

氏名(本籍)	ほり がね ま り 堀 金 麻 里 (宮 城 県)		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 甲 第 5009 号		
学位授与年月日	平成 21 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	Molecular Characterization of the Vitellogenin Gene and Analysis of Hormone Receptor Genes that Regulate Reproduction in the Soft Tick <i>Ornithodoros moubata</i> (Acari:Argasidae) (マダニ <i>Ornithodoros moubata</i> のヴィテロジェニン遺伝子の分子特性及び生殖機構制御に関与するホルモン受容体の解析)		
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	Ph. D.	DeMar TAYLOR
副査	筑波大学准教授	Ph. D.	田 島 淳 史
副査	農業生物資源研究所 (上級研究員)	農学博士	篠 田 徹 郎

論 文 の 内 容 の 要 旨

マダニ類は発育や繁殖のために人を含む脊椎動物から吸血し、この吸血に際して宿主動物に病気を伝播するので、被害は畜産業や医療分野におよぶ世界規模の問題である。ヒメダニ科の *Ornithodoros moubata* でも卵形成と産卵には吸血が必須であり、疾病媒介の原因となるので、吸血が誘導する卵形成機構の解明が本種の生態解明や防除・管理技術の構築のために不可欠である

節足動物の卵黄形成では、卵黄タンパク前駆体ヴィテロジェニン(Vg)の合成は幼若ホルモン(JH)あるいはエクジステロイド(E)などの複数のホルモンの制御下にある。多くの昆虫での Vg 合成は JH に制御されるが、カ等のハエ目昆虫やマダニでは E に制御される。E はレセプターである EcR と Retinoid X receptor (RXR) を介して標的遺伝子の転写発現を制御する。EcR と RXR はヘテロダイマーを形成し、これに E が結合して複合体 (E-EcR/RXR) を形成する。この複合体は標的遺伝子の上流に存在する E 応答配列 (EcRE) に結合し、遺伝子の転写を調節する。マダニの Vg 合成も類似の機構より制御されていると考えられているが、Vg 遺伝子や関係するホルモン受容体の分子特性や発現については研究例が極めて少ない。

本研究では、マダニにおける E による卵形成機構の解明を目的に、*O. moubata* の EcR, RXR 及び Vg 遺伝子の発現解析を行い、以下の結果を得た。

O. moubata の EcR と RXR (OmEcR, OmRXR) は他の節足動物の EcR や RXR に対し高い相向性を示し、特にヘテロダイマー化や DNA の認識に関わる領域がよく保存されていることを明らかにした。また、Vg 遺伝子及びその 5' 上流域の同定を行った結果、OmVg 遺伝子は他の節足動物の Vg 構造をよく保存し、上流域に EcRE 様配列を有していた。このことから、OmEcR と OmRXR はヘテロダイマーを形成し、E と結合して Vg 転写を制御すると考えられた。OmVg 遺伝子上流には Vg 転写を律速する E 初期遺伝子の応答

配列が存在したのでこれの同定を試み、その部分配列を決定した。

次に、卵黄形成期の各因子の発現動態を明らかにするため、*OmEcR*、*OmRXR* 及び *OmVg* の発現解析を行った。*OmEcR* と *OmRXR* の発現は終令若虫の吸血後に同期的に上昇した。吸血後の終令若虫の体液中に高濃度の E が存在することが知られているが、*OmVg* の発現は吸血後の若虫及び成虫化まで見られなかった。一方、成虫化後 4、5 日の未吸血雌では短期間だが *OmVg* 発現が見られた。これらの結果から、*OmVg* 発現は成虫特異的で、且つ必要量の Vg 発現は吸血に依存して起こることを明らかにした。

O. moubata の雌は蚊やマダニ科のダニと異なり、交尾の有無に係わらず吸血するが、未交尾雌では卵形成が停止するので、吸血後の交尾雌と未交尾雌における *OmEcR*、*OmRXR* さらに *OmVg* の発現を比較し、前者の発現は交尾の有無に係わらず、吸血直後から著しく上昇し、その後漸減することを明らかにした。一方、交尾雌が吸血 20 日後も高い *OmVg* 発現を維持したのに対し、未交尾雌では低く止まり、*OmVg* の発現は中腸及び脂肪体で見られ、特に交尾・未交尾雌での *OmVg* 発現の違いは脂肪体で顕著であった。吸血後の交尾雌のみが高濃度の E を体液中に有することが知られているので、*O. moubata* では Vg 合成が吸血及び交尾によって誘導される E-EcR/RXR 複合体によって制御され、Vg は主に雌の脂肪体で合成されると結論した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究ではマダニ類の吸血を伴う卵形成における脱皮ホルモン E の働きとその分子機構に着目して、ヒメダニ科の *Ornithodoros moubata* (以下マダニ) を材料として、EcR と RXR の cDNA 解析、EcR、RXR 及び Vg 遺伝子の発現解析を行った。EcR と RXR の cDNA 解析により他の節足動物と高い相向性を示し、マダニの EcR と RXR の cDNA 配列は他の節足動物のものと高い相同性があることを示し、転写制御機能を持つ可能性が高いことを初めて示した。Vg、EcR 及び RXR の発現量の動態を明らかにするばかりでなく、マダニの Vg 遺伝子及びその上流配列の同定も E 応答配列に類似した配列を見出した。さらに Vg の発現組織を脂肪体と中腸であるが、脂肪体での Vg の発現が交尾雌に顕著であることを明らかにした。また交尾雌では、Vg 転写制御には E-EcR/RXR 複合体が強く関与することも示した。

これら一連の研究成果には、此まで予測域を出なかった事項の実証や関連分野の今後の研究の発展に不可欠な新たな発見、さらには、今後畜産、野生動物管理、さらにはヒトなどにおける吸血感染症管理や媒介生物防除技術の開発にとって重要な布石となる。

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。