

氏名	坂田 一樹		
学位の種類	博 士 (農学)		
学位記番号	博 甲 第 8603 号		
学位授与年月日	平成 30年 3月 23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	ショウジョウバエ求愛行動リズムに影響を及ぼすミオイノシトールと関連遺伝子の研究		
主査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	筑波大学准教授	博士 (薬学)	木村圭志
副査	筑波大学講師	博士 (学術)	加香孝一郎
副査	(公財) 国際科学 振興財団時間生物学 研究所 所長 兼 主席研究員	医学博士	石田直理雄

## 論 文 の 要 旨

審査対象論文は、食餌中に混合したミオイノシトールと内在性のミオイノシトール合成酵素遺伝子 *Inos* がショウジョウバエ求愛行動 (CP) リズムと概日時計にどのような影響を及ぼすかについて研究を行い、その内容を記述したものである。著者は、第一章では序論として、食餌中のアイヌプラント粉末とその一含有成分ミオイノシトールが CP リズムを活性化する事を見出してきたものの、食餌中のミオイノシトールが CP リズムにどのように作用するか、詳細な分子機構についてほとんど明らかになっていないことを述べている。そこで著者は、食餌中および内在性ミオイノシトールが作用する CP リズムの分子機構を解明することを目的とし、本論文では、各種実験餌と *Inos* RNAi 系統を用いて、CP リズム行動および概日時計に対する影響を評価している。

本論文の第二章において著者は、先行報告の CP リズム周期長を短周期化したミオイノシトール濃度を 0.001%、0.01%、0.1%よりさらに濃い 1%、4%、10%の濃度条件下において CP リズム周期長の長周期化を見出している。また、同様に高濃度ミオイノシトールが概日時計に影響を及ぼす事を明らかにしている。

続く第三章では、高濃度ミオイノシトールが CP リズムを長周期化したものの、この現象が遺伝子レベルにおいて未知であったため、*Inos* に着目し、*Inos* と求愛行動に関連する 3 種類の遺伝子を見出している。3 種類の遺伝子 *armadillo*、*period*、*neruropeptide F* が発現する脳内領域内で RNAi を用いて、*Inos* を抑制した系統を作製している。

続く第四章では、これら *Inos* RNAi 系統と CP リズムおよび概日時計の関係を明らかにする目的で、各種 *Inos* RNAi 系統における CP リズムおよび歩行活動リズムを測定している。その結果、各種 *Inos* RNAi 系統の CP リズムは消失したが、歩行活動リズムは概日リズムを示す事を見出している。この事から、*armadillo*、*period*、*neuropeptide F* が発現する領域中の *Inos* が CP リズムの振動発現に必要であるが、歩行活動リズムの振動発現に必須ではない事を明らかにしている。さらに、先行研究で既知の歩行活動リズム中枢や CP リズム中枢との比較から、CP リズム中枢神経群は LNds 中の L1-s、D1、D2 そして 5th s-LNv 領域である事、それら領域中の *Inos* 発現が CP リズム振動発現に必要である事を特定している。

## 審 査 の 要 旨

ショウジョウバエの求愛行動リズムについては、CP リズム測定法を用いて M (Morning Oscillator) 細胞が朝方の、E (Evening Oscillator) 細胞が夕方の CP 活性を制御する事が知られている。本論文において著者は、CP リズムに影響する物質のスクリーニングを行い、アイSprant粉末が CP リズムを著しく活性化すること、ミオイノシトールが濃度依存的に CP リズムを活性化することを明らかにしている。これらの知見は、ミオイノシトールが CP リズムを活性化する事の重要性を世界で初めて示した点で大きな意義があると考えられる。しかし、ミオイノシトールがどの様に代謝され、最終的に CP リズムの活性化を示すのかについては未解決であり、ミオイノシトールが影響する関連遺伝子の同定も含め、今後の研究の進展が望まれる。

一方、ミオイノシトールと CP リズムおよび概日時計との関連性については、これまで未知であった。本論文では、餌全体の含有量 4% および 10% 濃度のミオイノシトールが CP リズム周期長を延長し、オス求愛行動に関連する遺伝子 *armadillo*、*period*、*neuropeptide F* 発現領域中の *Inos* (ミオイノシトール合成酵素) が CP リズムの振動発現に必要であるが、歩行活動の概日時計の振動には不要である事を明らかにし、*Inos* が CP リズム振動発現に必要である脳内の領域を同定している。今後は、本論文において樹立した *Inos* 変異系統を用いて *Inos* 関連遺伝子を特定する事により、更なるショウジョウバエ求愛行動リズム分子機構の解明が期待される。

本論文は、これまで CP リズムとの関連性が未報告であった *Inos* 変異系統を樹立したほか、遺伝学的手法で CP リズム中枢神経領域を特定し、考察した研究として評価できる。

平成30年1月19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および最終試験を行い、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断された。

よって、著者は博士 (農学) 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。