

論文審査の結果の要旨

氏名 宇野 佑子

社会性動物ではしばしば高度な個体間分業と、個体間コミュニケーションが見られる。論文提出者が研究対象としたセイヨウミツバチは社会性昆虫であり、雌が女王蜂と働き蜂に分化し、働き蜂は羽化後の加齢に伴って育児から採餌へと分業する。さらに採餌蜂は、「尻振りダンス」により餌場の位置を巣仲間に伝達する。ミツバチがこうした高次行動を示す背景として、脳の記憶・学習の高次中枢である「キノコ体(上向きの2つの傘をもつ)」の顕著な発達が要因の1つと考えられている。ミツバチのキノコ体は、2種類の神経細胞(大型と小型の「ケニオン細胞」)から構成されるが、その形状は働き蜂の分業に伴って変化する。従ってキノコ体の機能解析はミツバチの高い記憶・学習能力や、働き蜂の分業の神経基盤を知る上で重要な手がかりを与えると期待される。これまで、キノコ体の機能解明を目的に脳でキノコ体選択的に発現する遺伝子の解析が行われてきたが、タンパク質の解析例はほとんどない。論文提出者はキノコ体の新しい特性を見出すことを期待して、ミツバチ脳でキノコ体選択的に発現するタンパク質のプロテオーム解析を行った。

論文提出者は修士課程において、「視葉(視覚中枢)」に比べキノコ体選択的に発現するタンパク質を検索し、脱皮を司る幼若ホルモンの代謝酵素、Juvenile hormone diol kinase (JHDK)を同定している。博士課程ではJHDKの遺伝子発現を解析すると共に、プロテオーム解析を継続し、同定したタンパク質の遺伝子発現を解析している。本論文は全編が大きな1章立てで、要旨・序論・材料と方法・結果・考察・図表・引用文献・謝辞から構成されているが、結果と考察は各々対応する4つの段落を含む。

第1段落ではJHDK mRNAの脳での発現パターンを調べる目的で*in situ*ハイブリダイゼーション法を行い、mRNAもキノコ体選択的に発現することを示している。第2段落では、キノコ体選択的タンパク質として新しくJH合成酵素[Farnesoic acid O-methyltransferase (FAMeT)]と、小胞体カルシウム結合タンパク質であるレティキュロカルビンとカルレティキュリンを同定している。これらはその機能から2つに大別できる: 1) JH代謝に関わるJHDKとFAMeTと、2) 小胞体カルシウム貯留に関わるレティキュロカルビンとカルレティキュリンである。第3段落では、これらの遺伝子発現を解析している。

FAMeT mRNAはキノコ体の傘直下に局在する神経分泌細胞で選択的に発現していた。JHDKの結果と併せるとミツバチ脳ではキノコ体近傍でJH代謝が起きていることが示唆される。JHは働き蜂の分業の制御因子であるが、どのように分業を制御するかは不明である。この結果はJHが「ニューロホルモン」としてキノコ体近傍で合成され作用した後、そこで代謝される可能性を示唆している。

レティキュロカルビン mRNAはキノコ体の大型ケニオン細胞選択的に発現していた。カルレティキュリンについても定量的RT-PCR法とイムノブロット解析の結果、mRNAは視葉よりキノコ体で有意に高く発現しており、タンパク質の翻訳後修飾を示すキノコ体に

選択的なスポットが見出された。カルシウム情報伝達系は神経可塑性に関わることから、これら因子のキノコ体選択的発現がミツバチの高い記憶・学習能力の基盤となる可能性がある。頭足類では JHDK が小胞体カルシウムチャネル、リアノジン受容体 (RyR) に結合してカルシウム放出を促進する。ミツバチ脳での RyR mRNA の発現を調べた結果やはりキノコ体の大型ケニオン細胞選択的に発現しており、JHDK と RyR が小胞体からのカルシウム放出に働く可能性が支持された。

第4段落では2つの小胞体カルシウム関連タンパク質と、カルシウムと関連しない3つの小胞体タンパク質についてキノコ体と視葉で遺伝子発現を比較した結果、前者はキノコ体で有意に発現が高い一方で、後者の発現には両方で差は見られなかった。このことは、キノコ体では小胞体のカルシウム放出・貯留機能が亢進していることを示唆している。

以上、本論文ではミツバチ脳ではキノコ体で、分業に関わる JH の代謝が起きる可能性、大型ケニオン細胞で小胞体でのカルシウム放出・貯留機能が亢進している可能性を初めて示した。ミツバチの高次脳機能や分業の神経基盤の解明の糸口を与えると共に、昆虫の脳機能の進化を考える上でも興味深く、神経科学や社会生物学の進展に寄与すると考えられる。なお、本論文の研究は藤幸知子・森岡瑞枝・竹内秀明・久保健雄との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験を計画し、遂行したもので、論文提出者の寄与が十分であると判断できる。従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。