

## 審査の結果の要旨

氏名 上川内 あづさ

様々な動物種において、匂いは外界の環境を認知する重要な感覚情報であり、動物個体に様々な反応を引き起こす。中でもフェロモンは、同種個体に特定の本能行動を惹起する点で特徴的である。社会性昆虫であるミツバチ *Apis mellifera* L. は社会性昆虫であり、多様なフェロモンを発達させることによりコロニー内外の環境変化に柔軟に対応している。ミツバチは、雌が女王蜂と働き蜂にカースト分化しており、雄と合わせて3種類の成虫からなるコロニーを形成する。幼虫の世話や天敵への攻撃は働き蜂に固有な本能行動であり、それぞれ固有なフェロモンにより惹起される。こうしたフェロモンを介した行動調節は、動物社会の成立に重要であるが、なぜ一部の個体だけが特定のフェロモンに対する応答性を示すのか、その分子機構は不明である。上川内あづさは、これらの個体にはそれぞれ固有な嗅覚情報処理機構が存在するのではないかと考え、この仮説を検証する目的で、ミツバチの触角で性選択的、カースト選択的に発現する分子群の検索と同定を行っている。本論文は大きく2つの章から成立している。

### 1. 触角において性選択的に発現する分子群の同定

最初に触角において性選択的に発現する分子群を同定するため、働き蜂と雄蜂の触角から粗抽出液を調製し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により、両者のバンドパターンを比較した。その結果、雄蜂の触角特異的に発現するタンパク質を3種類 [D-AP1 (60kDa)、D-AP2 (15kDa)、D-AP3 (13kDa)] 同定し、これらのN末端アミノ酸配列を決定し、次いでcDNAを単離した。その結果、D-AP1はショウジョウバエのカルボキシエステラーゼ6と33%、D-AP2とD-AP3は、タバコスズメガの細胞質レチノイン酸結合タンパク質とそれぞれ、58%、32%の相同性を示し、これらの分子のミツバチホモログであると考えられた。D-AP1はN末端側にシグナル配列をもつことから、分泌タンパク質として機能すると推測された。RT-PCR法の結果、D-AP1遺伝子は雄蜂と働き蜂では雄蜂特異的、雄蜂の体では触角特異的に発現することが判明した。実際、触角粗抽出液中のエステラーゼの比活性を測定したところ、雄蜂で有意に高いことが示された。昆虫の触角で、性選択的に発現するエステラーゼや細胞質レチノイン酸結合タンパク質のcDNAが単離されたのは、これが初めての例である。

### 2. 触角においてカースト選択的に発現する分子群の同定

次いで、カースト間（女王蜂と働き蜂）で、触角における発現に差がある分子群をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により検索した。その結果、働き蜂に選択的に発現するタンパク質 (W-AP1) を同定し、N末端配列を決定し、そのcDNAを単離した。相同性検索の結果、W-AP1はイナゴの触角のChemosensory proteinと44%の相同性を示し、この分子の

ミツバチホモログであると考えられた。このタンパク質もN末端側にシグナル配列をもち、分泌タンパク質であると考えられた。W-APIの発現調節は、他の分子群とは異なり、転写後段階で起きることが示唆された。

さらに、カースト間で触角での発現が異なる分子を同定する目的で、differential display法が用いられた。その結果、女王蜂の触角に選択的に発現する遺伝子としてC6遺伝子、働き蜂の触角に選択的に発現する遺伝子としてC14遺伝子を同定した。C6遺伝子がコードするタンパク質は、ショウジョウバエのPeritrophin Aと67%の相同性を示し、そのミツバチホモログと考えられた。一方、C14遺伝子がコードするタンパク質はN末端側にシグナル配列を有しており、ショウジョウバエ頭部由来、タバコスズメガ触角由来の機能未知のタンパク質とそれぞれ43%の相同性を示したことから、昆虫種を越えて保存された新規な分泌タンパク質と考えられる。C14遺伝子はミツバチの触角と肢で高発現していたが、昆虫では味覚受容器が肢にも存在することから、C14遺伝子産物は働き蜂選択的な化学受容一般に関わる可能性が考えられる。

本研究は、ミツバチの触角で性やカースト選択的に発現する遺伝子を同定した最初の例である。昆虫の嗅覚受容においては、匂い分子は感覚子表面の嗅孔から触角内部に入り、感覚子液中を移動して匂い受容体に結合する。W-API (Chemosensory protein) やD-API (分泌性カルボキシエステラーゼ)、C14遺伝子産物(新規な分泌タンパク質)は感覚子液中に分泌され、匂い分子の運搬、修飾、分解などに関与する可能性がある。実際、働き蜂に作用する警戒フェロモンや幼虫フェロモンは、カルボン酸エステル化合物であり、雄蜂ではDAP-1により分解される可能性がある。今回同定された分泌タンパク質群は、このように匂い分子が受容体に到達する以前の段階で作用し、匂い情報受容に関する性選択性やカースト選択性を与える可能性がある。

以上本研究は、同種の動物間の差別的な嗅覚処理機構の新しい分子機構を提案した点で、神経生理学や動物生理学の分野に寄与するところが大きく、博士(薬学)の学位に相応しいものと判断した。