

氏名	上山 拓己		
学位の種類	博 士 (理 学)		
学位記番号	博 甲 第 10294 号		
学位授与年月日	令和 4 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	Characterization of Transcription Factors Regulating Insect Development and Exploration of Venom Components of a Parasitoid Wasp Disrupting Host Insect Development (昆虫の発生を調節する転写制御因子の解析と宿主昆虫の発生を攪乱する寄生蜂毒素の探索)		
主査	筑波大学教授	博士 (理学)	丹羽 隆介
副査	筑波大学助教	博士 (工学)	鶴田 文憲
副査	筑波大学教授	理学博士	小林 悟
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	中田 和人

論 文 の 要 旨

本論文で著者は、多細胞生物の胚発生完了後の発生過程、すなわち後胚発生の調節メカニズムの解明を目指して、主に遺伝学的に秀でたモデル生物であるキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* (以下ショウジョウバエ) と、内部寄生蜂 *Asobara japonica* を用いて、以下に記載する 3 つのテーマに関する研究成果を報告している。

第一に著者は、ショウジョウバエにおいて、ポリ A 結合タンパク質 (Poly(A) binding protein, Pabp) が前胸腺においてエクジステロイド生合成調節転写因子 Molting defective (Mld) の核内局在に必要であることを報告している。昆虫の発生進行を制御するエクジステロイドは、前胸腺と呼ばれる内分泌器官で生合成される。そして、エクジステロイド生合成酵素をコードする遺伝子の前胸腺での発現量は、体内エクジステロイドの生合成量に密接に関連する。本研究で著者は、ポリ A 分解酵素複合体がエクジステロイド生合成酵素遺伝子 *spookier* (*spok*) 遺伝子の発現に影響を与えるとする先行研究から、他のポリ A 関連因子も *spok* の発現調節に関与するのではないかと着想し、ポリ A 鎖に直接結合する Pabp に着目した。著者は、前胸腺特異的に *pabp* 遺伝子の機能を低下させた個体において、前胸腺内での *spok* の mRNA 量とタンパク質量がともに減少することを見出した。さらに著者は、*spok* の発現に関与する転写因子 Mld が、正常な前胸腺では核内に局在する一方で、*pabp* の機能を低下させた前胸腺では細胞質に凝集することを見出した。以上の結果から著者は、Pabp は前胸腺内において Mld の核内局在を制御することで *spok* の発現誘導に寄与していると結論づけている。

第二に著者は、前胸腺でのエクジステロイド生合成酵素遺伝子の発現に関与する新たな転写因子の候補として、POU domain motif 3 (Pdm3) に着目した研究成果を報告している。著者は、前胸腺で発現する転写因子のうち、その発現量がエクジステロイド量と相関するものとして Pdm3 を見出した。著者は、前胸腺特異的に *pdm3* をノックダウンした個体において、ほとんどのエクジステロイド生合成酵素遺伝子の発現上昇を観察した。次いで著者は、Pdm3 が個体を取り巻く外部環境に依存したエクジステロイド生合成の適応的な調節に関与する

可能性を検証した。そして著者は、低温ストレスに暴露させた前胸腺特異的 *pdm3* ノックダウン個体において、蛹化率と羽化率がコントロール個体よりも有意に低下することを見出した。さらに著者は、コントロール個体に活性型エクジステロイドを摂食させることで体内エクジステロイド量を人為的に増加させると、前胸腺特異的 *pdm3* ノックダウン個体と同様に羽化率が低下することを発見した。以上の結果から著者は、Pdm3 がエクジステロイド生合成を抑制的に制御することで低温ストレス耐性をもたらすことを提唱している。

第三に著者は、内部寄生蜂 *Asobara japonica* を用いた RNAi 法の確立とアポトーシス誘導因子の探索を報告している。地球上で最も繁栄している動物群である寄生蜂は、その寄生の成立のために、様々な毒を宿主に注入することで宿主の免疫防御機構をかいくぐり、寄生を成立させる。しかし、寄生蜂の飼育の難しさや試料の少なさ等の技術的な制約から、その寄生戦略の鍵となる毒成分の分子遺伝学的な解析はまだまだ立ち後れている。*A. japonica* は、宿主であるショウジョウバエの幼虫に毒の注入をすることで宿主の後胚発生調節メカニズムを崩壊させ寄生成立を制御する。その際、宿主体内の一部の組織でアポトーシスが注入された毒によって誘導されることがわかっているが、その毒成分の正体およびその作用機序は未解明である。この課題にアプローチするために著者は、*A. japonica* の毒成分の探索のためのマルチオミクス解析を行った。まず著者は、共同研究者と協力し、*A. japonica* の高品質ゲノムの構築と 12,508 遺伝子のアノテーションに成功した。次に著者は、アノテーションされた各遺伝子の機能解析を行うために、二本鎖 RNA の顕微注入による RNAi 法を確立した。さらに著者は、*A. japonica* 毒腺のオミクスと他種寄生蜂との比較ゲノミクス解析を組み合わせることで、*A. japonica* の毒腺で重要な機能を持つことが予想される 63 遺伝子の絞り込みに成功した。著者はこれらの遺伝子のアミノ酸配列を解析した結果、同定したほとんどの遺伝子がシグナルペプチド配列を持つことを見出した。以上のことから著者は、*A. japonica* は毒として多数の分泌因子を宿主幼虫体内に注入することで、寄生成立を制御する可能性を提唱している。

審 査 の 要 旨

本論文で著者は、昆虫の後胚発生のメカニズムに関して多角的な研究成果を報告している。Pabpの研究を通じて著者は、エクジステロイド生合成の調節における転写因子M1dの核内局在の重要性を明らかにした。エクジステロイド生合成器官（前胸腺）における転写因子の細胞内局在は従来の研究で注目されておらず、著者の成果は先駆的である。また、転写因子Pdm3の研究を通じて著者は、Pdm3によるエクジステロイド生合成の転写制御が、昆虫の低温ストレス耐性に特別な役割を担うことを解明した。エクジステロイドが環境応答に関与することは古くから知られていたものの、その過程が前胸腺での転写調節を介したものであることを示した著者の発見は新規性が高い。さらに、寄生蜂に着目した研究によって著者は、共同研究者の協力を得ながらも、全ゲノムシーケンシングとアノテーション、そしてこれらのリソースを活用した寄生蜂毒の同定に向けた基盤整備に大きく貢献した。本研究の成果は、分子遺伝学的研究がまだまだ途上の寄生蜂研究に顕著なブレイクスルーを与えると期待できる。著者のいずれの成果も動物学的な意義は大きく、研究の独創性が高く評価できる。

令和4年1月24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（理学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。