

平成 22 年 5 月 1 日現在

研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2007～2009
課題番号：	19580122
研究課題名(和文)	植物の防衛反応を活性化する昆虫の唾液成分—その生合成と機能解析—
研究課題名(英文)	Insect herbivore-produced elicitors of plant defense reactions
研究代表者	森 直樹 (MORI NAOKI)
	京都大学・農学研究科・准教授
研究者番号	30293913

研究成果の概要(和文)：

Volicitinをはじめとする脂肪酸-アミノ酸縮合物(FACs)がシロイチモジヨトウ吐き出し液から同定されて以来、植物に抵抗反応を誘導するエリシターとしての役割は良く研究されてきた。しかしながら、FACsの昆虫における役割の解明はほとんど研究が行われていなかった。本研究では、ハスモンヨトウにおける¹⁴C-ラベル体グルタミン、グルタミン酸そしてリノレン酸の摂食実験を通して、鱗翅目幼虫においてFACsが窒素代謝の効率化に役立っていることを見出した。

研究成果の概要(英文)：

Since the first fatty acid amino acid conjugate (FAC) was isolated from regurgitant of *Spodoptera exigua* larvae, their role as elicitors of induced responses in plants has been well documented. However, studies of the biosyntheses as well as the physiological role of FACs in the insect have been minimal. By utilizing ¹⁴C-labeled glutamine, glutamic acid and linolenic acid in feeding studies of *S. litura* larvae, combined with tissue analyses, we found that FACs play an active role in nitrogen assimilation in Lepidoptera larva and that glutamine containing FACs in the gut lumen may function as a form of storage of glutamine.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・生物生産化学・生物有機化学

キーワード：生物活性物質

1. 研究開始当初の背景

近年、作物保護の新しいコンセプトとして、植物自身に本来備わる防御システムの活用が注目されている。植物病原微生物-植物間

に加え、昆虫-植物間の相互作用も研究が進み、植物の防御システムを活性化する volicitin が、昆虫由来エリシターとして初めて鱗翅目幼虫シロイチモジヨトウの吐き出し

液から同定された。

Volicitinはトウモロコシやタバコに特徴的な揮発成分の放出を誘導し、幼虫の天敵である寄生ハチはこの揮発成分を利用して寄主の幼虫を発見すると考えられている。いわゆる、植物の間接防御反応である。

したがって、植食者 - 植物 - 天敵の生物間相互作用で、volicitinは幼虫にとって不利に働くのは明白である。

2. 研究の目的

我々は、植物に揮発成分を放出させる鱗翅目昆虫の唾液成分 **volicitin** に注目し、特に、昆虫におけるその生合成経路を明らかにすることから、昆虫にとっての **volicitin** の機能・意味の解明を目指した。その解明は、昆虫 - 植物間の共進化の総括的理解を深めるだけでなく、新たな害虫制御剤のターゲットを提供する可能性もある。

3. 研究の方法

ハスモンヨトウにおける ^{14}C -ラベル体グルタミン、グルタミン酸そしてリノレン酸の摂食実験や分析実験を通して、これらの低分子有機化合物の腸管組織内の動態を探る。また、 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ とグルタミン酸を加えた人工飼料をハスモンヨトウに与え、グルタミンシンターゼに生成するグルタミンが **volicitin** に取り込まれるかを検証した。更に、 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ とグルタミン酸を加えた人工飼料にリノレン酸を添加した場合と無添加の場合で、摂食した人工飼料と排泄された糞を C/N アナライザーを用いて調べ、両者の実験でハスモンヨトウ幼虫における窒素の蓄積効率を比較した。

4. 研究成果

ハスモンヨトウにおける ^{14}C -ラベル体グルタミン、グルタミン酸そしてリノレン酸の摂食実験や分析実験を通して、腸管組織内のグルタミンが **FACs** の主要な供給源であることを見出した。更に、**FACs** の 20% は、グルタミン酸と遊離のアンモニウムイオンからグルタミンシンターゼ (**GS**) により生合成されたグルタミンで構成されていた。また、**FACs** が **GS** に与える影響を調べるために、 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ とグルタミン酸を加えた人工飼料にリノレン酸を添加した場合と無添加の場合で、ハスモンヨトウ幼虫における窒素の蓄積効率を調べたところ、リノレン酸を添加した場合には無添加の場合と比べて、窒素蓄積効率が 40% から 60% に改善された。腸管内腔では、生合成された **FACs** は脂肪酸とグルタミンに分解され、その後血中に吸収される。これらの結果ら、鱗翅目幼虫において **FACs** は窒素成分の蓄積における積極的な役割を担っており、腸管内腔中のグルタミンのリザーバーとして機能していると示唆された。

本研究は、植物に抵抗反応を誘導する昆虫由来エリシター **volicitin** 類の昆虫にとっての生理的な役割を初めて解明する報告となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

Aboshi T, Yoshinaga N, Nishida R, Mori N. Phospholipid biosynthesis in the gut of *Spodoptera litura* larvae and effects of tannic acid ingestion. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 40, 325-330 (2010)

Yoshinaga N, Alborn HT, Nakanishi T, Suckling DM, Nishida R, Tumlinson JH, Mori N. Fatty acid-amino acid conjugates diversification in lepidopteran caterpillars. *J. Chem. Ecol.* 36, 319-325 (2010)

Ishikawa C, Yoshinaga N, Aboshi T, Nishida R, Mori N. Efficient incorporation of free oxygen into volicitin in common cutworm *Spodoptera litura* larvae. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73, 1883-1885 (2009)

Sasai H, Ishida M, Murakami K, Tadokoro N, Ishihara A, Nishida R, Mori N. Species specific glucosylation of DIMBOA in larvae of the rice armyworm. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73, 1333-1338 (2009)

Yoshinaga N, Aboshi T, Abe H, Nishida R, Alborn HT, Tumlinson JH, Mori N. Active role of fatty acid amino acid conjugates in nitrogen metabolism in *Spodoptera litura* larvae. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 18058-18063 (2008)

Sasai T, Hirano Y, Maeda S, Matsunaga I, Otsuka A, Morita D, Nishida R, Nakayama H, Kuwahara Y, Sugita M, Mori N. Induction of allergic contact dermatitis by astigmatid mite-derived monoterpene, α -acaridial. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 375, 336-340 (2008)

Noge K, Kato M, Mori N., Kataoka M, Tanaka C, Yamasue Y, Nishida R, Kuwahara Y. Geraniol dehydrogenase, the key enzyme in biosynthesis of the alarm pheromone, from the astigmatid mite *Carpoglyphus lactis* (Acari: Carpoglyphidae). *FEBS J.* 275, 2807-2817 (2008)

[学会発表] (計 24 件)

森直樹、吉田哲也、阿部弘明、杉岡弘基、網

- 千貴子、吉永直子、福井昌夫 植物に抵抗性を誘導する脂肪酸-グルタミン酸縮合物の生合成、第54回日本応用動物昆虫学会年次大会、2010年3月26-28日、千葉 千葉大学西千葉キャンパス
- 森直樹、吉永直子 昆虫由来エリシター volicitin を巡る防御と適応の化学生態学、日本農芸化学会2010年度大会(シンポジウム)、2010年3月28-30日、東京 東京大学駒場キャンパス
- 網干貴子、小野肇、西田律夫、森直樹 カイコ幼虫のリン脂質組成の解析、日本農芸化学会2010年度大会、2010年3月28-30日、東京 東京大学駒場キャンパス
- 吉田哲也、杉岡弘基、阿部弘明、網干貴子、吉永直子、福井昌夫、小野肇、西田律夫、森直樹 キイロショウジョウバエにおける脂肪酸-アミノ酸縮合物の同定、日本農芸化学会2010年度大会、2010年3月28-30日、東京 東京大学駒場キャンパス
- 網干貴子、小野肇、西田律夫、森直樹 カイコ幼虫各組織のリン脂質組成の解析、日本農芸化学会2009年度大会、2009年3月28-29日、福岡 マリンメッセ福岡
- 杉岡弘基、阿部弘明、吉永直子、網干貴子、石川千裕、福井昌夫、竹田真木生、小野肇、西田律夫、森直樹 Gryllus 属コオロギにおける脂肪酸-アミノ酸縮合物(FACs)の同定、日本農芸化学会2009年度大会、2009年3月28-29日、福岡 マリンメッセ福岡
- 吉永直子、網干貴子、阿部弘明、西田律夫、Alborn Hans T、Tumlinson James H、森直樹 鱗翅目幼虫唾液成分 volicitin 類(FACs)の生理機能および多様性、日本農芸化学会2009年度大会、2009年3月28-29日、福岡 マリンメッセ福岡
- Aboshi T, Nishida R, Mori N Analysis of phospholipids molecular species in the silkworm (*Bombyx mori*) by LCMS-IT-TOF, 2009 Annual Meeting of International Society of Chemical Ecology, August 23-26 2009, University of Neuchâtel, Neuchâtel, Switzerland
- Yoshinaga N, Ishikawa C, Bosak E, Mori N, Tumlinson JH Chemical structure and elicitor activities of fatty acid amino acid conjugates: The strategies between herbivore and plants, 2009 Annual Meeting of International Society of Chemical Ecology, August 23-26 2009, University of Neuchâtel, Neuchâtel, Switzerland
- Mori N Function, activity, and evolutionary diversity of fatty acid amino acid conjugates in insects, 2009 Asia Pacific Conference on Chemical Ecology, October 26-30 2009, Hilton Waikiki Prince Kuhio, Honolulu, USA
- Mori N Function, activity, and evolutionary diversity of fatty acid amino acid conjugates in insects, 2009 Annual Meeting of The Entomological Society of America, December 13-16 2009, Indianapolis Convention Center, Indianapolis, USA
- 石川千裕、吉永直子、網干貴子、Lait Cameron、小野肇、西田律夫、Tumlinson Jim、森直樹 新規 volicitin 類縁体の同定とエリシター活性、日本農芸化学会大会、2008年3月26-29日、名古屋 名城大学
- 阿部弘明、吉永直子、網干貴子、石川千裕、福井昌夫、小野肇、西田律夫、森直樹 タイワンエンマコオロギにおける N-linolenoyl-L-glutamic acid の同定と生合成経路の解明、日本農芸化学会、2008年3月26-29日、名古屋 名城大学
- 網干貴子、吉永直子、小野肇、西田律夫、森直樹 ハスモンヨトウにおけるリン脂質代謝の解析、日本農芸化学会、2008年3月26-29日、名古屋 名城大学
- 平野裕之介、前田清香、松永 勇、大塚篤司、森田大輔、西田律夫、中山秀夫、桑原保正、杉田昌彦、森直樹 新規ダニアレルゲン α -acaridial によるマウス皮膚炎モデルの確立、日本農芸化学会、2008年3月26-29日、名古屋 名城大学
- 網干貴子、森直樹 ハスモンヨトウ幼虫腸内のリゾホスファチジルコリン生合成経路の解明、第20回日本環境動物昆虫学会年次大会、2008年11月16-17日、京都 京都大学百周年時計台記念館
- Yoshinaga N, Ishikawa C, Nishida R, Lait CG, Tumlinson JH, Mori N Structure, function, and elicitor activity of fatty acid amides (FAAs) in Lepidopteran caterpillars, Entomological Society of America Annual Meeting, December 9-12, 2008 The Town and Country Resort and Convention Center, San Diego, California, USA
- Yoshinaga N, Sawada Y, Nishida R, Mori N Importance of glutamine moiety in volicitin, The 23rd Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology, July 22-26, 2008, Friedrich Schiller University, Jena, Germany
- Yoshinaga N, Nishida R, Mori N Volicitin biosynthesis and nitrogen metabolism in *Spodoptera litura* larvae, The 4th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology, September 10-14, 2008, Tsukuba International Congress Center, Tsukuba, Japan
- Yoshinaga N, Abe H, Fukui M, Nishida R,

Alborn HT, Lait CG, Tumlinson JH, Mori N Increased universality of lepidopteran elicitor compounds across insects: Identification of fatty acid amino acid conjugates, The 25 International Society of Chemical Ecology Annual Meeting, August 17-22 2008, Pennsylvania State University

Yoshinaga N, Nishida R, Alborn HT, Tumlinson JH, Mori N Function and evolutionary diversity of fatty acid amino acid conjugates in lepidopteran caterpillars, The 25 International Society of Chemical Ecology Annual Meeting, August 17-22 2008, Pennsylvania State University

Aboshi T, Yoshinaga N, Nishida R, Mori N Phospholipid biosyntheses in *Spodoptera litura* gut tissues, The 25 International Society of Chemical Ecology Annual Meeting, August 17-22 2008, Pennsylvania State University

Ishikawa C, Yoshinaga N, Aboshi T, Lait CG, Ono H, Nishida R, Tumlinson JH, Mori N Identification of novel volicitin-related compounds from *Manduca sexta* and their elicitor activity, The 25 International Society of Chemical Ecology Annual Meeting, August 17-22, 2008, Pennsylvania State University

Sasai T, Hirano Y, Maeda S, Matsunaga I, Otsuka A, Morita D, Nishida R, Nakayama H, Kuwahara Y, Sugita M, Mori N Induction of allergic contact dermatitis by astigmatid mite-derived monoterpene, α -acaridial, 2008 日韓合同ダニ学会議、2008年10月9-11日、慶州市 韓国

[図書] (計3件)

森直樹、吉永直子、網干貴子：昆虫・植物間の攻防と植物免疫システムの“界面”、昆虫が拓く未来科学(藤崎憲治、西田律夫、佐久間正幸 編)、pp. 165-189、京都大学学術出版会(2009)

森直樹、桑原保正：ダニのアルカロイドとヤドクガエル、昆虫が拓く未来科学(藤崎憲治、西田律夫、佐久間正幸 編)、pp. 248-251、京都大学学術出版会(2009)

森直樹、桑原保正：ダニアレルギー最前線、昆虫が拓く未来科学(藤崎憲治、西田律夫、佐久間正幸 編)、pp. 468-471、京都大学学術出版会(2009)

[その他]

ホームページ等

<http://www.chemeco.kais.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森 直樹 (MORI NAOKI)

京都大学大学院農学研究科・准教授

研究者番号：30293913