

論文の内容の要旨

生産・環境生物学 専攻
平成19年度博士課程 入学
氏名 坂井 亮太
指導教員名 石川 幸男

論文題目 アワノメイガ類におけるオスおよびメス性フェロモンの生合成系に関する研究
—脂肪酸不飽和化酵素の比較を中心に—

ガ類のメスは配偶行動の際に、腹部末端に存在するフェロモン腺から性フェロモンを放出し、オスを誘引する。誘引されたオスはメスの近傍に定位し、近距離における雌雄間交信を行った後、交尾に至る。ガ類の性フェロモンは、炭素鎖数が10から18の直鎖状の脂肪族化合物で、1から数個の二重結合が導入されており、アルコールやアセテート、アルデヒドなどの官能基を有している。また、ガ類が配偶行動の際に行う雌雄間交信としては、音響交信やオス性フェロモンの放出などが知られている。

アワノメイガ属は北半球に広く分布するガの仲間で、日本国内では8種が確認されている。アワノメイガ類の性フェロモンは、炭素鎖数が14で1つの二重結合が導入されたアセテート、又はアルコールを利用している。アワノメイガ類の性フェロモン成分として、E11-、Z11-テトラデセニルアセテート(E/Z11-14:OAc)、E12-、Z12-テトラデセニルアセテート(E/Z12-14:OAc)、Z9-テトラデセニルアセテート(Z9-14OAc)、E11-テトラデセノール(E11-14:OH)が同定されている。アワノメイガ類では、これらの成分を種特有の成分組成で利用することで、同種のオスを特異的に誘引している。アワノメイガ類の性フェロモンは、体内に普遍的に存在する脂肪酸が誘導・修飾を経て生合成される。生合成の各反応として β

酸化による炭素鎖の短縮、不飽和化酵素による炭素鎖への二重結合の導入、還元反応、アセチル基の転移が知られている。性フェロモンの種特異性は、性フェロモン生合成に利用される脂肪酸不飽和化酵素の違いや、 β 酸化、還元反応における反応性の差異など、特定の少数の段階に依存している。

アワノメイガ類の配偶行動では、メスの性フェロモンに誘引されたオスが、メスの近傍でオス性フェロモンの放出を行っている。アワノメイガ属のオス性フェロモンは、多くのガと同様にヘアペンシルと呼ばれる、オスの交尾器周辺に存在する毛状の器官から分泌される。ガ類のオス性フェロモンには、催淫作用やメスの誘引など配偶行動において重要な役割を担っていると考えられるが、アワノメイガ類における研究は限られている。

本研究では、アワノメイガ類におけるオスおよびメス性フェロモン生合成系の分化の過程を明らかにすることを目指して、生合成酵素である脂肪酸不飽和化酵素に着目した比較解析を行った。

1. アワノメイガ類における種特異的な性フェロモン生合成

アワノメイガ属の一種アズキノメイガは、性フェロモンとして **E/Z11-14:OAc** を、アワノメイガは **E/Z12-14:OAc** を利用している。2種の性フェロモン成分の違いは、生合成に関する脂肪酸不飽和化酵素が、アズキノメイガでは $\Delta 11$ 位不飽和化酵素、アワノメイガでは $\Delta 14$ 位不飽和化酵素と異なるために引き起こされている。しかし、2種のフェロモン腺では性フェロモン生合成に必要なもにかかわらず、 $\Delta 11$ 位および $\Delta 14$ 位不飽和化酵素、両脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の転写産物が確認されている。

2種において、性フェロモン前駆体の分析を行ったところ、**E/Z11-14:OAc**の前駆体である**E/Z11-14:Acyl**はアズキノメイガにおいてのみ検出された。一方、**E12-14:OAc**の前駆体である、**E/Z12-14:Acyl**と**E/Z14-16:Acyl**はアワノメイガにおいてのみ検出された。2種では、 $\Delta 11$ 位不飽和化酵素、 $\Delta 14$ 位不飽和化酵素ともに転写されているが、アズキノメイガでは $\Delta 14$ 位不飽和化酵素は活性を示しておらず、アワノメイガにおいても $\Delta 11$ 位不飽和化酵素が活性を示していないことが明らかになった。2種において、脂肪酸不飽和化酵素の発現をmRNAおよびタンパク質レベルで比較した。その結果、2種における性フェロモン成分の違いは、脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の転写量の違いにより引き起こされていることが示された。アズキノメイガとアワノメイガでは、性フェロモン生合成に不必要な脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の転写を抑制することで、種特異的な性フェロモン生合成を可能にしていると考えられた。

2. アワノメイガ類の脂肪酸不飽和化酵素

国内に生息するアワノメイガ属のうち、アズキノメイガ、アワノメイガ、フキノメイガ、ユウグモノメイガ、ウスジロキノメイガより $\Delta 11$ 位不飽和化酵素および $\Delta 14$ 位不飽和化酵素をクローニングし解析した。性フェロモン成分は、種間で異なっているが、脂肪酸不飽

和化酵素は、全ての種で 90%以上の相同性を有していた。

$\Delta 11$ 位不飽和化酵素の転写解析および、性フェロモン前駆体分析を行い、性フェロモンとの比較を行った。 $\Delta 11$ 位不飽和化酵素は、ヨーロッパアワノメイガにおいて機能解析が行われており、ミリスチン酸(14:Acyl)を E/Z11-14:Acyl に変換するという機能が明らかになっている。 $\Delta 11$ 位不飽和化酵素の解析を行ったところ、ヨーロッパアワノメイガの $\Delta 11$ 位不飽和化酵素と活性が同様であるが配列が異なるユウグモノメイガの $\Delta 11$ 位不飽和化酵素と、反応性が異なり E11-14:Acyl だけを生産するウスジロキノメイガの $\Delta 11$ 位不飽和化酵素が存在することが示された。アワノメイガ属では、ゲノム解析により多数の $\Delta 11$ 位不飽和化酵素遺伝子が存在することが明らかになっているが、共通した遺伝子を保持していながら、発現する遺伝子の違いにより、性フェロモンの多様性が生み出されていることが明らかになった。

$\Delta 14$ 位不飽和化酵素では、種間で変異も少なく、転写にも差異は認められなかった。 $\Delta 14$ 位不飽和化酵素は、アワノメイガでのみメス性フェロモンの生合成に利用されていたことから、性フェロモン生合成系が分化する過程で獲得したと考えられていた。しかし、分化する以前からアワノメイガ類では $\Delta 14$ 位不飽和化酵素を保持していたことが示された。また、オスの腹部末端において転写解析を行ったところ、全ての種において転写が確認された。近縁種であるヨーロッパアワノメイガでは、 $\Delta 14$ 位不飽和化酵素のオス性フェロモン生合成への関与が示されており、アワノメイガ類では幅広い種においてオス性フェロモンの生合成に利用されている可能性が示された。

3. アワノメイガ類のオス性フェロモン

アワノメイガ属では、ヨーロッパアワノメイガとアワノメイガにおいてオス性フェロモンの存在が示されている。ヨーロッパアワノメイガの解析から、オス性フェロモンは交尾の成否に深く関わっていることが示されている。ヨーロッパアワノメイガの利用するオス性フェロモンは、ヘキサデカニルアセテート(16:OAc)、Z9-ヘキサデセニルアセテート(Z9-16:OAc)、Z11-ヘキサデセニルアセテート(Z11-16:OAc)、Z11-ヘキサデセニルアセテート(Z14-16:OAc)であり、アワノメイガでは 16:OAc、Z9-16:OAc を利用していた。

国内に生息するアワノメイガ類のオス性フェロモンを分析したところ、16:OAc、Z9-16:OAc を放出するアワノメイガと、16:OAc、Z9-16:OAc および Z14-16:OAc が含まれるウスジロキノメイガ、ユウグモノメイガ、アズキノメイガ E タイプ、フキノメイガ、そして 16:OAc、Z9-16:OAc、Z11-16:OAc、Z14-16:OAc のアズキノメイガ Z タイプが存在した。オス性フェロモンも、メス性フェロモンと同様に種間において成分および混合比が異なっていた。

化学構造から推定される生合成経路では、パルミチン酸(16:Acyl)が脂肪酸不飽和化酵素による二重結合の導入、還元反応、アセチル基の転移という、メス性フェロモンと共通する生合成系を経て合成されると考えられた。そこでオスの腹部末端における脂肪酸不飽和

化酵素の解析を行ったところ、 $\Delta 14$ 位不飽和化酵素、 $\Delta 11$ 位不飽和化酵素といったメス性フェロモンと同一の酵素の関与が示唆された。この結果により、アワノメイガ類において、 $\Delta 11$ 位不飽和化酵素、 $\Delta 14$ 位不飽和化酵素というメス性フェロモンの生合成に利用される酵素が、利用されていない種においても高度に保存されている理由が、オス性フェロモンの生合成に利用されているためであることが判明した。

また、アワノメイガ類では多様な成分組成のオス性フェロモンを有していることが明らかになり、メスの性フェロモンと同様に配偶行動時における種認識に貢献することで、メス性フェロモンとともに生殖隔離をより強固なものにしていると考えられた。

本研究では、 $\Delta 11$ 位不飽和化酵素および $\Delta 14$ 位不飽和化酵素に着目してオスおよびメス性フェロモンの解析を行った。メス性フェロモンの生合成に利用されていると考えられていた 2 つの脂肪酸不飽和化酵素は、アワノメイガ類では、幅広い種においてオス性フェロモンの生合成にも利用されていることが明らかになった。オスおよびメス性フェロモン生合成系は共通の酵素を利用し、相互に影響しあいながら進化してきたと考えられる。