

氏 名 (本籍)	まつ 松 浦 優 (大 阪 府)
学 位 の 種 類	博 士 (学 術)
学 位 記 番 号	博 甲 第 6522 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科
学 位 論 文 題 目	Evolution and Development of Bacteriome Symbiosis in <i>Nysius</i> Seed Bugs (ヒメナガカメムシ類における菌細胞塊共生系の進化と発生)
主 査	筑波大学教授 (連携大学院) 博士 (理学) 深 津 武 馬
副 査	筑波大学教授 農学博士 内 山 裕 夫
副 査	筑波大学教授 (連携大学院) 医学博士 石 田 直理雄
副 査	筑波大学教授 (連携大学院) 博士 (理学) 花 田 智

論 文 の 内 容 の 要 旨

本研究では、ヒメナガカメムシ類の有する菌細胞塊に着目し、共生微生物の系統と局在、宿主共生器官の形成過程や発生の分子機構を解析することで、謎の多い菌細胞塊の進化についていくつかの解答を得ることに成功した。

ヒメナガカメムシ類 (*Nysius* spp.) は腹部に 1 対の菌細胞塊と細胞内共生細菌を有することが知られていたが、細菌の実体は不明であった。そこで、この細菌の正体を明らかにするため、細菌叢の解析、分子系統解析、組織化学的解析を行った。日本全国よりヒメナガカメムシ類を採集し (計 4 種、18 個体群、281 個体)、菌細胞塊の細菌叢を 16S rRNA 遺伝子に基づいて解析すると、相同性の高い (98.8-99.6%) 特定の細菌類が全個体から検出された。詳細な分子系統解析により、これらの細菌は γ プロテオバクテリア内に属する新規細胞内共生細菌であることが判明した。意外にも、近縁なカメムシ類の腸内共生細菌 (β プロテオバクテリア) とは全く異なる系統群であった。また、この細菌は絶対共生細菌のゲノムに典型的な高 AT 含率で極小化したゲノム ($\sim 0.6\text{Mb}$) を有しており、宿主に依存し遺伝子の多くを失ったことが示唆された。続いて wFISH 法と TEM により共生細菌を観察したところ、菌細胞塊はもとより卵巣と卵の前極部に感染が確認され、次世代に垂直伝達していることがわかった。当該細菌に暫定学名 '*Candidatus* Scheiderya nysicola' を提唱した。

加えて、上述の方法でヒメナガカメムシ類 4 種の組織より高頻度 (83.1%) で検出された別の未知細胞内細菌について、カメムシ類 195 種 925 個体への感染を PCR によりスクリーニングした結果、うち 12 種に同様の細菌が感染していることを発見した。分子系統解析、wFISH 法による微生物学的同定を行い、新規任意共生細菌 '*Candidatus* Lariskella arthropodarum' と名付けた。

次に、菌細胞塊の進化発生学的な起源を明らかにするため、ヒメナガカメムシおよびウスイロヒラタナガカメムシの卵を数時間ごとに固定、胚発生を詳細に観察し、wFISH 法により共生細菌の局在と菌細胞塊を形成する細胞群を特定した。その結果、ヒメナガカメムシは胚反転の直前 (受精後 72-84 時間) に腹部の側面にある細胞群へ共生細菌が感染し、後にそれらが融合して菌細胞塊が完成するという、本種に独自の菌細胞塊の形成過程が示された。

胞塊形成過程を示した。このことは、ナガカメムシ類が独自の菌細胞塊発生機構を進化させてきたことを示唆している。

最後に、菌細胞塊形成の分子機構を明らかにするため、昆虫の体節および付属肢などの分化を制御する複数の転写因子 (Dil, Ubx, abd-A) を取得して pRNAi を行ったところ、菌細胞塊形成に驚くべき影響がみられた。特に Ubx の発現抑制により菌細胞塊が消失したこと、感染前の菌細胞に Ubx が特異的に発現していることから、菌細胞塊の発達に Ubx が必須であることが明らかになった。他種との発現部位比較により、ヒメナガカメムシの Ubx が異所的な発現を獲得することにより、新しい共生器官が進化した可能性が示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究においては、まず 1940 年代から組織学的記載がありながら、その実体がわかっていなかったヒメナガカメムシ類の菌細胞共生細菌 (*Schneideria*) を同定し、しかも未知の任意共生細菌 (*Lariskella*) を発見したという微生物学的な価値、新規性にとどまらず、半翅目昆虫に普遍的に存在するにも関わらず、異翅亜目において失われた菌細胞塊がヒメナガカメムシ類など限定されたナガカメムシ亜科の系統で再度獲得されたという、共生進化的にきわめて興味深い現象に対して進化発生学的アプローチから取り組んでおり、その独自性と新規性はきわめて高い。提示された菌細胞塊の詳細な組織発生学的記載の質は高く、しかもこの共生器官の形成に関わる転写因子の有力候補として Ubx を同定した成果は大変に興味深く、今後の展開にも大いに期待がもてる。これらの学術的知見はすでに 2 報の論文として国際学術誌に発表され、続いて数報の論文が公表準備中であり、その学術的な達成度、価値は十分に高いものと評価される。

平成 25 年 1 月 23 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。