

論文審査の結果の要旨

氏名 中川 龍郎

昆虫において、匂いやフェロモンは触角の嗅神経細胞に発現する 7 回膜貫通型の嗅覚受容体 (Olfactory receptor; Or) によって受容される。昆虫嗅覚受容体はヘテロ複合体を形成し、リガンド活性化型イオンチャネルとして機能する。昆虫の匂い・フェロモン認識機構を理解するためには、嗅覚系の末梢で機能する嗅覚受容体複合体がどのような選択性で匂いやフェロモンを認識し、どのような分子機構でそれらの情報を伝達するのかを明らかにすることが必要不可欠である。本研究では、第 1 章でアズキノメイガの性フェロモン受容体に着目し、リガンドの同定と選択性の解析を行った。第 2 章では昆虫嗅覚受容体を介したシグナル伝達機構を詳細に明らかにすることを目指し、昆虫嗅覚受容体の匂い応答における環状ヌクレオチドの役割の解明と、昆虫嗅覚受容体のイオンチャネル活性に関わるアミノ酸部位の同定を行った。

第一章では、アズキノメイガの成虫の触角から単離された 7 つの性フェロモン受容体候補遺伝子 (OscaOr1, 3-8) の機能解析をおこなった。その結果、アズキノメイガの性フェロモン (E11-14:OAc, Z11-14:OAc) に応答する受容体は、OscaOr3 および OscaOr4 であることが明らかになった。抑制性フェロモンである Z9-14:OAc は、OscaOr3 のアゴニスト、OscaOr4 のアンタゴニストであることが示唆された。Z9-14:OAc に特異的に応答する受容体は見出されなかった。これらの結果から、Z9-14:OAc は OscaOr4 発現嗅神経細胞の性フェロモン応答を抑制することにより、アズキノメイガの性行動の抑制を引き起こしているというモデルが推定される。

第二章のセクション 1 では、昆虫嗅覚受容体の匂い応答における環状ヌクレオチドの役割の解明をおこなった。カイコガ性フェロモン受容体 BmOr-1 とカイコガ Orco 受容体 BmOrco を共発現させた細胞は、cGMP, cAMP に対して弱いながらも感受性を示すことを見出した。一方、cGMP, cAMP の存在下では BmOr-1-BmOrco 発現卵母細胞のボンビコール応答が非競合的に抑制された。つまり、環状ヌクレオチドは、BmOr-1-BmOrco に対して弱いアゴニスト活性をもつ一方、ボンビコール応答に対してアンタゴニストとして作用することがわかった。環状ヌクレオチドは、細胞の外側から BmOr-1 側のサブユニットに結合する可能性が示唆された。以上の結果から、環状ヌクレオチドは BmOr-1-BmOrco 複合体のボンビコール応答を細胞外から抑制する作用を持つ可能性が示唆された。

第二章のセクション 2 では、昆虫嗅覚受容体複合体のイオン透過機構についての詳細な解析をおこなった。実際に解析する分子として、BmOr-1 と BmOrco の受容体複合体を

用いた。一般に陽イオンチャネルのポアには、Glu, Asp または Tyr のアミノ酸が存在するが、昆虫嗅覚受容体複合体も陽イオンチャネルであることから、複合体のポアには Glu, Asp または Tyr が存在すると予想した。そこで、BmOr-1 と BmOrco に存在する Glu, Asp, Tyr 計 83 カ所の点変異体を作製して、アフリカツメガエル卵母細胞に発現させ、複合体のイオン透過能への影響を電気生理学的に解析した結果、BmOr-1 の 2 つのアミノ酸および BmOrco の 1 つのアミノ酸への点変異により、複合体のイオン透過能に影響が生じることを見出した。この結果より、昆虫嗅覚受容体複合体のポアは、通常の Or と Orco の両方のサブユニットで形成されているということが実証された。

以上、本研究では、カイコとアズキノメイガの性フェロモン受容体を対象に、フェロモン選択性を解析し、活性化と抑制の両方が存在することを明らかにし、さらに、部位特異的変異体の解析により、受容体複合体の両方のサブユニットが、イオン透過させるポア構造を作るのに貢献していることを示し、数年来の昆虫嗅覚受容体のチャネル機構をめぐる論争に決着をつけたもので、学術的に意義深い。

なお、本論文第一章は、三浦奈美、田付貞洋、石川幸男との共同研究、第二章のセクション 2 は、Maurizio Pellegrino, Leslie B. Vosshall との共同研究であるが、本論文では、引用しない限りはすべて論文提出者が行った実験を記載しており、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

論文提出者は、本審査において、口頭発表を明快におこない、質疑応答に適確に答えた。また、博士論文は、英文で書かれており、審査員全員の共通コメントとして、わかりやすく理路整然と説得力ある形で書かれているという評価があった。

以上の結果、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1 9 9 3 字