

氏 名	さくら い たけ し 櫻 井 健 志
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1496 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 応 用 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	カイコガにおける性フェロモン受容体および嗅覚受容体遺伝子の単離と機能解析

論文調査委員 (主 査) 教 授 佐 久 間 正 幸 教 授 西 岡 孝 明 教 授 藤 崎 憲 治

論 文 内 容 の 要 旨

カイコガのオスはメスの放出する種特異的な性フェロモンであるボンピコールを触角上の嗅感覚子で鋭敏かつ特異的に認識し、発信源であるメスへ定位する。このとき、ボンピコールの酸化型化合物であるボンピカルもメスから放出されるが、ボンピカルはオスの定位行動を逆に抑制する。このような性フェロモンの識別は、それぞれの化合物を特異的に認識する受容体タンパク質によると考えられる。本論文では、カイコガの性フェロモン受容機構を分子レベルで明らかにするために、カイコガにおける性フェロモン受容体遺伝子の単離および機能同定を行った。さらに、カイコガ嗅覚受容体遺伝子群を単離し、アミノ酸配列の比較や遺伝子発現様式の解析から、鱗翅目昆虫における性フェロモン受容体遺伝子ファミリーの存在を示唆したものである。その主な内容は以下のとおりである。

1. カイコガオス触角 cDNA ライブラリーよりディファレンシャルスクリーニング法を用いて 7 回膜貫通 G タンパク質共役型嗅覚受容体遺伝子 *BmOR-1* を単離した。*BmOR-1* はシングルコピー遺伝子で、Z 性染色体上に座乗しており、8 エキソン/7 イントロンから構成されていることを明らかにした。

2. RT-PCR により組織、性および様々な発生段階での *BmOR-1* の発現様式を調べたところ、*BmOR-1* は蛹後期から成虫のオス触角で特異的に発現していた。触角 whole-mount *in situ* ハイブリダイゼーションおよび、フェロモン結合タンパク質 (PBP) との蛍光二重標識 *in situ* ハイブリダイゼーションを行い、*BmOR-1* は性フェロモン感受性感覚子の中にある一対の嗅覚受容ニューロンの片方の細胞体で特異的に発現することを示した。*BmOR-1* 組み換え核多角体ウイルスの感染により、*BmOR-1* を異所的に発現したカイコガメスの触角はボンピコールに対し電氣的応答を示したが、ボンピカルに対し応答を示さなかった。これらの結果は *BmOR-1* がカイコガにおける性フェロモン受容体遺伝子であることを示している。

3. カイコゲノムデータベースを利用して、14 のカイコガ嗅覚受容体遺伝子を単離した (*BmOR-3-16*)。分子系統解析から *BmOR-1* はこれらのうち 4 遺伝子 (*BmOR-3-5, 7*) とともに、独立した *BmOR-1* サブファミリーを形成することを示した。遺伝子発現様式の解析から、*BmOR-3, 4* は *BmOR-1* と同様にオス触角で特異的に発現しており、*BmOR-3* はボンピカル受容ニューロンで特異的に発現していることを示した。昆虫嗅覚受容体遺伝子との分子系統解析から *BmOR-1* サブファミリーには鱗翅目昆虫であるオオタバコガの性フェロモン受容体候補遺伝子を含む 6 遺伝子が属することが明らかになった。一方で、双翅目昆虫のキロショウジョウバエとハマダラカの嗅覚受容体遺伝子で *BmOR-1* サブファミリーに属する遺伝子はなかった。これらの結果から、*BmOR-1* サブファミリーは鱗翅目昆虫が性フェロモンを介した配偶行動を進化させる過程で、独立して進化した鱗翅目昆虫の性フェロモン受容体遺伝子を含む遺伝子ファミリーであると推定した。

論文審査の結果の要旨

多くの昆虫は、同種の異性個体を認識し配偶行動を行うために種特異的な性フェロモンを利用している。カイコガは初めて性フェロモンの化学構造が決定された種であり、昆虫の鋭敏かつ特異的なフェロモン受容機構を明らかにするためのモデル生物として多くの研究がなされてきた。それにもかかわらず、性フェロモンを特異的に認識し、そのシグナルを個体内に伝える性フェロモン受容体をコードする遺伝子は明らかにされていなかった。本論文はカイコガにおける性フェロモン受容体遺伝子を単離し、機能の同定をおこなうとともに、昆虫嗅覚受容体遺伝子ファミリーから鱗翅目昆虫の性フェロモン受容体遺伝子ファミリーが独立して進化してきたことを示唆したもので、評価すべき点は以下のとおりである。

1. ディファレンシャルスクリーニングを行い、カイコガのオス触角 cDNA ライブラリーから 7 回膜貫通 G タンパク質共役型嗅覚受容体遺伝子 (*BmOR-1*) を 1 つ単離した。ゲノム配列の解析から *BmOR-1* はゲノム上で 8 エキソン / 7 イントロン構造からなり、シングルコピー遺伝子として Z 性染色体上に座乗することを明らかにした。
2. RT-PCR による遺伝子発現様式の解析から、*BmOR-1* mRNA が蛹後期から成虫のオス触角に特異的に発現していることを明らかにした。さらに触角の *in situ* ハイブリダイゼーションにより、*BmOR-1* mRNA は性フェロモン感受性感覚子の中にある一対の嗅覚受容ニューロンの片方の細胞体で特異的に発現することを明らかにした。組み換え核多角体ウイルスを介して、*BmOR-1* を異所的に発現させたメスの触角がボンビコールに対し、特異的に電気的応答を示すことから *BmOR-1* タンパク質がカイコガ触角において性フェロモンの特異的受容体として機能することを示した。
3. カイコゲノムデータベースを利用し、14 のカイコガ嗅覚受容体遺伝子 (*BmOR-3-16*) を新たに単離した。これら嗅覚受容体遺伝子の発現様式の解析および他種の昆虫嗅覚受容体遺伝子のアミノ酸配列との比較から、*BmOR-1* は鱗翅目昆虫の性フェロモン受容体遺伝子を含む独立したサブファミリーを形成することを示した。さらに、*in situ* ハイブリダイゼーションにより、このサブファミリーに属する *BmOR-3* がボンビコールの行動的アンタゴニストであるボンビコールの受容ニューロンで特異的に発現していることを明らかにした。

以上のように本論文は、カイコガにおける性フェロモン受容体遺伝子の単離、機能の同定を行い、動物の性フェロモン受容体としてはじめてその遺伝子を明らかにするとともに、昆虫の嗅覚受容体遺伝子ファミリーのなかで、鱗翅目昆虫の性フェロモン受容体遺伝子が独立した遺伝子サブファミリーを形成していることを示したものであり、昆虫生理学、昆虫生態学、機能制御化学、農薬学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成17年2月16日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。