

氏名	西田 遥		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	理学		
学位授与番号	博甲第	5726	号
学位授与の日付	平成30年 3月23日		
学位授与の要件	自然科学研究科 地球生命物質科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	キイロシヨウジョウバエの変態期における発生タイミングを決める生物タイマーの分子機構と栄養シグナルの影響		
論文審査委員	教授 上田 均	教授 富岡 憲治	教授 中越 英樹

学位論文内容の要旨

完全変態昆虫であるキイロシヨウジョウバエでは、恒温飼育条件下における変態開始およびその過程のタイミングはほぼ決まっており、各発生ステージの期間を測定するタイマー機構が存在すると考えられる。前蛹期間決定の分子機構に関する先行研究により、転写調節因子をコードする *ftz-fl* が変態開始を誘導するエクジステロイドパルス後、時期特異的に発現して蛹化タイミングを決定することが明らかになった。さらに、転写抑制因子 *Blimp-1* が前蛹前期の高エクジステロイド時にのみ発現することで、*ftz-fl* の発現タイミングを制御することも明らかにされた。また、エクジステロイドホルモンはエクダイソン (E) として前胸腺で Halloween 遺伝子産物によって生合成され、血リンパに放出される。幼虫期では、Halloween 遺伝子群のいくつかの発現制御に FTZ-F1 が関与するという報告があることから、前蛹期においても E 合成のタイミングを FTZ-F1 が決める可能性を検証するため、前蛹後期に起こる内在性のエクダイソンパルスより早く E を顕微注入したが、蛹化が早まることはなかった。血リンパによって全身へ運搬された E は末梢組織において Shade によって活性型エクダイソン (20E) に変換され、変態を誘導することから、20E を顕微注入したところ、蛹化タイミングが早まった。この結果から、蛹化タイミング決定に重要な器官は前胸腺ではなく、末梢組織である可能性が示唆された。そこで *shade* を組織特異的に強制発現および発現抑制した結果、脂肪体における *shade* の強制発現で蛹化タイミングが早まり、発現抑制で遅れることを示した。また、変態タイミング決定においては、FTZ-F1 と *Blimp-1* の脂肪体での発現が重要であるという共同研究者による報告もあり、蛹化タイミングを決定する生物タイマーは一貫して脂肪体で機能しており、蛹化タイミングを最終的に決定するのは *Shade* が E を 20E に変換するタイミングであることが明らかとなった。栄養感知器官である脂肪体にタイマーが存在していたことから、次は栄養状態が同定されたタイマー機構に及ぼす影響を理解するための解析をおこなった。まず、3 齢幼虫後期特異的に飢餓状態にした貧栄養条件個体で蛹化及び羽化のタイミングが遅れることを示した。また、貧栄養条件前蛹では FTZ-F1 の発現が遅れていたことから、栄養シグナルは少なくとも FTZ-F1 より上流に入力されることが示唆された。次に貧栄養条件前蛹を用いて *ftz-fl*, *Blimp-1*, *shade* のタイマー関連遺伝子と *E75A* と *PTHH* のエクダイソン関連遺伝子の発現パターンを調べた。その結果、コントロール前蛹では前蛹前期に消失する *Blimp-1* の発現が延長することによって、前蛹後期に蛹化を促す *ftz-fl* と *shade* の発現が遅れることが示された。また、エクダイソンパルスに応じて発現が変動する *E75A* の、発現低下や上昇のパターンが貧栄養条件前蛹では不明瞭となり、エクダイソンの生合成を促す *PTHH* も全体的に低い発現しか確認できなかった。これらの解析から、貧栄養によって変態を引き起こすエクダイソンの濃度上昇が緩やかになることで、タイマー関連因子の一過的な発現が明瞭でなくなり、生物タイマーが厳密に機能しなくなると考えられた。貧栄養情報が蛹化タイミング決定に関与する機構を調べるため、栄養代謝に関係の深いインスリンおよび TOR パスウェイの活性を前蛹期の脂肪体特異的に変化させ、蛹化タイミングへの影響を解析した。その結果、双方のパスウェイの活性化によって蛹化タイミングは大幅に遅れたが、抑制によっても蛹化タイミングが遅れることはなく、前蛹期における同定されたタイマーの分子機構への貧栄養情報の伝達においては、インスリンおよび TOR パスウェイが介在する可能性は低いと考えられた。

論文審査結果の要旨

生物の発生過程のタイミングはほぼ決まっており、各発生ステージの期間を決めるタイマー機構が存在すると考えられる。しかし、その分子機構および存在部位はほとんど明らかになっていない。本研究ではキイロショウジョウバエの前蛹期間を決めるタイマーの分子機構を明らかにすることを目的に解析を行った。まず、前蛹後期に起こる内在性のエクジステロイドパルスより早くエクダイソン (E) あるいは 20 ヒドロキシエクダイソン (20E) を顕微注入したところ、20E によってのみ蛹化タイミングが早まった。この結果から、蛹化タイミング決定に重要な器官は E を放出する前胸腺ではなく、E を 20E に変換する末梢組織である可能性が示唆された。そこで *shade* を組織特異的に強制発現および発現抑制したところ、脂肪体における *shade* の強制発現で蛹化タイミングが早まり、発現抑制で遅れたことから、蛹化タイミングを決定する生物タイマーは脂肪体で機能しており、蛹化タイミングを最終的に決定するのは *Shade* が E を 20E に変換するタイミングであることが明らかとなった。次に栄養感知器官である脂肪体にタイマーが存在していたことから、栄養状態が同定されたタイマー機構に及ぼす影響を調べた。まず、3 齢幼虫後期特異的に飢餓状態にした貧栄養条件個体で蛹化および羽化のタイミングが遅れた。また、貧栄養条件前蛹では FTZ-F1 の発現開始が遅れていたことから、栄養シグナルは少なくとも FTZ-F1 より上流に入力されることが示唆された。次に貧栄養条件前蛹を用いてタイマー関連遺伝子のエクダイソン関連遺伝子の発現パターンを調べた。その結果、コントロール前蛹では前蛹前期に消失する *Blimp-1* の発現が貧栄養によって延長し、これによって前蛹後期に蛹化を誘導する *ftz-fl* と *shade* の発現が遅れることが示唆された。また、エクジステロイドパルスに応じて発現が変動する *E75A* の発現低下や上昇のパターンが貧栄養条件前蛹では不明瞭となり、エクダイソンの生合成を促す *PPTH* も全体的に低い発現しか確認できなかったことから、貧栄養状態が変態を引き起こすエクジステロイドパルスに影響することで、蛹化タイミングを決める生物タイマーに影響が及んだ可能性が生じた。

以上の結果は、発生過程におけるタイマーの分子機構とその役割を明らかにする発生生物学分野において意味のある解析であり、博士論文に相当すると判断される。