

機関番号：12601

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・教授

研究者番号：60125987

研究成果の概要（和文）：ガ類の性フェロモン交信系は高度に発達しているが、種分化に伴う交信系の進化の過程では、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協調して起こる必要がある。アワノメイガ類を用いて、この協調進化のメカニズムについて研究した。メス側では、性フェロモン生合成に関与する酵素の遺伝子のクローニングと機能解析を進めた。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った。

研究成果の概要（英文）：The sex pheromone communication systems in moths is highly developed. The sex pheromone production system in females and sex pheromone detection systems in males should have evolved in coordination in association with the speciation. We attempted to elucidate the mechanism that underlies the coordinated evolution by using moth species belonging to the genus *Ostrinia*. We cloned genes involved in the biosynthesis of sex pheromone components in females and genes encoding sex pheromone receptors in males.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	13,300,000	3,990,000	17,290,000
2008年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
2009年度	7,200,000	2,160,000	9,360,000
2010年度	7,400,000	2,220,000	9,620,000
年度	0	0	0
総計	34,700,000	10,410,000	45,110,000

研究分野：応用昆虫学

科研費の分科・細目：農学・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. 研究開始当初の背景

日本にはトウモロコシの重要害虫アワノメイガ *Ostrinia furnacalis* を代表とする9種のアワノメイガ類 (*Ostrinia* spp.) が生息している(図1)。図1に示したように日本産 *Ostrinia* 9種のうち6種は専門家でも識別が難しいほど酷似しているが、種ごとに寄主選好性は大きく異なっている。*Ostrinia* は、同一の祖先からどのような過程を経

てこのように多様な種が形成されてくるのかを知る上で格好の研究材料であるが、応用昆虫学上も「ただの蛾」が寄主植物の転換により「害虫」化する過程を理解する上で貴重な研究材料となっている。

きわめて近縁な *Ostrinia* 属種間の生殖隔離に最も大きく貢献しているのは、性フェロモンによ

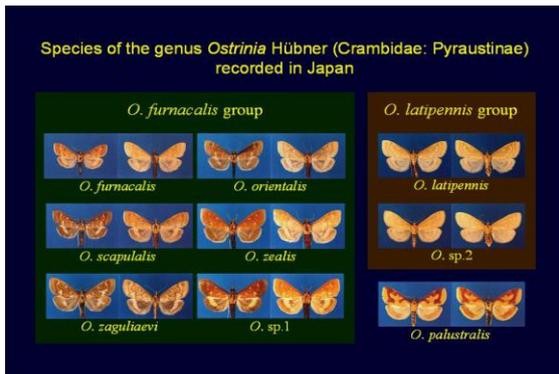


図1. 日本産アワノメイガ8種と未記載種1

る雌雄間交信(コミュニケーション)である. 研究代表者らによる10年以上に渡る研究の結果, すべての種の性フェロモンが解明された(表1).

表1. 日本産アワノメイガ類の性フェロモン組成

Sex pheromone components in <i>Ostrinia</i> species	14:OAc					E11-14:OH
	Z9-	E11-	Z11-	E12-	Z12-	
<i>O. latipennis</i>						●
<i>O. ovalipennis</i>		●				●
<i>O. palustralis</i>		●	●			
<i>O. furnacalis</i>				●	●	
<i>O. orientalis</i>		●				
<i>O. scapularis</i> E		●				
<i>O. scapularis</i> Z			●			
<i>O. nubilalis</i> E		●				
<i>O. nubilalis</i> Z			●			
<i>O. zealis</i>	●	●	●			
<i>O. zaguliaevi</i>	●	●	●			

黒丸の大小は, おおまかな組成比を示す.

*Ostrinia* においても, 共通の祖先型フェロモン交信系から現在みられる多様なフェロモン交信系が進化してきたと推定されるが, そのダイナミクスはわかっていない. 性フェロモン交信系が進化するためには, 情報の発信側と受信側の進化が協調して起きなければならないが, 発信を制御している遺伝子と受信を制御している遺伝子は別個であり, 一般に連関もしていないからである(図2).

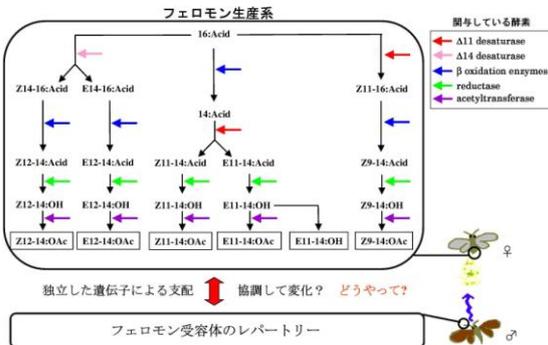


図2 メス側の性フェロモン生産系とオス側の性フェロモン受容系は協調して進化しているはずである

## 2. 研究の目的

本研究の目的は, 日本産のアワノメイガ類9種を研究材料として, 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.

## 3. 研究の方法

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  $\Delta 11$  不飽和化酵素 ( $\Delta 11$ -desaturase), 脂肪酸  $\Delta 14$  不飽和化酵素 ( $\Delta 14$ -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(図2).

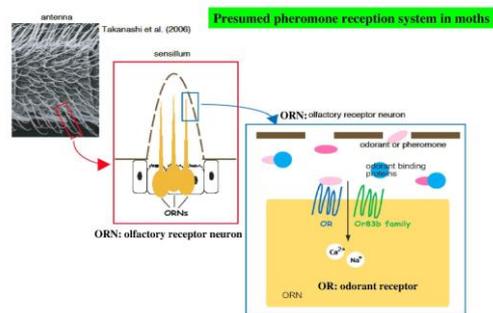


図3 オスの触角の走査型電子顕微鏡による拡大図と1本の感覚子(毛)の模式図. フェロモンの受容が模式的に現されている.

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(図3)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検証を行った. これらの研究をまず, アズキノメイガ *O. 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た.

## 4. 研究成果

(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.

①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.

②アワノメイガ(性フェロモンは Z/E12- 14:OAc)とアズキノメイガ(Z/E11- 14:OAc)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:OAcの合成には不飽和化酵素  $\Delta 11$ -desaturase が, Z/E12-14:OAcの合成には  $\Delta$

14-desaturase が関与している。アズキノメイガでは  $\Delta$ 14-desaturase 遺伝子の転写が、アワノメイガでは  $\Delta$ 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:OAc と Z/E12-14:OAc 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:OAc の受容体 (odorant receptor, OR) をコードする遺伝子の候補をオスの触角からクローニングした。この遺伝子を *Osc*aOR1 と命名した。さらに、フェロモン受容体の機能発現に補助的役割を果たすとされるショウジョウバエの *Or83b* 遺伝子に相同な *Osc*aOR2 のクローニングにも成功し、アフリカツメガエルの卵細胞を用いた機能解析を行った。その結果、意外にも *Osc*aOR1/*Osc*aOR2 は E11-14:OH に特異的に反応した(図4)。

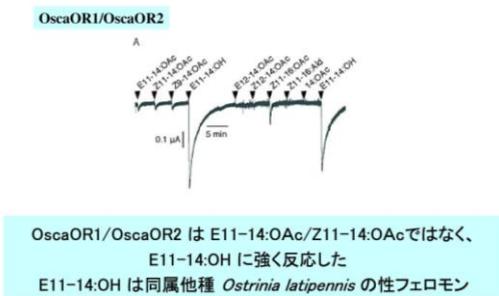


図4 *Osc*aOR1/*Osc*aOR2 の各種フェロモン成分に対する反応

続いて *Osc*aOR1、*Osc*aOR2に加えて、6種類の嗅覚受容体遺伝子候補 (*Osc*aOR3~8) をアズキノメイガから単離した。*Osc*aOR3~8 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(図5)。

*Osc*aOR3 は Z/E11-14:OAc に反応を示すだけでなく、同属種のフェロモン成分である Z9-, E12-, Z12-14:OAcにも反応を示した。*Osc*aOR4 も複数成分に反応を示したが、特に E11-14:OAc に対する反応性が高かった。*Osc*aOR5 はいくつかのフェロモン成分に弱い反応を示したが、*Osc*aOR6~8 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(図6)。

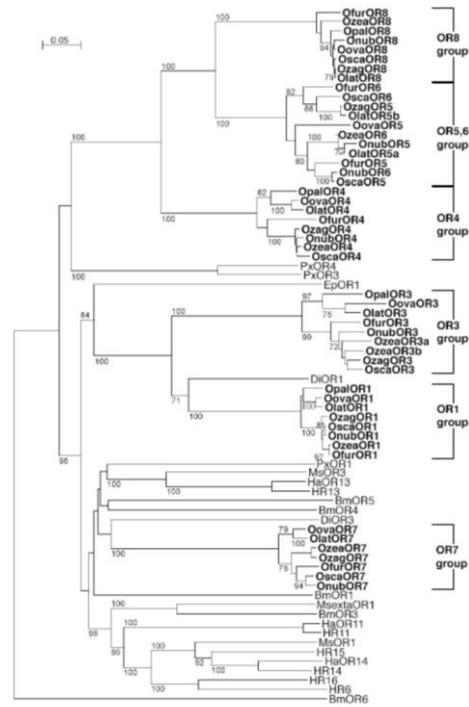


図5 アワノメイガ類では、種分化後もフェロモン受容体 *Osc*aOR1~8 の遺伝子がよく保存されていた。

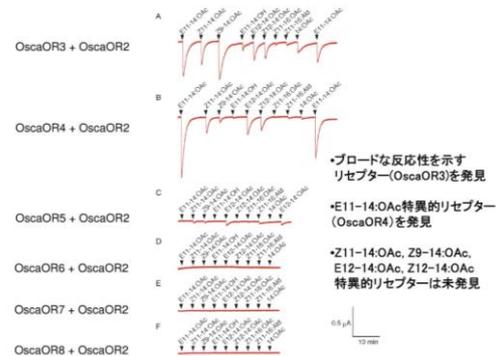
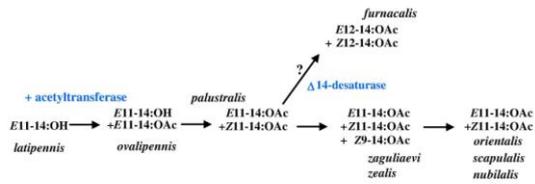


図6 反応特異性が異なる少数のリセプターで多種類のフェロモン化合物の受容をカバーしていることが推察された。

### 総括

本研究で得られた知見をもとに、アワノメイガ類で起こったと考えられる、E11-14:OH の利用に関するフェロモン交信系の進化について次の2つのシナリオを提示した(図7)。  
**シナリオ1.** E11-14:OH はほとんどの種で性フェロモン成分として使われなくなったが、種分化が起きてから十分な時間が経過していないため現在でも機能保存されている  
**シナリオ2.** E11-14:OH は未知の機能をもっている

ORI獲得の起源から推測したフェロモン交信系の進化



すべてのアワノメイガ類でE11-14:OHの受容体ORIが保存されている理由

仮説1. E11-14:OHはほとんどの種でフェロモン成分として使われなくなったが、種分化が起きてから十分な時間が経過していないため現在でも機能保存されている

仮説2. E11-14:OHは未知の機能をもっている

図7 アワノメイガ類で起こったと考えられるフェロモン交信系の進化のシナリオ

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 13 件)

- ① Fujii T., T. Fujii, S. Namiki, H. Abe, T. Sakurai, A. Ohnuma, R. Kanzaki, S. Katsuma, Y. Ishikawa and T. Shimada (2011) Sex-linked transcription factor involved in a shift of sex pheromone preference in the silkworm, *Bombyx mori*. PNAS 108: 18038-18043. 査読有
- ② Yasukochi, Y., N. Miura, R. Nakano, K. Sahara and Y. Ishikawa (2011) Sex-linked pheromone receptor genes of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, are in tandem arrays. PLoS ONE 6(4): e18843. 査読有
- ③ Fujii, T., K. Ito, M. Tatematsu, T. Shimada, S. Katsuma and Y. Ishikawa (2011) Sex pheromone desaturase functioning in a primitive *Ostrinia* moth is cryptically conserved in congeners' genomes. PNAS 108: 7102-7106. 査読有
- ④ Tabata J. and Y. Ishikawa (2011) Genetic basis regulating the sex pheromone blend in *Ostrinia zealis* (Lepidoptera: Crambidae) and its allies inferred from crossing experiments. Annal. Entomol. Soc. Amer. 104: 326-336. 査読有
- ⑤ Yasukochi Y., M. Tanaka-Okuyama, M. Kamimura, R. Nakano, Y. Naito, Y. Ishikawa and K. Sahara (2011) Isolation of BAC clones containing conserved genes from libraries of three distantly related moths: a useful resource for comparative genomics of Lepidoptera. J. Biomed. Biotech. 2011: Article ID 165894. 査読有
- ⑥ Qian, S., T. Fujii, K. Ito, R. Nakano and Y. Ishikawa (2011) Cloning and functional characterization of a fatty acid transport protein (FATP) from the pheromone gland of a lichen moth, *Eilema japonica*, which secretes an alkenyl sex pheromone. Insect Biochem. Mol. Biol. 41: 22-28. 査読有
- ⑦ 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
- ⑧ 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 scapularis* (Lepidoptera: Crambidae). Insect Biochem. Mol. Biol. 40: 74-78. 査読有
- ⑨ Fujii, T., R. Nakano, Y. Takubo, S. Qian, R. Yamakawa, T. Ando and Y. Ishikawa (2010) Female sex pheromone of a lichen moth *Eilema japonica* (Arctiidae, Lithosiinae): components and control of production. J. Insect Physiol. 56: 1986-1991. 査読有
- ⑩ 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
- ⑪ 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 scapularis* (Lepidoptera: Crambidae). Insect Biochem. Mol. Biol. 39: 90-95. 査読有
- ⑫ 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
- ⑬ 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

[学会発表] (計5件)

- ① 安河内祐二・三浦奈美・石川幸男・佐原健  
(2010)ヨーロッパアワノメイガの触角でオス特異的に発現する嗅覚受容体遺伝子の重複. 日本蚕糸学会第80回大会(信州大学繊維学部)講演番号104
- ② 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
- ③ 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 scapularis* 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
- ④ 坂井亮太・福澤麻衣・中野亮・田付貞洋・石川幸男 (2009) 種特異的な性フェロモン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
- ⑤ 三浦奈美・中川龍郎・田付貞洋・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

## 6. 研究組織

### (1) 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・教授  
研究者番号：60125987

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：