

審査の結果の要旨

氏名 長 峯 啓 佑

完全変態昆虫の終齢幼虫は、以後の2回の脱皮により蛹、成虫へと変態する。変態は血中の幼若ホルモン (JH) の濃度低下とそれに続くエクダイソンの分泌により誘導され、エクダイソンは *Broad-Complex* 遺伝子 (*BR-C*) をはじめとする、蛹化に必要な一次応答遺伝子群の発現を誘導する。すなわち、幼虫が蛹化に至る最初の生理プロセスは血中 JH の減少であるが、このプロセスを開始させる要因が明らかとなっている昆虫種はきわめて限られる。鱗翅目のタバコスズメガでは体重がその要因であり、体重が *critical weight* と呼ばれる値に達すると血中の JH が減り始める。血中 JH の減少開始以降のプロセスは不可逆的であり、この時点で蛹化の運命が決定する。一方、エンマコガネなどの鞘翅目の終齢幼虫では、体重ではなく、絶食により蛹化運命が決定する現象が知られている (*starvation-induced pupation*, SIP)。このように、蛹化の運命を決定する要因は昆虫の分類群によって大きく異なっている。本研究は、クワとイチジクの害虫であるキボシカミキリ *Psacotha hilaris* における変態の制御機構を明らかにしようとしたものであり、まず、蛹化運命決定の指標となりうる *BR-C* 遺伝子について、そのクローニング、系統解析、発現解析を行った。これに続いて、キボシカミキリの終齢幼虫における蛹化運命決定メカニズムを解析した。

1. キボシカミキリにおける *BR-C* 遺伝子のクローニング、系統解析、発現解析

キボシカミキリの幼虫を 25°C、長日条件で飼育すると、4 齢を終齢とする個体と 5 齢を終齢とする個体が現れる。4 齢個体の発育運命、すなわち「その個体が幼虫脱皮に向かうのか蛹化に向かうのか」は外見から判断できない。本研究では、蛹化に必須の働きを持つ *BR-C* の発現レベルを蛹化の判別基準として利用することを考え、まず、キボシカミキリの *BR-C* をクローニングし、構造解析、系統解析を行った。つづいて、*BR-C* をキボシカミキリ 4 齢幼虫における変態の進行を示す分子マーカーとして利用できるかを確認するため、その発現解析を行った。

キボシカミキリの *BR-C* (*PhBR-C*) をクローニングしたところ、6 タイプの zinc finger 配

列 (Z1、Z2、Z3、Z4、Z5、Z6) の組み合わせに基づく、7種類の mRNA アイソフォームがみつかった。Z6 はこれまでに、不完全変態昆虫であるチャバネゴキブリからしか発見されていない。Z6 がキボシカミキリに存在し、全ゲノムが解読されているキイロショウジョウバエやカイコに存在しないことから、完全変態昆虫が進化する過程でゲノムから消失したことが示唆された。また、Z6 がキボシカミキリに存在し、全ゲノムが解読されているコクヌストモドキに存在しないことから、Z6 は鞘翅目が分岐した後にも、ゲノムから消失したことが示唆された。つづいて、様々な給餌条件下で飼育した幼虫における *PhBR-C* の発現量を測定したところ、蛹化が早期に誘導される給餌条件では、表皮において早期の *PhBR-C* の発現上昇がみられ、*PhBR-C* を蛹化運命の分子マーカーとして利用できる可能性が示された。

2. キボシカミキリ 5 齢幼虫における蛹化運命決定メカニズム

キボシカミキリの 5 齢幼虫は、脱皮直後に絶食させると餌を与え続けた場合より早期に蛹化することが知られていた。これは、絶食させたキボシカミキリで *SIP* が惹起された可能性を示しており、まず、これを 5 齢幼虫を様々なタイミングで絶食させ、絶食開始から蛹化までにかかる日数 (days to pupation : DTP) を調べることで確認した。5 齢後期では、絶食開始タイミングに関わらず DTP は一定であり、*SIP* が確認されたが、5 齢前期に絶食開始した場合、DTP は一定ではなく、*SIP* は起きていなかった。次に、再給餌実験により、5 齢前期と後期で蛹化運命決定に必要な絶食時間を調べた。その結果、5 齢前期に絶食した場合には後期に入るまで *SIP* が抑制され、その後一定時間の絶食で *SIP* が惹起されたと結論づけることができた。*SIP* は鞘翅目昆虫で広く見られる。一方、キボシカミキリでは *SIP* の抑制期間がある点が他の鞘翅目昆虫の *SIP* とは異なっており、*SIP* の多様性が示された。5 齢幼虫を自由に摂食させ続けると、自発的に摂食をやめ蛹化する。摂食停止から蛹化までの日数と、5 齢後期に絶食させた個体の DTP を比較すると有意差は認められなかった。この結果から、摂食の自発的停止が蛹化運命決定のキューとなっている可能性が強く示された。

以上、本研究は、キボシカミキリにおける *BR-C* の構造、系統進化、発現タイミングを明らかにするとともに、表皮における *PhBR-C* の発現を変態の進行を判別するための分子マーカーとして利用できる可能性を示した。さらに、キボシカミキリにおいては 5 齢前期には *SIP* は生じず、後期に限って *SIP* が生じるという新奇なタイプの蛹化運命決定メカニズムが働いていることを発見した。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。