

氏名(本籍)	水野 壮 (静岡県)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第4697号		
学位授与年月日	平成20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	昆虫における2つのアセチルコリンエステラーゼ遺伝子の発現解析		
主査	筑波大学教授	農学博士	本田 洋
副査	筑波大学教授(連携大学院)	理学博士	山川 稔
副査	筑波大学准教授	農学博士	戒能 洋一
副査	筑波大学教授	農学博士	松本 宏

論文の内容の要旨

アセチルコリンエステラーゼ (AChE) は中枢神経のシナプス後膜に存在し、神経伝達物質であるアセチルコリン (ACh) をコリンと酢酸に加水分解し、ACh によって起こる神経興奮を速やかに終結させるために必須の酵素である。有機リン、カーバメート系殺虫剤は昆虫の AChE を阻害し、神経攪乱を引き起こして昆虫を死亡させる。これまでハエを主とした *Cyclorhapha* においては、キイロショウジョウバエと相同な AChE 遺伝子 (o-Ace 遺伝子) 内に有機リン、カーバメート剤に対し感受性低下を示すアミノ酸置換が見られることがわかっていた。ところが、同じ双翅目のイエカやハダニ、アブラムシ等のハエ以外の昆虫種では、o-Ace 遺伝子の他に o-Ace 遺伝子とは非相同な第2の AChE 遺伝子 (p-Ace 遺伝子) が存在し、p-Ace 遺伝子内のアミノ酸置換が薬剤感受性を低下させていることが示された。

この o-Ace と p-Ace の昆虫成体内での役割を明らかにしていくため、本研究では、まず数種の昆虫種で単離されている2つの AChE 遺伝子全長をヒトスジシマカにおいて単離した。そして、o-Ace、p-Ace の昆虫生体内における局在を明らかにするため、*Aedes* 属ヒトスジシマカに *Culex* 属2種を加え、発育ステージ及び組織において o-Ace 及び p-Ace 遺伝子の転写量、及び活性を計測した。カ3種ではいずれも o-Ace、p-Ace 遺伝子とも発育ステージにおいて同じような動態を示した。頭部、胸部、腹部では頭部が両遺伝子とも最も高く発現しており、ネッタイシマカ神経索においても o-Ace、p-Ace 遺伝子ともに高い発現量がみられたため、中枢神経における両遺伝子の機能性を予測させた。さらに、ネッタイイエカ、チャバネゴキブリ神経索においては o-Ace、p-Ace 遺伝子とも最も高く発現していることが示された。ヒトスジシマカ、ネッタイイエカ、チャバネゴキブリにおいて o-Ace 遺伝子は様々な組織において転写されていることが確認された。ネッタイイエカ、チャバネゴキブリにおいては神経細胞をほとんど含まない組織とみられる脂肪体、マルピーギ管において o-Ace、あるいは両遺伝子の十分な転写が確認され、神経以外で AChE が機能していることが示唆された。チャバネゴキブリ体液中には AChE 活性が存在せず、貧神経細胞組織において十分な AChE 活性が検出され、神経索では少なくとも2つのアイソフォームが存在することから、神経以外でも AChE が機能しており、神経組織においては2つの AChE が機能していることが予測された。本研究で o-Ace 遺伝子が神経において高い発現量を示したことは、p-Ace 遺伝子が中枢神経において主体的な役割を示すという仮説を必ずしも支持

する結果ではなく再検討を要するものである。さらに貧神経組織において AChE 遺伝子の発現が見られ、少なくともチャバネゴキブリでは十分な AChE 活性がみられたことで、AChE の中枢神経における機能とは別の “non-classical” な機能を示唆することができた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

アセチルコリンエステラーゼ (AChE) に関する分子生物学的研究は、この酵素が殺虫剤の標的部位であることから、害虫における薬剤抵抗性発達の機構解明のためには極めて重要な研究課題である。特に昆虫では AChE 分子種の数とそれらがどのような機能を持っているのかを明らかにする研究の進捗は世界的な注目対象である。本研究では重要害虫の AChE 遺伝子を明らかにするとともに、複数の害虫における AChE 遺伝子の発現動態を組織別に追跡、解析したものである。これまでショウジョウバエ等で知られていた AChE とは異なる分子種の AChE 遺伝子を見出すとともに、従来神経組織に特異的に存在するとされていた AChE が、非神経組織でも発現していることを明らかにした。昆虫で AChE のような薬剤標的を分子生物学的側面から明らかにしていくことは、応用昆虫学上、害虫の薬剤感受性対策に必須の生物検定や薬剤抵抗性のモニタリング等に重要であるだけでなく、新規薬剤の分子創薬にも貴重な知見である。また、脊椎動物においては AChE の non-classical な機能が疑われており、昆虫における AChE の non-classical な機能を明らかにしたことは、幅広い動物種に共通した AChE の機能解明に繋がることが期待される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。