

## 審査の結果の要旨

氏名 工藤 愛弓

本論文では、非モデル昆虫の一つであるテナガショウジョウバエにおいて、効率的に外来遺伝子を導入するためのシステム構築が行われている。昆虫は多様な性質を持ち、農学上も重要な研究対象である。その性質を明らかにするためには高度な遺伝子操作技術が必要となる。昆虫における遺伝子操作技術はこれまで主にキイロショウジョウバエやカイコなどのモデル昆虫で開発されてきたが、他の多くの非モデル昆虫における遺伝子操作技術は大幅に遅れをとっている。非モデル昆虫において高度な遺伝子操作技術を確立することは、昆虫の持つ多様な性質を明らかにする上で多大な貢献をするものと期待される。その意味で、本研究で取り組む課題は意義深いものであると認められる。

まず、第 1 章では非モデル昆虫における遺伝子操作技術の現状と、モデル生物において用いられる手法の有効性とが対比的にレビューされている。この中で、非モデル昆虫において現在用いられている RNAi やゲノム編集といった手法が安定性や効率性に欠けており、改善を必要としていることが明らかにされている。一方でモデル昆虫であるキイロショウジョウバエでは、ファージ由来の配列特異的な組換え酵素インテグレースを用いた手法により、サイズの大きな外来遺伝子を安定的に導入することが可能になっていることが紹介されている。また、この手法がそれ以前に用いられていたトランスポゾンを用いた方法にとって代わってコミュニティで広く採用されるためには、単に性能が優れているだけではなく、様々な地道な作業により少しでも使いやすく改良する努力が積み重ねられたことが必要であったと述べられている。これらの論考に基づいて、本論文で行うべき技術開発の方向性が提示され、その妥当性が吟味されている。

第 2 章では、インテグレースを用いた遺伝子導入に先立って、それに必要となる attP 配列をテナガショウジョウバエのゲノム中に導入することが行われている。この段階では、トランスポゾン的一种 piggyBac を用いた遺伝子導入法が採用されており、計 2028 個の初期胚を処理して 44 の形質転換体を獲得したことが示されている。さらなる交配により、ホモ接合体として維持が可能な 37 系

統を選抜することに成功している。このように多数の系統を準備することが最終的に「使える」システムを確立するためには必要なことである旨が論じられている。

第 3 章では、引き続きインテグレースを用いた遺伝子導入が試みられている。第 2 章で作成した 37 の attP 系統のそれぞれにさらに外来遺伝子を導入することにより、それぞれの系統の持つ形質転換効率を評価している。そのために使用した初期胚の総数は 7000 個を超えており、その規模はこの分野の研究例の中でも抜きんでている。また、2 段階の遺伝子導入を実現するために、蛍光タンパクと複眼色突然変異体の 2 つを用いた巧妙なマーカー遺伝子の選択が行われている。これらの実験の結果、最終的に実用的な遺伝子導入効率を持つ attP 系統を複数得ることに成功している。

第 4 章では、上記の研究で確立された遺伝子導入法がテナガショウジョウバエの研究に及ぼし得る効果について論じられている。また、本研究を遂行する過程で明らかとなった、他の非モデル生物で高度な遺伝子導入法を開発するうえでも役立つと思われる各種の知見についても述べられている。

以上、本論文によりテナガショウジョウバエにおけるインテグレースを用いた遺伝子導入法が確立された。テナガショウジョウバエは形態や行動において特徴的な性質を備えており、それらについての生態学的な研究が進められている。一方でそれらの性質がいかんして獲得されたのか、そのメカニズムについてはまだ不明な点が多い。高度な遺伝子操作技術はこれらの問題にアプローチするうえで大きなブレークスルーとなることが期待される。そこで得られる知見はモデル昆虫であるキイロショウジョウバエだけを扱っていたのでは明らかにすることのできないものであり、非モデル昆虫の持つ多様な性質を研究することの意義を示すものだと言える。したがって本論文はテナガショウジョウバエに限らず、広く非モデル昆虫を用いた研究にとって重要な意味を持つと考えられる。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。