

審査の結果の要旨

氏名 Paul, Rajib Kumar

ミツバチは社会性昆虫であり、8 字ダンスによる記号的コミュニケーションを示すなど精緻で多彩な社会行動を示す。しかしながら、こうしたミツバチの高次行動の分子的基盤には不明な点が多い。キノコ体は、昆虫の脳で感覚統合や記憶・学習の中核とされており、ミツバチでは特徴的に発達している。ミツバチのキノコ体は、細胞体の大きさが異なる 2 種類の介在神経(大型と小型のケニオン細胞)から構成されており、その構造は性や分業により異なることが知られている。このことから、キノコ体の機能がミツバチの高度な社会行動に関わる可能性が考えられてきた。

当研究室ではこれまでに、ミツバチの高次行動に関わる候補遺伝子を同定する目的で、Differential display 法により、脳でキノコ体選択的に発現する遺伝子の検索が行われており、小規模の検索(約 1,000 本のバンドを比較)の結果、5 種類の遺伝子(IP₃ 受容体、IP₃phosphatase、CaMKII、PKC、Mblk-1 遺伝子)が同定されている。このうち *Mblk-1* は、キノコ体の大型ケニオン細胞選択的に発現し、Ras/MAPK 経路により制御される塩基配列特異的転写因子をコードする。*Mblk-1* のホモログは、線虫やショウジョウバエ、マウス、ヒトにも存在し、ショウジョウバエホモログである *E93* は、変態期に昆虫ステロイドホルモン(エクダイソン)依存に誘導され、幼虫組織のアポトーシスに関わることが知られている。またこの過程には、*E93* の他に、*BR-C* や *E74* というエクダイソン関連転写因子に関わることも報告されている。しなしながら、これらの転写因子の昆虫の神経系における機能は不明であった。

本研究の第一章では、*BR-C* や *E74* がキノコ体の機能に関与するか調べるために、それらのミツバチホモログ遺伝子を同定し、*In situ hybridization* 法により脳内での発現解析を行った。その結果、両者ともキノコ体選択的に発現しており、*BR-C* は大型、*E74* は小型ケニオン細胞にそれぞれ発現していた。このことは、ミツバチではエクダイソン関連転写因子群(*Mblk-1*, *BR-C*, *E74*) が、ケニオン細胞のサブタイプ選択的な遺伝子群発現調節に関わることを示唆している。

第二章では、キノコ体のサブタイプ選択的な機能に関わる候補遺伝子を同定する目的で、Differential display 法と cDNA microarray 法を組み合わせ、キノコ体選択的に発現する遺伝子の大規模な(約 10,000 本のバンドを比較)検索を行なった。まず、キノコ体、触角葉、視葉

の3つの領域から調製した RNA を用いて Differential display 法を行なった結果、165 本のバンドがキノコ体選択的に検出された。次いで、これらのバンドに含まれる PCR 断片をサブクローニングした後、それぞれ 1 つのバンドに由来する 6 つのクローンをプリントした cDNA microarray を作製した。二蛍光標識法による解析の結果、キノコ体選択的に発現する候補遺伝子が 112 種類得られた。In situ hybridization 法の結果、このうち 29 種類がキノコ体選択的に発現しており、キノコ体での発現様式により、3 つのグループ(キノコ体全体に発現:14 種類、大型ケニヨン細胞選択的:11 種類、小型ケニヨン細胞選択的:4 種類)に分類できることが分かった。また、ホモロジー検索の結果、転写因子や Phospholipase C、PDZ ドメインを持つ新規タンパク質、GEF 活性ドメインを持つ新規タンパク質、イムノグロブリンドメインを持つ新規タンパク質をコードする遺伝子などが同定された。

以上、本研究により、ミツバチ脳におけるケニヨン細胞のサブタイプ固有な細胞内情報伝達系や遺伝子発現制御の存在が初めて示唆された。また、キノコ体の機能がエクダイン関連転写因子によって制御される可能性が指摘された。このような遺伝子発現制御様式を獲得したことで、キノコ体の神経機能が特化し、分業に伴う神経回路の再編成や、8 字ダンスに代表される高度な情報処理が可能になった可能性がある。また逆に、キノコ体選択的に発現する遺伝子は、動物一般の高次神経機能に関わる候補遺伝子になる可能性がある。同定した遺伝子の一つは、知能発育低下や、筋緊張低下、運動障害など、神経系に異常を起こすヒトの遺伝病である Niemann-Pick 病の原因遺伝子のミツバチホモログであった。Niemann-Pick 病の原因遺伝子産物の神経細胞における機能には不明な点が多い。この遺伝子は、ミツバチでは大型ケニヨン細胞選択的に発現しており、大型ケニヨン細胞の細胞内情報伝達系を明らかにすることにより、ヒトの神経疾患に関わる新規な分子機構の解明にもつながることが期待できる。以上、本研究は、分子神経生物学の進展に寄与するところがあり、博士(薬学)の学位を授与するに値すると判断した。