

[ 別紙 2 ]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 小池 淑子

本論文「カイコのZ染色体の構造解析」は、カイコの性染色体の一つであるZ染色体について、その部分構造を解明して機能を推定したものである。昆虫の多くは、雌XX、雄XYという性染色体を有するが、鱗翅目および近縁の毛翅目の昆虫は、雌がZWまたはZO、雄がZZという雌ヘテロ型の性染色体構成を持つ。鱗翅目昆虫のZ染色体は、性的形質以外に、交尾選好性、妊性、休眠性などの生態的に重要な形質を支配することが知られている。性染色体を有する生物では、普通X染色体上の遺伝子の転写産物の量を雌雄で等しくするための「遺伝子量補正」が行われているが、カイコのZ染色体上の二つの遺伝子においてはmRNA量が雄が多いことが報告されている。本研究の目的は以下の3点である：(1) カイコのZ染色体上の遺伝子を同定し、個々の生物機能を推定する。(2) Z染色体の構造をW染色体および常染色体と比較する。(3) Z染色体上の多数の遺伝子のmRNA蓄積量を雌雄で比較する。

第一章では、カイコZ染色体の構造解析のために、*Bmkettin*、*Bmper*、*T15.180a*および*Rcf96*の4遺伝子をプローブとして、カイコのBACライブラリーを探索した。得られたBACクローンの末端に特異的なプローブを用いてスクリーニングすることにより、塩基配列が重複するBACクローンを得た。その結果、*Bmkettin*を出発点として約320kb、*Rcf96*を出発点として約270kbにわたるBACコンティグを作製した。また、*T15.180a*および*Bmper*をプローブとして、それぞれ約170kbの断片を含むBACを1個ずつ得た。得られたZ染色体由来のBACについて、ショットガン法で全塩基配列を決定した。その結果、*Bmkettin*周辺の約320kbにおいて、13個の遺伝子を同定した。また*Bmper*のBACには1個の遺伝子を、*Rcf96*のBACからは4個の遺伝子を、*T15.180a*のBACからは、3個の遺伝子を、それぞれ同定した。

解析した各領域において、遺伝子密度は約30kbあたり1個であった。W染色体には、調べられている範囲に遺伝子は一つも存在しない。カイコの遺伝子数は約2万個程度と考えられており、平均すれば約27kbあたり1個の遺伝子密度と推定される。従って、Z染色体の遺伝子密度は常染色体に類似している。推定されるアミノ酸配列から生物機能を推定したところ、Z染色体の遺伝子には神経機能や運動機能など行動に関わるものが多い傾向があったが、ハウスキーピング遺伝子と思われる遺伝子も多く存在していた。

*Bmkettin*周辺の約320kbおよび*Rcf96*周辺の約170kbに存在する遺伝子の配列順序や転写の向きを明らかにし、ショウジョウバエの遺伝子地図と比較してみたところ、ショウジョウバエのオーソログは、常染色体に分散して存在し、

X染色体とのシンテニーはなかった。しかし、カイコZ染色体上の *Bmprojectin*・*Bmmipole* の 5 遺伝子が並ぶ約 130 kbp の領域と、ショウジョウバエの第 3 染色体の一部領域との間で局所的シンテニーが認められた。

第二章では、Z染色体の遺伝子量補正の有無に着目し、第 1 章で *Bmkettin* 周辺および *Rcf96* 周辺から発見した 23 種類の遺伝子について、リアルタイム RT-PCR 法により、mRNA 蓄積量を雌雄で比較した。鋳型には、4 歳・5 歳幼虫および成虫の各組織から得た RNA を用いた。その結果、さまざまな発育段階や組織において、細胞あたりの mRNA 蓄積量は、全体に雄のほうが雌よりも多かった。しかし、雄：雌の比率は必ずしも 2:1 であるとは限らず、雄で 2 倍を超える mRNA を蓄積している遺伝子や、逆に雌でより多くの mRNA を蓄積している遺伝子もあった。したがって、少なくともこれらの染色体領域において、遺伝子量補正是行われていないこと、ならびに個々の遺伝子に関しては個別の性依存的調節がなされる場合があることが明らかになった。

*Bmkettin*、*Bmtitin1*、*Bmtitin2* および *Bmprojectin* の 4 遺伝子の他動物における相同タンパク質は、筋原線維の構造を保持する機能を果たす。これらの mRNA の蓄積量も、雄では雌の 2 倍以上検出された。筋肉や神経の機能を支配する mRNA 量が雄で多いことは、カイコの行動に見られる雌雄差を部分的に説明することができる可能性がある。

以上のように本研究は、昆虫の性染色体の構造と機能の深い理解をもたらし、農学・生物学の両面に大きく貢献するものである。よって、審査員一同は、本論文を博士（農学）の学位論文として価値あるものと判断した。