

論文審査の結果の要旨

Caste-specific morphogenesis and gene expression during soldier differentiation in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti* (Isoptera, Termopsidae).

(オオシロアリ *Hodotermopsis sjostedti* の兵隊分化に伴う形態形成と遺伝子発現に関する研究)

論文提出者氏名 越川滋行

本論文は4章から構成されている。第1章では、兵隊分化の過程で起こる形態変化を明らかにし、組織形成・遺伝子発現レベルの研究の基盤とするため、様々なカーストや発生ステージの個体について形態計測を行っている。主成分分析等による解析の結果、兵隊分化の際には繁殖虫（有翅虫）への発生経路から逸脱し、頭部の大型化に代表される特徴的な形態変化が起こることを見いだしている。形態計測の測定部位の中では大顎の長さが最も顕著な変化を見せ、特に先端部の伸長が最も大きかった。また軟 X 線による撮影により大顎クチクラの発達を観察した結果、兵隊への脱皮の後、徐々にクチクラの肥厚・硬化が起きることを明らかにしている。

第2章では、形態変化に先立って起こる組織の改編について、走査型電子顕微鏡およびパラフィン組織切片による観察を行っている。一般に本種を含む下等シロアリ類の後胚発生過程では脱皮の間隔が状況に応じて変化し一定でないが、脱皮の直前の個体は脂肪体が発達し、腸内容物が排出されるため識別することができる。しかし通常の飼育環境で観察されるのは、ほとんどの場合、静止脱皮と呼ばれる擬職蟻から擬職蟻への脱皮である。擬職蟻から前兵隊への脱皮は頻度が低く、また脱皮前にはどのカーストへの脱皮か区別できないため、脱皮前の組織形成を観察することは困難であったので、JHA の投与による兵隊分化誘導系を用いて擬職蟻から前兵隊への分化を誘導し、兵隊分化時の組織形成を観察している。また、比較のために静止脱皮直前の個体を使用している。静止脱皮の場合では、古い大顎クチクラ内部にはほぼ同じサイズの新しい大顎が形成される。それに対し、兵隊分化の最初の脱皮である擬職蟻から前兵隊への脱皮過程では、古い大顎クチクラの内部に、複雑な表皮の折り畳み構造を持つ、特異な大顎組織の形成が観察されている。そこで、このような表皮の折り畳み構造により、脱皮後の急速な大顎伸長を可能にしていると考察している。

第3章では、以上のような組織形態レベルの研究成果をもとに、兵隊分化時の大顎伸長に伴って発現する遺伝子の同定を試みている。擬職蟻、JHA 投与により兵隊分化が誘導された擬職蟻、前兵隊、兵隊の大顎から RNA を抽出し、蛍光ディフュージョンディスプレイ法によって分化過程で高い発現が見られる遺伝子の候補を得ている。そのうち既知の遺伝子と相同性があり、リアルタイム定量 PCR により兵隊分化の途上の大顎で発現量が増加することが確認されたものが 12 遺伝子あった。それらの中でも Cuticle Protein を 4 種類が得ているが、前兵隊でのみ発現が大きく上昇するものがあり、カースト特異的な Cuticle

Protein の例として興味深いものである。それ以外の遺伝子は分化に伴う形態形成との関連を推定し、それらの多くは、前兵隊への脱皮直前のステージで最も強い発現が認められていて、脱皮の直前には遺伝子発現を伴った多くの変化が起こるためと考察している。

第4章では、アクチン結合タンパク HsjCib と形態形成における役割を研究している。前章で得られた遺伝子の中でも、アクチン結合タンパクをコードする遺伝子 *cib* のホモログ (*HsjCib*) は大顎組織において、前兵隊への脱皮直前に発現量が顕著に増加している。またショウジョウバエの *Cib* は細胞骨格のアクチン繊維の重合を通じて細胞の形態形成を調節することが知られているため、シロアリのホモログも同様の機能を持つことと推定している。前章で得られた *HsjCib* 部分配列を基に 5'-および 3'-RACE 法によって、cDNA 全長配列をクローニングしている。その結果、5 種類のアイソフォームが得ていて、最長のアイソフォームは WH2 domain が 5 つ連続して並んだ構造をとっていた。短いアイソフォームは、最長のアイソフォームのいずれかのエキソンを欠いただけの構造であり、WH2 ドメインを 4 つ持つものが 3 種類でそれぞれ長さは同一、ドメインを 3 つ持つものが 1 種類得ている。次にタンパク質の発現を確認するため、anti-*Drosophila Cib* 抗体を用いて、ウエスタンブロットを行い、クローニングの結果から予想される 3 つのバンドが検出している。また各 Isoform に共通する領域を含む RNA プローブを合成し兵隊分化途上の大顎組織切片に対して *in situ* ハイブリダイゼーションを行い、表皮組織での発現が確認している。

以上のような形態レベルから分子レベルに及ぶ本研究により、シロアリの兵隊分化の過程の理解を一層進めている。本研究はシロアリの兵隊分化時の形態形成に関してこれまでで最も詳細な研究例であり、シロアリの兵隊カースト発生過程での遺伝子発現を扱った初めての研究例である。

なお、本論文の第 4 章は松本忠夫、三浦徹との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。