquatic insect which does likewise in semi-arid region in Nigeria, Africa. The larvae of the chironomid, *Polypedilum vanderplanki* live in temporal rockpools (Fig. 1 & 2). When the pool water is dried up during dry season, the larvae are completely desiccated. When rainy season comes and the pool is filled with water however, the larvae can revive after rehydration. The desiccated larvae become resistant to extreme conditions, such as +100°C or -200°C. So far 17 years are the longest record of the duration of the dormancy. When given water, the larvae become active quickly, e.g. within 20 min (Fig. 3).

This interesting phenomenon was reported by a British scientist, Hinton in 1951. Surprisingly nobody did thorough research on the physiological mechanism of the cryptobiosis last 40 years. Difficulty in establishing laboratory colony of this chironomid has been the obstacle. Recently we have succeed in rearing them in the lab and started experiments focusing on the physiology and biochemistry.

条件によっては永久的休眠(クリプトビオシス)をする生物が地球上に存在することについては知られている。(例えば、乾燥状態に120年間置かれたコケの標本を水に入れたらワムシや線虫が蘇生し現れた)しかし、脳、神経、肝臓、消化器官、循環器官等を備えたある種の高等生物が、永久的休眠現象を持つことはあまり知られていない。アフリカ大陸には岩盤の窪みなどにできた小さな水たまりに生息する奇妙な生活史を持ったユスリカ(吸血しない蚊で、和名はネムリユスリカ、学名はPolypedilum vanderplanki)がいる(図1、2)。乾季に水たまりが干上がるとユスリカ幼虫も完全に脱水し乾燥してしまう。しかし雨季になり、水が張ると、乾燥していた幼虫は吸水して再び発育を再開する(図3)。乾燥休眠状態のユスリカ幼虫が17年後、水の中で蘇生したという記録が残っている。また乾燥してガラス状になった幼虫は、-200℃の低温や100℃の高温に対して耐性を持つ。

このユスリカの乾燥休眠現象は、40年前にイギリスの科学者 Hinton によって初めて報告されたが、その後この現象の解析をした者はいない。このユスリカの生息場所がナイジェリアで、採集が困難なこと、加えて室内飼育技術の確立が容易でないことがこの現象の研究を遠ざけてきたものと推測される。本課題提案者らは、最近これらの問題点を解決し、ネムリユスリカの室内継代飼育に成功し、40年前には存在しなかった最新の生理・生化学あるいは分子生物学的手法で実験を開始した。



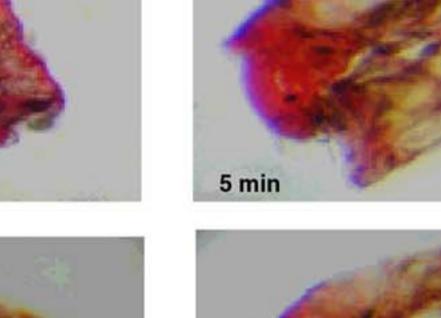
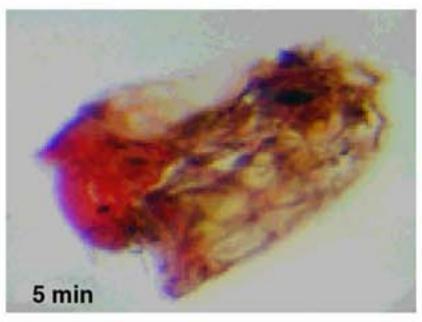




Fig. 3 A desiccated *P. Vanderplamki* larva could revive within 20 min after re-hydration



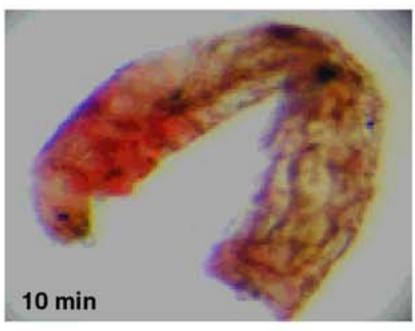






Fig. 1 Habitat of Polypedilum vanderplanki in Nigeria



Fig. 2 Size of the rockpool that chironomids prefer to live

The chironomid larvae have differentiated organs, like brain, gut, liver, muscles and so on. These tissues are perfectly preserved even after complete desiccation. We are curious to know the secret of the physiologicalmechanism. Quick desiccation, however leads the chironomid larvae to death. We found that accumulation of enough polyols is a key in success of the cryptobiosis. We investigate how these tissues are synchronously desiccated and also how these dried tissues are activated by water at molecular level. We compare not only the biochemistry but also the fine structure of the tissues between P. vanderplanki and another chironomid, Chironomus yoshimatsui which doesn't have the desiccation dormancy ability. This will give us a hint which factors are significant in success for the cryptobiosis. These data would contribute to develop animal organ preservation techniques at room temperature in the future at an applied point of view.

ネムリユスリカ幼虫をガラスプレパラート上の1滴の 水の中に入れ急激に乾燥させた場合、完全脱水した幼虫は、 水に戻してやっても蘇生しない。一方、泥水に入れた ネムリユスリカ幼虫をゆっくり徐々に乾燥させてやると蘇生 可能な状態で完全脱水をする。これは、ユスリカ幼虫が何ら かの情報(外部環境因子)によって近い将来の乾燥を事前に 予測し、脱水乾燥のための生理的な準備作業(ポリオールの 合成等)を行なっていることを示唆している。乾燥に伴い新 たに発現するタンパク質および遺伝子を捕らえ、乾燥脱水休 眠の誘導・覚醒機構の解明を試みる。また脱水乾燥休眠がで きないセスジユスリカ (Chironomus yoshimatsui) との組 織の変化を比較をすることにより、脱水休眠を可能にしてい る決定的な生理的因子の推定を行う。すでに分化した組織が 蘇生可能な状態で乾燥脱水し、常温保存される過程の組織 学および生理生化学的変化の解析は基礎研究の観点から興味 深い。この特異機能の解明は細胞や組織の常温保存技術の開 発に貢献すると考えられる。