

氏名	中垣 裕貴		
学位の種類	博 士 (理 学)		
学位記番号	博 甲 第 7599 号		
学位授与年月日	平成 28年 2月 29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	Cloning and Expression Analysis of the Engrailed-family Genes from <i>Pedetontus unimaculatus</i> Machida (Insecta: Archaeognatha) (ヒトツモンイシノミ <i>Pedetontus unimaculatus</i> Machida の engrailed-family 遺伝子のクローニングと発現解析 (昆虫綱: イシノミ目))		
主査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授	理学博士	町田 龍一郎
副査	筑波大学教授	理学博士	古久保・徳永 克男
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	稲垣 祐司

論 文 の 要 旨

昆虫類の体節形成様式には、初期胚帯が形成された後、全体節がほぼ同時に分化する長胚型と、前方の一部の体節が同時に形成された後、胚の伸長に伴って後方の体節が連続的に現れる短胚型の2パターンがあることが知られている。長胚型はショウジョウバエなどの完全変態類にみられ、短胚型は無翅昆虫類、不完全変態類、および完全変態類の一部にみられる。短胚型において連続的に現れる後方体節の数は種ごとに異なっており、これまでの比較形態学的な研究の成果から、進化の過程で後方体節の数が徐々に減少し長胚型に至ったとも考えられている。実際、昆虫類の最原始系統であるイシノミ目は、極端に小さい初期胚を形成しほとんどの体節を連続的に形成するため、昆虫類の体節形成様式の進化変遷を検討するために重要なグループである。筆者は、イシノミ目の体節形成過程の詳細を明らかにし、昆虫類の体節形成の進化についての議論を深めることを目的として、ヒトツモンイシノミ *Pedetontus unimaculatus* Machida を材料として、Engrailed-family遺伝子を単離し、その発現パターンを指標に発生学的検討を行った。さらにヒトツモンイシノミの体節形成過程を他の昆虫類の体節形成過程と進化的観点から比較、考察した。一方、ヒトツモンイシノミを含む昆虫類および他の節足動物のEngrailed-family遺伝子の系統樹をもとに当該遺伝子の進化に関する新知見を得た。

筆者はまず、走査型電子顕微鏡を用いてヒトツモンイシノミの外部形態の発生過程について詳細に観察し、胚が伸長し、幅の広い原頭域と狭い原胴域が分化した後、触角体節、関挿体節、大

顎体節、小顎体節の4体節が形成されること、小顎体節より後方の体節は全て連続的に分化することなどを明確に示し、光学顕微鏡を用いた先行研究における知見を補強、改訂した。次に、ヒトツモンイシノミから、2つのEngrailed-family遺伝子、*Pu-en1*と*Pu-en2*のcDNAをクローニングし、それらの全長配列を決定した。これらの遺伝子の発現パターンをホールマウント *in situ*ハイブリダイゼーションによって解析し、主として*Pu-en2*の解析結果から、ヒトツモンイシノミがその発生過程において間挿体節以後の全体節を連続的に形成することを明らかにした。これは、昆虫類において最も多くの体節を連続的に形成する事例であり、昆虫類の進化の中で徐々に連続的に形成される体節が減少していったとする仮説とよく符合する興味深い結果である。イシノミ以外の昆虫類では、間挿体節が他の頭部体節に遅れて形成を開始すること、つまり間挿体節の間挿的な形成が報告されているが、イシノミでは間挿体節を含む領域においても連続的に体節が形成されることが判明したため、イシノミのこの領域の体節形成が他の昆虫類に対して祖先的な形質状態を留めていることを示唆している。さらに、筆者は、昆虫類および関連する節足動物のEngrailed-family遺伝子を網羅的に探索し、*Pu-en1*と*Pu-en2*の2つの配列データを含めて、遺伝子構造、アミノ酸配列などの詳細な比較解析を行い、イシノミを含めてほぼ全ての昆虫種が2つのEngrailed-familyパラログ遺伝子をもつことを明らかにした。広範な節足動物種にわたるアライメントをもとに、遺伝子変換 (gene conversion) に関する解析を行った結果、先行研究により示唆された遺伝子変換の存在を一部の昆虫種において示し、遺伝子変換領域を統計的に推定することができた。遺伝子変換を起こしたと推定される領域とそれ以外の領域について個別に分子系統解析を行った結果、推定遺伝子変換領域から推測した系統樹では、各昆虫種がもつ2つのパラログがクレードを作る傾向が強く、それ以外の領域による系統樹では各昆虫種の2つのパラログのうち片方のみを含む大きなクラスターが形成される傾向が強いことが明らかとなった。これらの結果を総合し筆者は、2つのパラログを生じた遺伝子重複の時期がイシノミの分岐以前にまで遡ると推測し、Engrailed-family遺伝子の複雑な進化史の一端を明らかにした。

審 査 の 要 旨

筆者は、分子生物学的な解析が全く施されたことのないヒトツモンイシノミを対象に、遺伝子解析のシステムを確立して2つのEngrailed-family遺伝子を単離しそれを発生学的な解析に供し、胚発生に関する多くの新知見を得た。昆虫類の最原始系統であるイシノミに関する今回の知見は、昆虫類の胚発生を進化学的視点から比較解析するための基礎データとして非常に貴重なものであり、基礎生物学の成果として高く評価できる。また、筆者はイシノミの2つのEngrailed-familyパラログ遺伝子を含めて、広範な節足動物のEngrailed-family遺伝子の分子進化解析を行い、遺伝子変換領域、遺伝子重複時期に関する成果を得た。今回筆者が用いた統計的・定量的手法をもとに、さらに多くの昆虫や節足動物系統を含めたEngrailed-family遺伝子の解析を行えば、当該遺伝子の進化に関するより頑健な推測が可能になるものと期待できる。筆者によるアプローチはその端緒を切り開いたものと考えられ、基礎生物学の研究成果として高く評価できる。

平成27年12月9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。