

平成 22 年 3 月 24 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2010

課題番号：19208005

研究課題名（和文）性フェロモン交信系の分子進化的解析 情報発信者と受信者の協調進化の謎に迫る

研究課題名（英文）Molecular Evolutionary Studies on Sex Pheromone Communication System - Exploring Coevolution between Signal Emitters and Receivers -

研究代表者

石川 幸男（ISHIKAWA YUKIO）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：60125987

研究代表者の専門分野：農学

科研費の分科・細目：応用昆虫学

キーワード：性フェロモン、生合成、嗅覚受容体、交信、進化、アワノメイガ、*Ostrinia*

## 1. 研究計画の概要

本研究の目的は、ガ類のメスの性フェロモン生産系とオスのフェロモン受容系の進化がどのように協調して起きたのかという謎の解明に迫ることである。このため、メス側では、性フェロモン生合成に関与する酵素のうち、フェロモンの多様性の創出に関わりが深いことがわかっており、最近その分子の実体が明らかになりつつある、脂肪酸 11 不飽和化酵素（11-desaturase）、脂肪酸 14 不飽和化酵素（14-desaturase）、脂肪酸還元酵素（Acyl-CoA reductase）を中心に、遺伝子のクローニングと機能解析を進める。オスの触角の嗅覚感覚子に特異的に存在するフェロモン受容体については、すべての候補遺伝子をクローニングしたうえで機能解析を行い、フェロモン受容体であることの証明を行う。これらの研究をまず、アズキノメイガ *Ostrinia scapularis* を対象として進め、4 年間で日本産 *Ostrinia* 属全 8 種にその研究対象を広げる。

## 2. 研究の進捗状況

(1) アワノメイガ類における性フェロモン生産系の進化を探るため、フェロモン生合成酵素をコードする遺伝子のクローニングと酵素活性の調節機構を調査した。

アズキノメイガのフェロモン腺特異的脂肪酸還元酵素をコードする遺伝子として FAR-XIII をクローニングした。Sf9 細胞を用いた発現系により、脂肪酸還元活性を調査したところ、FAR-XIII

が還元活性をもつことが証明された。

アワノメイガ（性フェロモンは Z/E12-14:0Ac）とアズキノメイガ（Z/E11-14:0Ac）の交配により、不飽和化酵素の活性制御機構を調査した。Z/E11-14:0Ac の合成には不飽和化酵素 11-desaturase が、Z/E12-14:0Ac の合成には 14-desaturase が関与している。アズキノメイガでは 14-desaturase 遺伝子の転写が、アワノメイガでは 11-desaturase 遺伝子の転写量が低かった。また、F1 では 2 つの遺伝子とも、酵素を利用している側の親における転写と同程度に転写されていた。両種における Z/E11-14:0Ac と Z/E12-14:0Ac の生産は、不飽和化酵素の転写の調節に関わる常染色体上の劣性遺伝子を仮定することで説明することができた。

(2) アズキノメイガの性フェロモン成分である Z/E11-14:0Ac の受容体（odorant receptor, OR）をコードする遺伝子をオスの触角からクローニングした。OscaOR1（E11-14:0H に特異的に反応）及びショウジョウバエの Or83b 遺伝子に相同な OscaOR2 に加えて、6 種類の嗅覚受容体遺伝子候補（OscaOR3～8）をアズキノメイガから単離した。OscaOR3～8 と相同な遺伝子を同属種で探索したところ、調査した 8 種すべてで高度に保存されていることが確認された。OscaOR3 は Z/E11-14:0Ac に反応を示しただけでなく、同属種のフェロモン成分である Z9-, E12-, Z12-14:0Ac にも反応を示した。OscaOR4 も複数成分に反応を示したが、特に E11-14:0Ac に対する反応性が高か

った。OscA0R5 はいくつかのフェロモン成分に弱い反応を示したが、OscA0R6~8 は供試したどの物質にも全く反応を示さなかった。幅広い反応スペクトラムを示すユニークな OR3 を含めて、わずかな数のよく保存された OR がアワノメイガ類の性フェロモン受容に関与していることが明らかとなった。

### 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している

性フェロモン生合成酵素遺伝子のクローニングとその発現の制御に関する研究については計画通り進行し、その研究成果は2報の論文として既に公表した。オスの性フェロモン受容体に関する研究については、合計8種類の受容体遺伝子のクローニング及びその機能解析を行うことができた。この研究成果についても2報の論文として公表している。

### 4. 今後の研究の推進方策

性フェロモン生合成酵素遺伝子のクローニングについては、脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子のクローニングを継続する。これにより、性フェロモン生合成系のより完全な理解につなげたい。性フェロモン受容体については、機能解析の結果、リガンドの特異性が事前の予想よりかなり低かった。この結果が受容体本来の特異性を反映しているかどうかを確認するため、フェロモン結合タンパク質(PBP)を別途クローニングして発現し、PBPとフェロモン受容体の相互作用について検討する。来年度は研究計画の最終年度であるため、メスのフェロモン生合成系とオスの性フェロモン受容系に関するこれまでの知見をとりまとめ、進化史上における雌雄のシステム間の相互作用について考察する予定である。

### 5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計6件)

Tabata, J., Y., Huang, S. Ohno, Y., Yoshiyasu, H. Sugie, S. Tatsuki & Y. Ishikawa (2008) Sex pheromone of *Ostrinia* sp. newly found on the leopard plant *Farfugium japonicum*. J. Appl. Entomol. 132: 566-574. 査読有

Sakai, R., M. Fukuzawa, R. Nakano, S. Tatsuki & Y. Ishikawa (2009) Alternative suppression of transcription from two desaturase genes is the key for species-specific sex pheromone biosynthesis in two *Ostrinia* moths. Insect Biochem. Mol. Biol. 39: 62-67. 査読有

Antony, B., T. Fujii, K. Moto, S. Matsumoto, M. Fukuzawa, R. Nakano, S. Tatsuki & Y. Ishikawa (2009) Pheromone-gland-specific fatty-acyl reductase in the adzuki bean borer, *Ostrinia scapulalis* (Lepidoptera: Crambidae). Insect Biochem. Mol. Biol. 39: 90-95. 査読有

Miura, N., T. Nakagawa, S. Tatsuki, K. Touhara & Y. Ishikawa (2009) A male-specific odorant receptor conserved through the evolution of sex pheromones in *Ostrinia* moth species. Int. J. Biol. Sci. 5: 319-330. 査読有

Miura, N., T. Nakagawa, K. Touhara & Y. Ishikawa (2010) Broadly and narrowly tuned odorant receptors are involved in female sex pheromone reception in *Ostrinia* moths. Insect Biochem. Mol. Biol. 40: 64-73. 査読有

Fujii, T., K. Ito, S. Katsuma, R. Nakano, T. Shimada & Y. Ishikawa (2010) Molecular and functional characterization of an acetyl-CoA acetyltransferase from the adzuki bean borer moth *Ostrinia scapulalis* (Lepidoptera: Crambidae). Insect Biochem. Mol. Biol. 40: 74-78. 査読有

〔学会発表〕(計4件)

三浦奈美・中川龍郎・田付真洋・東原和成・石川幸男(2007)日本産アワノメイガ類の性フェロモン受容体遺伝子のクローニングと機能解析. 第30回日本分子生物学会・第80回日本生化学会合同大会(パシフィコ横浜)2007年12月13日

銭 曙光・藤井 毅・Binu Antony・石川幸男(2009)アズキノメイガの性フェロモン腺で特異的に発現する fatty acyl reductase (FAR) 遺伝子のクローニング. 第53回日本応用動物昆虫学会大会(北海道大学)2009年3月30日

藤井 毅・伊藤克彦・勝間 進・嶋田透・石川幸男(2009)アズキノメイガ *Ostrinia scapulalis* のフェロモン腺で発現しているアセチル基転移酵素の解析. 第53回日本応用動物昆虫学会大会(北海道大学)2009年3月30日

坂井亮太・福澤麻衣・中野亮・田付真洋・石川幸男(2009)種特異的な性フェロモン生合成における不飽和化酵素遺伝子の調節機構. 第53回日本応用動物昆虫学会大会(北海道大学)2009年3月30日