

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 今藤 夏子

昆虫とその体内に共生する微生物の関係は、相利共生から寄生まで様々である。昆虫-共生微生物系の成立や維持機構の解明は、宿主-寄生/共生系における相互作用の共進化に対して、より深い理解を与える。近年、昆虫の細胞内共生細菌として注目されている *Wolbachia* は、卵を介した垂直感染のみによって伝わり、宿主の生殖や性表現を操作することで、宿主集団中に蔓延する。*Wolbachia* の利己的戦略の中で、特に頻繁に見られるのは細胞質不和合性という生殖操作で、*Wolbachia* に感染した雄と非感染の雌の交配では産下された卵が全く孵化しないか、孵化率が低下し、これにより *Wolbachia* 感染が宿主集団中に広まる。

さらに、最近報告され始めた *Wolbachia* の多重感染は特に興味深い。それは、異なる *Wolbachia* 系統を持たば持つほど、細胞質不和合性の点では有利になると思われるが、一方では、多くの *Wolbachia* 系統を保持すればするほど宿主に負担がかかり、宿主の適応度が低下する、という「多重感染のジレンマ」が想定されるからである。このような背景をもとに、本研究は、実験個体群のモデル生物として知られるアズキゾウムシに異なる 3 系統 (Con, Ori, 及び Aus) の *Wolbachia* が細胞内共生している現象を見出し、この多重感染の実態を、宿主個体群/宿主個体/宿主体内の 3 レベルにおいて総合的に研究したものである。

第 1 章は研究の背景と目的を述べた緒言であり、それに続く第 2 章では、アズキゾウムシの地理的個体群における *Wolbachia* の多重感染の蔓延について調査している。3 系統の *Wolbachia* にそれぞれ特異的な *wsp* 遺伝子プライマーによる診断 PCR を用いて調べた結果、アズキゾウムシ以外のマメゾウムシ類はすべて *Wolbachia* に非感染であった。また、アジア・アフリカ大陸 9 カ国 26 地域のアズキゾウムシは 95% が三重感染であり、さらに、日本全国 9 地域個体群でも三重感染が 90% 以上と極めて高い頻度を見出している。アズキゾウムシでは多重感染が非常に高頻度かつ広範な地域において蔓延していることが明らかになり、これほどの事例は他に類を見ない。

第 3 章では *Wolbachia* 感染がもたらす細胞質不和合性の強さについて、交配系を組んで、産下された卵の孵化率により調べている。その結果、Con 系統は孵化率 0% の完全な不和合、Ori 系統は孵化率 60% の中程度の不和合を示し、Aus 系統は不和合を示さなかった。このように、同時に共感染している各 *Wolbachia* 系統が異なる強さの細胞質不和合性を示しているという報告は、極めて興味深い。

第 4 章は、*Wolbachia* から宿主 X 染色体への遺伝子水平転移の発見である。アズキゾウムシから見出された 3 系統の *wsp* 遺伝子配列のうち、Aus は細胞質不和合を示さず、数世代にわたる抗生物質処理でも体内から消滅せず、宿主体内における遺伝子コピー数が卵の初期発生期では特に少ない、などの特徴を持つ。そこで、Aus を持つ個体と持たない個体を用いた正逆交配実験により、宿主子孫に伝わる Aus 系統の遺伝様式を調べたところ、Aus の遺伝様式は宿主 X 染色体と連鎖した伴性遺伝と一致することが示された。これは、卵を通じた垂直感染のみが知られている

*Wolbachia* の常識を覆す発見である。アズキノウムシの核型は XY 型であることが既に確認されており、これらの知見を総合すると、Aus は細菌としての実体を持たず、宿主の X 染色体上に存在する遺伝子断片であること、すなわち Aus からの宿主 X 染色体への遺伝子水平転移であると結論している。

第 5 章では *Wolbachia* 感染による宿主適応度への影響を定量的に評価している。宿主が持つ *Wolbachia* 系統の組合せを様々に変えて、産卵数や羽化数などの適応度成分の比較を行った。その結果、Con-Ori の二重感染は、単一感染 (Con) や非感染系統よりも適応度が有意に低いことが分かり、「多重感染のジレンマ」が定量的に示された。また、第 6 章では、宿主体内における *Wolbachia* 系統間の相互作用の有無を、*Wolbachia* の存在量 (定量 PCR により遺伝子コピー数を測定) の比較から調べている。感染タイプ Con-Ori-Aus 個体における存在量は、いずれの個体においても Con と Ori の遺伝子コピー数に比べて、Aus はその 1/10 程度であった。また、Con が単一感染時の存在量は、Ori と共にいる二重感染時に比べて有意に増加し、その増加分は二重感染における Ori の存在量を上回る量であることを明らかにした。すなわち、二重感染では、Ori の存在量の分以上に Con の存在量が抑制されており、干渉や他感作用が示唆される。このような体内での細胞内共生者の系統間相互作用を定量的に示したのは、本研究が初めてである。第 7 章は、全体を通じた結語である。

本博士論文は、宿主個体群レベル/宿主個体レベル/宿主体内レベルという 3 つの視点からの、単一昆虫種における *Wolbachia* 多重感染の実態の総合的な研究であり、*Wolbachia* 研究の国際的水準を大きくリードするものである。本研究により、アズキノウムシにおいては、宿主体内において *Wolbachia* 同士が相互作用をしていること、*Wolbachia* の系統やその組み合わせによって、宿主の適応度や細胞質不和合性の強さに与える影響が異なることが明らかになり、多重感染の実態の理解に大きく貢献した。特に、本研究 (第 4 章) が世界初の報告例となった原核生物から真核生物へのゲノム断片の水平転移は米国科学アカデミー紀要に掲載され、内外の科学ニュースで広く取り上げられた。これらの研究成果を総合的に判断して、審査委員会は全会一致で、本論文を博士 (学術) の学位に相応しいものであると認定した。