

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 坂井 亮太

本研究は、トウモロコシの重要害虫であるアワノメイガとその近縁種（以後、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進化の過程を明らかにすることを目的として、性フェロモン生合成系の鍵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ものであり、その要旨は以下の通りである。

1. アワノメイガとアズキノメイガにおける脂肪酸不飽和化酵素の発現調節機構

アワノメイガは (*E*)-12- & (*Z*)-12-テトラデセニルアセテート (*E/Z*12-14:OAc) を、アワノメイガ類の一種アズキノメイガは、(*E*)-11- & (*Z*)-11-テトラデセニルアセテート (*E/Z*11-14:OAc) を性フェロモン成分として利用している。2種の性フェロモンの違いは、生合成に関与する脂肪酸不飽和化酵素が、アワノメイガでは Δ 14不飽和化酵素、アズキノメイガでは Δ 11不飽和化酵素と異なるためであると推定されていたが、2種ともに両酵素の遺伝子を持つことが示されており、この違いが起こるメカニズムはわかっていなかった。アワノメイガとアズキノメイガにおいて、 Δ 11不飽和化酵素と Δ 14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結果、2種における性フェロモン成分の違いは、 Δ 11及び Δ 14不飽和化酵素遺伝子の転写の制御により引き起こされていることが明らかとなった。

2. アワノメイガ類の脂肪酸不飽和化酵素の比較解析

国内に生息するアワノメイガ類のうち、アワノメイガ、アズキノメイガ、フキノメイガ、ユウグモノメイガ、ウスジロキノメイガから Δ 11不飽和化酵素遺伝子および Δ 14不飽和化酵素遺伝子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るにもかかわらず、調査した全ての種が2種類の脂肪酸不飽和化酵素遺伝子を保有しており、全ての種においてそれぞれ90%以上の相同性が認められた。

Δ 11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。ヨーロッパアワノメイガの Δ 11不飽和化酵素は機能解析が行われており、ミリスチン酸(14:Acid)をE11-14:AcidとZ11-14:Acidの混合物に変換することが示されている。日本産アワノメイガ類の Δ 11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 Δ 11不飽和化酵素と同様にE11-14:AcidとZ11-14:Acidの混合物を生成するが、配列は異なる Δ 11不飽和化酵素(ユウグモノメイガ)と、反応性が異なりE11-14:Acylだけを生産する Δ 11不飽和化酵素(ウスジロキノメイガ)の2タイプの酵素の存在が新たに示された。

調査したすべての種が Δ 14不飽和化酵素遺伝子を保有していたが、その転写はメスでは

アワノメイガの性フェロモン腺でのみ認められた。従来、アワノメイガでのみ $\Delta 14$ 不飽和化酵素が性フェロモンの生合成に利用されていることから、この酵素（遺伝子）はアワノメイガが種分化する過程で新規に獲得したものと考えられていたが、アワノメイガ類の共通祖先が既に $\Delta 14$ 不飽和化酵素遺伝子を保有していたと推定される。

3. アワノメイガ類のオス性フェロモン

アワノメイガ類では、ヨーロッパアワノメイガでオス性フェロモンの存在が示されており、この性フェロモンが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成分は、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）である。国内に生息するアワノメイガ類のオス性フェロモンを新規に分析したところ、アワノメイガは16:OAc、Z9-16:OAcの2成分を、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）、フキノメイガは16:OAc、Z9-16:OAcおよびZ14-16:OAcの3成分を、そしてアズキノメイガ（Zタイプ）は16:OAc、Z9-16:OAc、Z11-16:OAc、Z14-16:OAcの4成分を利用していた。メス性フェロモンと同様に、オス性フェロモンも種間において成分および混合比が異なっていた。

オス性フェロモンはその化学構造から、メス性フェロモンと同様の生合成系を経て合成されると推定された。すなわち、パルミチン酸（16:Acid）が脂肪酸不飽和化酵素による二重結合の導入を受け、そののち還元反応およびアセチル基の転移反応を受けて合成されると考えられる。そこで、オスの性フェロモン生産部位（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、メス性フェロモンの合成に関与しているものと同じの $\Delta 14$ 不飽和化酵素と $\Delta 11$ 不飽和化酵素の関与が示された。また、オスにおける両酵素の遺伝子転写解析を行ったところ、全ての種の腹部末端で転写が確認された。

これまでメス性フェロモンの生合成にのみ利用されていたと考えられていた2種類の脂肪酸不飽和化酵素は、アワノメイガ類では、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。この結果により、 $\Delta 11$ 不飽和化酵素、 $\Delta 14$ 不飽和化酵素という2種類の酵素が両方とも、メス性フェロモンの生合成への関与の有無にかかわらず、全てのアワノメイガ類で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示唆された。また、アワノメイガ類は多様な成分組成をもつ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。

以上、本研究はアワノメイガ類の性フェロモンの生合成系を $\Delta 11$ 不飽和化酵素および $\Delta 14$ 不飽和化酵素に着目して詳細に調査・解析し、ガ類の性フェロモン交信系の進化の一端を明らかにしたものであり、学術上、応用上価値が高い。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。