

論文審査の結果の要旨

氏名 近藤 小雪

陸生クマムシ類の多くは、外界の乾燥に対して細胞内の水分量を数%以下まで低下させた乾眠と呼ばれる状態で耐えることができる。クマムシの乾燥耐性は種によって異なり、急速な乾燥にも耐えられる種や、乾燥にはまったく耐えられない種のほか、高湿度環境下でゆっくりした乾燥を経た場合にのみ耐性を示す種が存在する。これらの耐性能力の違いはその生息環境の乾燥条件と良く合致しており、それぞれの種が適応的な分子メカニズムを獲得していると考えられる。なかでもゆっくりした乾燥を必要とする種では、外界の乾燥を感知して乾燥耐性を準備するための特有の制御機構が重要な役割を果たすと考えられるが、その分子基盤は全く分かっていなかった。論文提出者は本研究において、クマムシの一種ヤマクマムシが事前に高湿度環境に曝露することで乾燥耐性を獲得することを見出し、この耐性獲得に新規な遺伝子発現が必要であることを示した。また、耐性獲得を阻害する化合物を同定し、乾眠誘導に関わるシグナル経路を初めて明らかにした。さらに、乾眠時に誘導される遺伝子を多数同定し、その発現制御様式について上記シグナル経路との関連を含めて解析を行った。

本論文は2章からなる。第1章では、まずヤマクマムシが事前に湿度95%の高湿度環境に1日曝露する（プレコンディショニング）ことで初めて湿度10%の厳しい乾燥環境に耐えられるようになることを示した。ヤマクマムシはゲノム解読やEST解析が進められており、乾燥誘導機構を解析するためのよいモデルになると考えられた。この系を用いて、プレコンディショニングの前に転写阻害剤で処理したところ、低湿度曝露を経たヤマクマムシはほぼ100%の個体が死亡し、乾燥耐性の獲得は完全に抑制された。一方、対照として低湿度の代わりに高湿度に曝露した個体では生存に影響がなかったことから、転写の阻害は乾燥耐性の獲得を選択的に抑制したことを示した。同様の結果を翻訳阻害剤についても得たことから、ヤマクマムシの乾燥耐性獲得には新規遺伝子発現が必要であることを示唆した。この結果から、外界の乾燥を感知して適切な遺伝子発現を導くシグナル伝達経路の存在を推定し、そうしたシグナル経路の同定を

目的として、既知の様々なシグナル伝達経路の阻害剤 81 種からヤマクマムシの乾眠誘導を阻害する化合物の探索を行った。その結果、有意な阻害作用を示す 5 種の化合物を同定した。特に Protein Phosphatase (PP) 1/PP2A 阻害剤は耐性獲得に対して顕著な抑制効果を示し、別の PP1/PP2A 阻害剤を用いた場合にも同様の効果が得られたことから、PP1/PP2A がヤマクマムシの乾眠誘導に必要であることを示唆した。PP1/PP2A の乾眠への関与を示唆したのは本研究が初めてである。

ヤマクマムシの乾眠誘導には新規な遺伝子発現が必要であったことから、第 2 章では乾眠に必要な遺伝子の候補として、プレコンディショニング中に発現上昇する遺伝子をトランスクリプトーム解析により網羅的に探索した。その結果、発現量が 4 倍以上上昇した遺伝子を 146 個見出した。その多くはクマムシ固有の遺伝子であった。さらに翻訳阻害剤への感受性をもとに、乾燥ストレスにตอบสนองして最初に転写される遺伝子（一次応答遺伝子）と、その下流で制御される遺伝子（二次応答遺伝子）に分別し 102 個の一次応答遺伝子を同定した。これらのうちの一部は PP1/PP2A 阻害剤処理により、発現上昇が抑制されたことから、PP1/PP2A は乾燥ストレスの感知とそれにตอบสนองした最初の遺伝子発現制御の間を繋ぐシグナル伝達経路に関わっている可能性が考えられた。

以上、本研究は、ヤマクマムシをプレコンディショニングによって乾燥耐性を獲得するモデルクマムシとして確立するとともに、その耐性獲得を阻害する 5 種の化合物を同定し、乾眠誘導に関わるシグナル経路を初めて明らかにした。これらの化合物は乾眠誘導機構の解析の強力なツールになると考えられる。特に PP1/PP2A は一次応答遺伝子の転写制御にも関わることを示し、乾眠誘導に重要な役割を担うことを初めて示唆した。これらは極限環境生物学分野の先駆的で独自性の高い研究成果である。また、本研究で同定した発現上昇遺伝子群はクマムシの乾燥耐性機構を担う良い候補と考えられ、阻害剤とあわせてその分子機構の解明に貢献すると期待される。

なお、本論文は、加藤由起・白髭克彦・國枝武和・久保健雄（以上、東京大学）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。