

審査の結果の要旨

氏名 廣田 敏

本論文は序論、総合討論を含め、全6章から成る。第1章の序論では、研究の背景として昆虫類における微生物共生の普遍性と重要性について述べたうえで、「菌細胞」および「菌細胞塊」について説明し、その多様性についての先行知見を概説した。次いで甲虫類における菌細胞塊の存在および多様性について述べ、本研究で着目して菌細胞共生系の研究に取り組んだノコギリヒラタムシ、コナナガシンクイ、アフリカヒラタキクイムシ、クロヒメトゲムシ、ケモンヒメトゲムシについての限られた先行知見について紹介した。

第2章では、ナガシンクイ科の貯穀害虫のコナナガシンクイおよび乾材害虫のアフリカヒラタキクイムシについて、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) 法を駆使して胚発生過程における共生細菌の局在を可視化して追跡し、その発生過程を記載して8ステージに分類した。

第3章では、ホソヒラタムシ科のノコギリヒラタムシについて、まず FISH 法を駆使して胚発生過程における共生細菌の局在を可視化して追跡し、その発生過程をやはり8ステージに分類したが、その菌細胞塊の胚発生過程は、ナガシンクイ類とはかなり異なることが判明した。さらに RNA-seq 法によりノコギリヒラタムシの Hox 転写因子等の形態形成関連遺伝子配列を取得して、maternal RNAi 法により胚発生過程における機能解析を試みたところ、腹部の発生に関わる転写因子 *abdominal-A*、*Abdominal-B*、*caudal*、*Krüppel*、*hunchback*、*caudal*、および中胚葉領域を規定する遺伝子 *twist* の RNAi で菌細胞塊の形成阻害および共生細菌の局在異常が観察され、菌細胞塊の形成機構は腹部形成機構の下流にあること、さらに菌細胞塊は中胚葉由来である可能性が示唆された。

第4章では、1930年代に短い記載があるだけで詳細不明のヒメトゲムシ科甲虫の菌細胞共生系について、クロヒメトゲムシおよびケモンヒメトゲムシを対象に解析した。その結果、成虫と幼虫の中腸の両側面に沿って、一対の菌細胞塊の存在を確認し、その細胞質内に単一種の共生細菌を同定した。分子系統解析によりヒメトゲムシ類の細胞内共生細菌は、ナガシンクイ類の共生細菌にもっとも近縁であり、次いでノコギリヒラタムシ細胞内共生細菌に近縁であり、バクテロイデス門の中で明確なクレードを形成することを示

した。甲虫類の中では遠縁なヒメトゲムシ科、ナガシクイ科、ホソヒラタムシ科間において、共生細菌は近縁であるという予想外の関係が判明した。

第5章では、クロヒメトゲムシとケモンヒメトゲムシの細胞内共生細菌の全ゲノム配列を決定した。また、宿主ヒメトゲムシが一生を通じて食物源としている樹液の特性を明らかにするため、ヒメトゲムシが見られる樹液とヒメトゲムシの見られない樹液の化学組成および昆虫誘因性を比較解析した。ヒメトゲムシ類細胞内共生細菌のゲノムは 0.18 Mb と極度に縮小して大部分の代謝系の遺伝子が失われた一方で、チロシンなど芳香族アミノ酸の合成経路であるシキミ酸経路の遺伝子群および窒素代謝に関わるウレアーゼ遺伝子が例外的に保存されていた。野外で樹液に集まる昆虫群集をモニタリングしたところ、ヒメトゲムシが見られる樹液には、ヒメトゲムシ以外の昆虫がほとんど見られないことが判明した。樹液の化学組成を分析したところ、ヒメトゲムシの見られる樹液は、ヒメトゲムシが見られずその他の昆虫が多く集まる樹液と比較して pH が高く、アミノ酸や糖類が顕著に乏しいことが明らかになった。すなわちヒメトゲムシは他の昆虫が利用していない栄養的に乏しい樹液を利用していること、そこではゴキブリ細胞内共生細菌で知られるウレアーゼによる窒素リサイクリングや、ゾウムシ細胞内共生細菌で知られるシキミ産経路を介したチロシン供給による外骨格の硬化などが、細胞内共生細菌が担う主要な機能である可能性を示した。

第6章の総合討論では、これらの甲虫類の菌細胞共生系および細胞内共生細菌に関する新知見についてまとめ、その多様性、機能、進化、今後の研究の方向性等について議論した。

以上、本研究は多様な甲虫類の菌細胞共生系及び細胞内共生細菌について、形態形成、発生制御、生理機能、生態的意義等について広範なアプローチから解明した研究成果であり、動物—微生物共生関係一般の理解に洞察を与える非常に意義深いものである。

なお、本論文に記載された研究成果は、第2章が古賀隆一・深津武馬、第3章が森山実・深津武馬、第3章が孟憲英・深津武馬、第4章が森山実・深津武馬との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。