

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	松村 崇志		
審査委員	主査	佐賀大学	教授 早川 洋一
	副査	佐賀大学	教授 鈴木 章弘
	副査	鹿児島大学	准教授 坂巻 祥孝
	副査	琉球大学	教授 辻 瑞樹
	副査	佐賀大学	准教授 吉賀 豊司
審査協力者	印		
題目	<p style="text-align: center;">Analysis of stress response in insects.</p> <p style="text-align: center;">(昆虫のストレス応答性の解析)</p>		
<p>すべての生物は様々なストレスに曝されており、時にはその生理機能に致命的な損傷を受け、個体死に至る。しかし、場合によっては、ストレス順応性を獲得することで、致死性ストレスをも乗り切ることが知られている。ストレス依存的な個体死やストレス順応性の分子機構は、重要な生物学的研究課題であるものの、未解明な点を数多く残している。本研究では、主にアワヨトウ (<i>Mythimna separata</i>) とキイロショウジョウバエ (<i>Drosophila melanogaster</i>) の2種の昆虫を用いて、個体死誘導とストレス順応性の分子機構の解明を目指し、一連の実験を行った。</p> <p>まず、ストレス応答に関わる分子として知られる活性酸素種(ROS)が、ストレス順応性の誘導時に、どのような血中濃度変化を示すかを調べた。その結果、アワヨトウ幼虫にストレス順応性を獲得させた際には、致死性ストレスによっても適度なレベルのROS濃度上昇を来たしたのに対し、順応性を持たない幼虫では上昇し続ける事が判明した。また、ストレス応答性に重要な機能を果たす2種類の昆虫サイトカイン(growth blocking peptide (GBP) and stress responsive peptide (SRP)) 制御に関する解析を遂行し、両サイトカインは機能的に多層性を有して血中ROS濃度をネガティブフィードバック制御していることを明らかにした。さらに、寄生や高温などのストレスによってアワヨトウ幼虫体液中で濃度上昇する生体内因子N-アセチルチロシン(NAT)が、一過的なミトコンドリア</p>			

の不活性化を介して適度なROSを発生させ、転写因子FoxOの核内移行を誘導することで、熱ショックタンパク質や抗酸化酵素の発現量を増加させ、ストレス順応性を誘導することも明らかにした。一連の解析によって、NATはストレス順応性を誘導する重要な生体成分としての役割を果たしていることが強く示唆された。

キイロショウジョウバエを用いて、個体死誘導の分子メカニズムについての解析も行った。致死ストレス(40℃、30分)後4時間のキイロショウジョウバエ幼虫の脂肪体における網羅的遺伝子発現解析(RNAseq)を行った結果、個体死の誘導時特異的に転写レベルが上昇する遺伝子として*Phaedral(Phae1)*を同定した。*Phae1*はセリン型プロテアーゼ様タンパク質をコードしている事実以外には、ほとんど解析が為されていない未知なる遺伝子であった。分子遺伝学的操作実験によって、キイロショウジョウバエ全身での*Phae1*過剰発現が個体死を誘起するのに対して、中枢神経系特異的な*Phae1*のノックダウンは致死ストレスによる死亡率を減少させた。また、キイロショウジョウバエ中枢神経系由来の培養細胞BG2細胞に*Phae1*を過剰発現させることで、カスパーゼの活性化や細胞の熱ストレス耐性低下が確認した。こうした一連の研究知見は、*Phae1*がストレス依存的な個体死の誘導と密接に関わる遺伝子であることを強く示唆するものであった。さらに、本研究では、*Phae1 promoter-GFP* 遺伝子を導入した形質転換ショウジョウバエを作成し、致死性的ストレス依存的な緑色蛍光強度上昇を確認した。従って、当該形質転換ショウジョウバエは、新規殺虫成分の開発、あるいは、抗ストレス性の食品成分の分析等に幅広く応用可能な強力なツールとなることを実証した。

本研究は主に農業害虫であるアワヨトウとモデル生物であるキイロショウジョウバエを用いて昆虫に対するストレス作用に関する基礎的研究を推進し、種々の新知見を得た。さらに、こうした研究成果を基盤に、昆虫が示す致死性的ストレス度を測定し得る形質転換ショウジョウバエの作成に成功した。当該ショウジョウバエは、上記のように様々な分野での利用が可能な研究開発ツールになるものと期待できる。以上のことより、審査員一同は、本論文が博士(農学)の学位論文として十分な価値のあるものと判定した。