

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 錢 曙光

ガ類の性フェロモンは、その末端に官能基をもつグループ (Type I) と末端に官能基の無いグループ (Type II) に大別される。Type Iの性フェロモンは体内に普遍的な飽和脂肪酸がフェロモン腺において炭素鎖の短縮、不飽和化、還元などの酵素反応を受けることにより合成される。他方、Type IIの性フェロモンは、腹部のエノサイトでフェロモンの前駆体炭化水素が生合成され、体液中のリポフォリンを介してフェロモン腺へ運ばれ、そこでエポキシ化等の最終的な化学的修飾が施されることが示されている。

ガ類の性フェロモン腺細胞内には微小な油滴がしばしば観察される。カイコガのフェロモン腺中の油滴には、性フェロモンの前駆体が結合したトリアシルグリセロールが豊富に含まれている。最近、カイコガの性フェロモン腺から脂肪酸膜輸送タンパク質 (Fatty acid transport protein, FATP) が単離され、BmFATPと名づけられた。BmFATPは細胞外遊離脂肪酸のフェロモン腺細胞内への取り込みを通して、性フェロモンの生産に寄与していると考えられている。本研究は、Type Iの性フェロモンを利用するアズキノメイガ (*Ostrinia scapularis*) とType IIの性フェロモンを利用するキマエホソバ (*Eilema japonica*) を用い、両種の性フェロモン腺における油滴の発見をその端緒として、両種の性フェロモンの生合成をフェロモン腺で高発現しているFATPの機能解析を中心として比較解析したものであり、3章から構成されている。

1. フェロモン腺中の油滴の観察

Type I 性フェロモンを利用するアズキノメイガと Type II 性フェロモンを利用するキマエホソバを用いて、性フェロモン腺における油滴を Nile Red により染色し暗視野顕微鏡下で観察した。アズキノメイガとキマエホソバの両種のフェロモン腺内に少数の油滴を観察することができた。この結果は、性フェロモン腺における油滴の存在の有無は、性フェロモンのタイプ (Type I、Type II) とは必ずしも関係がないことを示していた。前述の通り、Type II の性フェロモンを利用するガ類では、脂肪酸は性フェロモンの直接の原料とはならない。従って、Type II の性フェロモンを利用するキマエホソバのフェロモン腺内の油滴については、その役割に興味もたれた。

2. FATPのクローニング

本章では上記のアズキノメイガ、キマエホソバに加えて、Type II フェロモンを生産するヨモギエダシャク (*Ascotis selenaria*) の性フェロモン腺から FATP のホモログをコードする遺伝子をクローニングし、それらの系統関係や発現パターンを解析した。系統解析の結

果、3種のFATP(それぞれ、OsFATP、EjFATP、AsFATP)はいずれもカイコガのBmFATPと高い相同性を示し(OsFATP 72.6%; EjFATP 77.9%; AsFATP 70.3%)、同一のグループを形成していた。キマエホソバから単離した*Ejfatp*は、定量PCR法による解析の結果、他の組織に比べ性フェロモン腺で高発現していた。また、発現量の時間変動は、蛹期では低く、羽化後に約5倍まで増加した。アズキノメイガ由来の*Osfatp*はフェロモン腺に特異的ではなく、多くの組織で高い発現がみられたが、フェロモン腺における発現量の時間変動はフェロモン分泌の変動と一致した。これらの結果から、EjFATPとOsFATPは性フェロモンの生合成への関与が示唆された。FATPホモログのアミノ酸配列の膜貫通領域を推測した結果、EjFATPとOsFATPには、これまで知られているFATPのすべてで保存されているN末側の膜貫通領域が認められたが、AsFATPには膜貫通領域がなかった。このことから、AsFATPは機能を失っている可能性が考えられた。

3. EjFATPとOsFATPの機能解析

大腸菌過剰発現系を用いて、キマエホソバの性フェロモン腺由来のEjFATPの機能解析を行った。EjFATPが発現した大腸菌は非組換え体と比較してステアリン酸とアラキジン酸を約1.5倍多く取り込む事がわかった。しかし、EjFATPにキマエホソバの性フェロモン(炭化水素)や類似炭化水素を取り込む能力は認められなかった。

アズキノメイガの性フェロモン腺におけるOsFATPの役割を評価するため、RNAi法により*Osfatp*の発現を抑制し、性フェロモン生産に及ぼす効果を調べた。二本鎖*Osfatp*を処理したアズキノメイガにおける*Osfatp*の発現は、二本鎖RNA注射量に依存して減少したが、それに伴うノックダウン個体の性フェロモン量の減少は認められなかった。

ガ類の性フェロモン腺における脂質代謝に注目し、Type IとType IIの性フェロモンの生合成に関する比較研究を行った結果、フェロモン腺における微小な油滴の存在はフェロモンのTypeとは必ずしもリンクしていないこと、FATPホモログがフェロモンのTypeに関係なくフェロモン腺で発現していることを見出した。大腸菌で発現したEjFATPに細胞外の脂肪酸を細胞内に取り込む能力が認められたが、炭化水素の取り込み能は認められなかった。RNAi法で*Osfatp*の発現を抑制してもフェロモン生産量は変化しなかったことから、OsFATPは性フェロモンの生合成とは直接的な関係はないことが分かった。これらの結果を踏まえると、性フェロモン腺で高発現しているFATPはこの組織で必要されるエネルギーの供給に関与しているのではないかと考える事が出来る。

以上、本研究はガ類の性フェロモン腺における脂質代謝に注目し、Type IとType IIの性フェロモンの生合成に関する比較研究を行ったものである。フェロモン腺で強く発現している脂肪酸膜輸送タンパク質FATPのクローニングと機能解析を行い、その働きを明らかにするなど、本研究の成果は学術上、応用上の価値が高い。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。