

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 農 学 )	氏名	乾 智洋
論文題目	Studies on the mechanisms underlying the acquisition of competence for metamorphosis in the silkworm, <i>Bombyx mori</i> (カイコにおける蛹化能力獲得機構の解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>昆虫は、現在の地球上の生物全体の種数の半数以上を占める巨大な生物群である。昆虫の大規模な適応放散の原動力になったのが、「変態」の獲得にあると考えられている。昆虫の変態は幼若ホルモンと呼ばれるホルモンによって内分泌的に制御される。幼若ホルモンは幼虫から蛹、あるいは蛹から成虫への変態を抑制する。近年の幼若ホルモン研究の進展によって、幼若ホルモンの生合成経路やシグナリング経路についての理解が大きく進み、幼若ホルモンによる変態抑制の分子基盤の詳細が明らかにされつつある。一方で、昆虫の若齢幼虫は幼若ホルモンの存否に関わらず常に幼虫脱皮を行う、という事実も指摘されており、若齢幼虫における幼若ホルモンの機能や変態制御機構については不明の点が多い。本研究は、古典的なモデル生物であるカイコにおいて実験形態学とゲノム編集法を組み合わせた独自の実験法を構築・展開し、カイコの若齢幼虫が蛹に変態できない理由を明らかにした。さらに、ヘテロクロニック遺伝子<i>let-7</i>によるカイコの蛹化プログラムの制御機構を明らかにした。本論文は以下のように要約される。</p> <p>第1章では、昆虫の脱皮・変態の制御機構に関する研究の現状を整理した。昆虫の変態様式の進化過程を理解する上で、幼若ホルモンシグナリング機構の多様化を理解することが重要であることを指摘し、さらに、ホルモンなどの内分泌物質に加えて、生物の発育タイミングを支配するヘテロクロニック遺伝子の役割を理解することも重要であることを指摘した。</p> <p>第2章では、カイコを用いた実験形態学的研究を行った。まず、1930年代に行われたPiephoの皮膚移植実験をカイコにおいて再訪し、若齢幼虫のカイコの皮膚片を終齢幼虫の体内に移植する実験を行った。その結果、移植された若齢の皮膚片は、ホストの蛹変態・成虫変態に伴って、蛹・成虫のクチクラを連続的に形成することが明らかになった。また、孵化直後の1齢幼虫の皮膚片であっても、終齢幼虫の体内で蛹・成虫のクチクラをつくることを示した。これらの結果から、カイコの若齢幼虫は、個体全体としては蛹化する能力をもたないものの、皮膚片のような組織レベルであれば、適切な内分泌環境に置かれることで蛹化・成虫化し得ることが明らかになった。さらに、幼若ホルモン受容体を欠損させたノックアウトカイコ個体を用いて同様の皮膚移植実験を行うことにより、移植された皮膚片の蛹化能力の獲得は幼若ホルモンの存在によって抑制されることを見出した。これらの結果から、カイコにおいて蛹化能力は液性因子によって付与されること、その液性因子は幼虫の成長に伴って産生されるものと結論した。</p> <p>第3章では、進化的に保存されたヘテロクロニック遺伝子<i>let-7</i>のカイコにおける役割を明らかにした。<i>let-7</i>は線虫から発見されたマイクロRNAであり、カイコにおいては幼虫が蛹化能力を獲得する3齢期以降から発現が上昇する。<i>let-7</i>のノックアウトカイコ系統を樹立し、その表現型解析を行ったところ、<i>let-7</i>変異体ではほとんどの個体が前蛹期に致死することを見出した。終齢に到達するまでは、発育タイミングや体サイズは標準系統と同等であったことから、<i>let-7</i>変異体では適切なタイミングでの蛹化プログラムの実行に異常が生じていることが示唆された。さらに、G</p>			

AL4-UASシステムを用いた*let-7*過剰発現システムを作出し、その表現型を解析したところ、*let-7*過剰発現個体では通常よりも1歳早い4歳幼虫から早熟変態が起きることを見出した。遺伝子発現解析の結果、*let-7*の喪失または過剰発現によって、幼若ホルモンシグナリング遺伝子や脱皮ホルモン生合成遺伝子の発現に異常が生じていることが明らかにされた。また、*let-7*は幼若ホルモン産生器官であるアラタ体において高発現することから、幼若ホルモンの生合成を制御する機能を持つことも示唆された。これらの結果から、カイコ*let-7*の主要な機能は、アラタ体や前胸腺におけるホルモン生合成の調節にあり、それによってカイコの蛹変態は適切なタイミングで実行されるように調節されていると結論した。

第4章では、本研究の総合的な総括を行うとともに、昆虫の脱皮・変態に関する研究の課題と今後の展望を示した。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせ

て、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

昆虫は変態によってその形態や生理を生涯のうちに大きく変化させる。昆虫の変態の内分泌的制御機構を理解することは、昆虫の進化プロセスの理解や害虫の適切な管理法を構築するために重要である。本研究は、昆虫の若齢幼虫が幼若ホルモンの存否に関わらず常に幼虫脱皮を行うという現象に注目し、実験形態学を用いてその理由を明らかにした。さらに、進化的に保存されたヘテロクロニック遺伝子*let-7*の機能を分子遺伝学的手法を用いて明らかにした。本論文の評価すべき点は以下の通りである。

1. カイコの皮膚片を用いた移植実験によって、個体から切り離された組織単独での蛹変態プログラムの実行過程を解析し、たとえ孵化直後の幼虫の皮膚であっても、終齢幼虫の体内環境に置かれると次の脱皮の際に蛹形質を発現することを証明した。この実験によって、終齢幼虫の体内には幼虫組織に蛹化能力を付与する液性因子が存在すること、そして若齢幼虫はこの因子をもたないために変態できないことを明らかにした。
2. 実験形態学とゲノム編集法を組み合わせた独自の実験系を構築し、若齢幼虫の皮膚の移植片においても蛹変態は幼若ホルモンによって抑制されることを示した。カイコの蛹変態は、蛹化能力を付与する液性因子と、蛹化を抑制する幼若ホルモンの両者の作用によって制御されることを明らかにした。
3. ノックアウトカイコ、トランスジェニックカイコを用いた分子遺伝学的解析により、ヘテロクロニック遺伝子*let-7*のカイコにおける機能を明らかにした。*let-7*は幼若ホルモンの産生器官であるアラタ体や脱皮ホルモンの産生器官である前胸腺の活性を調節することを示し、カイコにおいてもヘテロクロニック遺伝子による蛹変態タイミングの制御機構が存在することを示した。

以上のように、本論文は不明の点が多かった昆虫の若齢幼虫の蛹化能力獲得機構を解析し、カイコ幼虫が変態するためには蛹化能力を付与する液性因子が必要であることを明らかにした。さらに、進化的に保存されたマイクロRNAを介した変態の内分泌制御機構の存在を明らかにしたものであり、昆虫生理学、昆虫発生学、応用昆虫学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和5年7月28日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)