

論文審査の結果の要旨

氏名 藤田俊之

多くの昆虫で唾腺系は、その種に固有な生態の成立に必要な、特異な生理活性タンパク質や化合物を合成・分泌する。セイヨウミツバチ (*Apis mellifera* L.) は社会性昆虫であり、その雌は幼虫期に与えられたローヤルゼリー (RJ) の量に依存して、女王蜂か働き蜂へとカースト分化する。RJ の主要タンパク質 (MRJP) は働き蜂頭部の外分泌腺、下咽頭腺 (HpG) で合成・分泌される。一方、ミツバチの唾腺系は、共通な導管を経て口器に開口する後脳腺 (PcG) と胸部唾液腺 (TG) から形成されるが、その機能は不明であった。論文提出者は、ミツバチの唾腺系の機能の解析は、ミツバチの生態 (社会性) を成り立たせる化学コミュニケーションの理解に役立つと考え、修士課程ではそれらの機能を調べるために、PcG と TG のゲル電気泳動ベースのプロテオミクスを行った。その結果、PcG から細胞成長因子 (IDGF4) が RJ 中に外分泌されること、PcG と TG では解糖系酵素である aldorase と脂肪酸代謝酵素である acetyl-CoA acyltransferase 2 の発現が亢進しており、PcG がフェロモンであるオレイン酸エチル (EO) の生合成器官であることを示唆した。博士課程では RJ に加えて HpG、PcG、TG の 3 つの外分泌腺のショットガンプロテオミクスを実施し、RJ タンパク質が各々どの外分泌腺に由来するか、また各々の外分泌腺の RJ 合成以外の機能を解析した。

本論文は 2 章立てで構成されており、第 1 章では修士課程での解析に加えて博士課程で解析したゲル電気泳動レベルの PcG と TG のプロテオミクスの結果、第 2 章では RJ と HpG、PcG、TG のショットガンプロテオミクスの結果が記載されている。以下、第 2 章の内容について述べる。RJ からは 38 種類のタンパク質が同定した。この内、RJ の採集段階で夾雑した可能性が懸念されるタンパク質を除外するため、ミツバチゲノムにコードされている推定上の '分泌性タンパク質' に注目すると 22 種類のタンパク質が同定された。この内、6 種類は既知の MRJP であり、9 種類は今回初めて同定された RJ タンパク質であった。興味深いことに、これらの中には、

昆虫の生育に重要な役割を果たす分泌性タンパク質であるインスリン様増殖因子結合因子のサブユニット (IGFBP-ALS) や幼若ホルモン輸送因子 (Protein takeout-like) が含まれていた。RJ と HpG、PcG、TG のプロテオームを比較した結果、RJ は従来考えられてきたように HpG 由来タンパク質のみから構成されるのではなく PcG、TG という 3 種類の外分泌腺由来タンパク質の‘カクテル’であることが判明した。

次に HpG、PcG、TG の 3 種類の外分泌腺の機能を解析する上で、それぞれの外分泌腺で固有に発現するタンパク質を検索した結果、それぞれ 137、138、213 種類のタンパク質を得た。これらを KEGG データベースを用いて既知の代謝マップに当てはめたところ、HpG では翻訳や核酸代謝に関わるタンパク質が種類も多く、またスペクトラル・カウントの結果、半定量的に多く検出され、HpG の高いタンパク質合成能の分子的基盤であることが示唆された。一方、PcG では先の 2 種類の解糖系・脂質代謝酵素に加えて、糖・脂質・アミノ酸代謝酵素が多く検出され、定量的 RT-PCR 法の結果、*acyl-CoA Delta (11) desaturase* と *trans-2, 3-enoyl-CoA reductase* PcG が PcG で最も強く発現することが確認された。これらは、PcG が EO 生合成器官であることをさらに支持する結果である。TG では機能は不明ながらエネルギー代謝に関わるタンパク質が多く検出された他、機能未知の RJ タンパク質を分泌することが示された。最後に今後、新たに発見される可能性のある RJ タンパク質の候補として、HpG、PcG、TG の 3 つの外分泌腺が合成する推定の分泌性タンパク質のリストを作成した。

本研究はプロテオミクスを利用してミツバチ唾腺系の機能を解析した初めての例である。これにより、RJ が HpG のみならず PcG と TG 由来タンパク質のカクテルであること、RJ に細胞成長因子が外分泌されるとの新しい概念を提示した。また、PcG が EO 生合成器官であることを示唆した。これらの知見はミツバチ社会を成立させる化学コミュニケーションの分子基盤の理解に大きく貢献するものである。なお、本論文は秦祐子・近藤裕子・宇野佑子・錦織健児・森岡瑞枝・國枝武和・尾山大明・久保健雄(東京大学)との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究戦略設定、実験、考察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。従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。