

学位論文題名

Cold adaptations in *Drosophila* :
Qualitative and quantitative changes
of triacylglycerols in relation to overwintering

(ショウジョウバエの低温適応—越冬にともなう
トリアシルグリセロールの質的、量的変化)

学位論文内容の要旨

温帯、寒帯域に分布する昆虫の多くは、低温及び餌不足に特徴付けられる冬を乗り切るため、秋に休眠に入るとともに、低温抵抗性を高め、そして越冬中のエネルギー源となる物質を蓄積する。これら越冬のための適応的形質のうち、休眠、低温抵抗性についてはこれまでによく研究されてきたが、エネルギー貯蔵物質についての研究は少ない。昆虫は、一般にトリアシルグリセロール(TAG)が主要なエネルギー貯蔵物質であると考えられており、その蓄積量が休眠個体において増えること、また構成脂肪酸の不飽和度が高くなっていることがいくつかの昆虫で報告されている。しかし、TAGの化学的組成及び蓄積量と越冬能力との関係についてはこれまでほとんど調べられていない。

本研究の目的は、エネルギー貯蔵物質であるTAGの越冬に伴う質的、量的変化を、亜熱帯から暖温帯、冷温帯にかけて分布するショウジョウバエ7種、9系統について比較することにより、越冬におけるTAGの役割を明らかにすることにある。実験に用いたハエはキイロショウジョウバエ種群 (*Drosophila melanogaster* species group) に属し、その分布域と低温抵抗性の違いから、冷温帯種 (*D. auraria*, *D. bi-auraria*, *D. triauraria*, *D. subauraria*)、暖温帯種 (*D. rufa*, *D. lutescens*)、亜熱帯種 (*D. takahashii*) の3グループに分けられる。これらのハエのうち冷温帯種4種と *D. rufa* は、*montium* species subgroup に、他の2種は *takahashii* species subgroup に属する。これまでの研究から冷温帯種及び暖温帯種は成虫で休眠することが

明らかになっている。

第1章では、これらのハエを短日条件（10時間明期：14時間暗期）と長日条件（15時間明期：9時間暗期）で飼育し、TAGとグリコーゲンの蓄積量を比較した。冷、暖温帯種は、短日条件下で生殖休眠に入り、非休眠個体に比べより多くのTAGを蓄積した。冷温帯種と暖温帯種を比べると、TAGの蓄積量は前者で多く、なかでも最も北方に分布する *D. subauraria* において最大であった。亜熱帯種は温帯種ほど多くのTAGを蓄積できなかった。一方、グリコーゲン量については、休眠、非休眠個体間及び温帯種、亜熱帯種間ではっきりとした相関はみられなかった。以上の結果から、これらショウジョウバエにおいて、越冬時の主要なエネルギー源はTAGであり、その蓄積量が越冬能力と関係することが推測された。

第2章では、屋外での飼育、越冬実験により、TAGの蓄積がこれらのハエの越冬に果たす役割を調べた。屋外飼育は北海道大学構内の木立の中に設置した飼育箱を使用し、8月中旬から行った。これまでの研究から *D. auraria* は雪の下で越冬することが知られているので、12月中旬に根雪となった後は、雪の下に埋めた発泡スチロール箱の中に飼育ビンを移し、その後4月まで死亡個体数とTAG蓄積量の変化を調べた。実験個体を経験した日長と温度は8月中旬から12月中旬までは札幌の自然条件と同じであり、また、雪の下に埋められてから4月上旬までは暗黒下で、ほぼ0.2℃であった。屋外実験の結果、*D. subauraria* と *D. triauraria* 大沼系統では9月上旬以降に羽化した個体が生殖休眠に入り、暖温帯種では10月中旬以降に羽化した個体が休眠に入った。亜熱帯域由来の *D. triauraria* 亀徳系統は休眠に入らなかった。*D. subauraria* と *D. triauraria* 大沼系統では、9、10月に羽化した個体のTAG量は12月中旬に最大で体重の16%に達した。それらの個体の50～70%が春まで生存した。11月以降に羽化した個体のTAG量は体重の9%以上に達することはなく、生存率も低かった（0～35%）。暖温帯種と *D. triauraria* 亀徳系統では、12月中旬におけるTAG蓄積量は少なく（体重の2～9%）、これらのハエが春まで生存することはなかった。また、これらすべての実験系統において、体内のTAG量は12月中旬以降徐々に減少した。以上の結果から、TAGは越冬中エネルギー源として利用されており、その蓄積量はこれらショウジョウバエの越冬能力を決定する一要因であると結論した。

第3章では、越冬にともなうTAGの質的变化、すなわち脂肪酸の組成、TAG分子種の組成、相転移温度の変化を調べた。示差走査熱量測定(DSC)による解析の結果、TAGの相転移温度は、非休眠個体より休眠個体で低く、より北方に分布する種または系統で低かった。たとえば、冷温帯種の休眠個体のTAGは0℃、すなわち越冬条件でほぼ100%が液相だったのに対し、*D. lutescens*では50%以上が固相だった。一般にTAGの相転移温度はその不飽和度に依存するので、まず構成脂肪酸の不飽和度を調べたところ、休眠個体および、より北方に分布する種で高かった。次に、TAG分子種を不飽和度に従って分画し、飽和TAGの全体に占める割合(実測値)を求め、構成脂肪酸の組成を基に、TAG合成時に脂肪酸がグリセロールにランダムに取り込まれると仮定したときに得られる飽和TAGの割合(期待値)と比較した。その結果、冷温帯種では実測値は期待値の1/10~1/3であり、*D. rufa*では1/3~2/3であった。一方、*D. lutesces*と*D. takahashii*では実測値と期待値はほとんど同じであった。以上の結果から、飽和TAGが少ないことが、TAGの相転移温度を低下させるために重要であること、このことは一般には構成脂肪酸の不飽和度を高めることによって達成されているが *montium* species subgroup では、それに加えて、脂肪酸のグリセロールへの選択的取り込みを行うことにより達成されていると結論した。

以上のように本研究では昆虫の越冬におけるTAGの重要性を明かにしたが、とりわけ、TAG蓄積量と越冬能力に相関がみられること(第2章)、DSCを用いてTAGの熱挙動を明らかにしたこと、飽和TAG合成を抑えることに適応的意義があることを示したこと(第3章)は、これまでにない新しい知見である。飽和TAGの合成を抑える機構は、TAG合成系の酵素の量的、質的違いによることが予想され、今後この系の詳しい解析がなされれば、気候適応を分子レベル、遺伝子レベルで理解できるようになると期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 堀 浩
副 査 教 授 戸 田 正 憲
副 査 教 授 芦 田 正 明
副 査 助 教 授 木 村 正 人

学 位 論 文 題 名

Cold adaptations in *Drosophila* : Qualitative and quantitative changes of triacylglycerols in relation to overwintering

(ショウジョウバエの低温適応—越冬にともなう
トリアシルグリセロールの質的、量的変化)

生物は様々な環境の変化に適応するが、それがどのような生理学的、生化学的機構によっているかは極めて興味深い問題である。温帯、寒帯域に分布する多くの昆虫は、冬季に備えて休眠状態に入り、低温抵抗性を高め、越冬中のエネルギー源となる物質を蓄積する。これら越冬のための適応的形質のうち、休眠、低温抵抗性についてはこれまでによく研究されてきたが、エネルギー源の蓄積についての研究は少ない。いくつかの昆虫においては、主要なエネルギー貯蔵物質がトリアシルグリセロール (TAG) であり、その蓄積量が休眠個体において増えること、また構成脂肪酸の不飽和度が高くなることが知られているが、TAGの化学的組成や蓄積量と「適応」との関連性を直接証明した例はない。申請者は、近縁で、分布域の異なるショウジョウバエ7種、9系統を比較することにより、越冬能力とTAGの質的、量的変化との関係を明らかにした。実験に用いたハエはその分布域と低温抵抗性の違いから、冷温帯種、暖

温帯種、亜熱帯種の3グループに分けられる。

第1章では、短日条件（10時間明期：14時間暗期）下で生殖休眠に入る冷、暖温帯種は非休眠個体に比べ、より多くのTAGを蓄積していること、冷温帯種と暖温帯種を比べるとTAG量は前者で多いこと、亜熱帯種は温帯種ほど多くのTAGを蓄積できないことから、これらショウジョウバエにおける、越冬時の主要なエネルギー源はTAGであり、その蓄積量が越冬能力と相関する可能性を示唆している。

第2章では、TAG蓄積量とこれらのハエの越冬能力との関係を、直接、屋外実験により確かめている。その結果、冷温帯種、暖温帯種、亜熱帯種のうち、TAG蓄積量が一番多い冷温帯種のみが越冬可能であるが、その中でも秋早くに羽化した個体ほどTAG量が多く春までの生存率が高いこと、また、すべての系統において、TAG量は越冬中、徐々に減少していることから、TAGは越冬中エネルギー源として利用されており、その量はハエの越冬能力を左右する一要因であると結論している。

第3章では、TAGの質的变化、すなわち脂肪酸の組成、TAG分子種の組成、相転移温度の変化を調べている。示差走査熱量測定（DSC）の結果、冷温帯種の休眠個体のTAGは0℃、すなわち越冬条件でほぼ100%が液相であるのに比し、暖温帯種では50%以上が、亜熱帯種では70%以上が固相だった。また、この相転移温度の違いは、単に不飽和脂肪酸の比率が高いことだけでなく、不飽和脂肪酸をグリセロールへ選択的に取り込む機構の存在によると考えられた。

以上の成果のうち、TAG量と生存率との間に正の相関がみられること（第2章）、DSCを用いてTAGの熱挙動を明らかにしたこと、不飽和TAG合成を促進する機構の存在を示したこと（第3章）は、新しい知見であり、気候適応を分子レベル、遺伝子レベルで研究するための礎石となったという点で、意義は大きい。また、4編の参考論文は査読付きの国際誌に掲載され、高い評価を受けている。よって審査員一同は申請者が博士（理学）の学位に十分な資格ありと認める。