

論文の内容の要旨

論文題目

効率的な匂い源定位行動のための触角応答の
キネティクス解析と分子メカニズムに関する研究

氏名 塩田 裕介

生物は時々刻々と変化する自然環境に対してリアルタイムで環境情報を受容し、受容した情報をもとに中枢神経系で情報処理を行い、適切な時間スケールで行動選択を行うことで適応的な行動を起こすことができる。生物は嗅覚・味覚・視覚・聴覚・触覚の五感と総称される感覚を用いて環境中の情報をそれぞれ感覚シグナルとして受容する。全ての生物はこれらの感覚の一つもしくは複数を用いて環境中の情報を受容し、利用することで初めて、所望の目的を達成するための行動を起こすことができる。嗅覚はヒトにおいては視覚に比べて重要視されない傾向にある感覚であるが、個体の健康状態に関わる不衛生食品を匂いによって発見したり、快・不快などの感情的な好みにも深く関与する重要な感覚の一つである。昆虫は嗅覚情報を巧みに用いて適応的な行動を起こすことができる生物であり、そのような優れた適応力の一つに匂い源定位能力がある。匂いは自然環境下では風による外乱や木や森・建造物等による乱流の影響で非常に動的かつ複雑に分布する。自然環境下での乱流の影響によって、空気中での匂いの分布は連続的なものではなく、離散的に分布することが知られており、連続した濃度勾配情報を利用することができない。このような自然環境下での匂いの分布の特性が匂い源定位というタスクを非常に難解なものとしている。

昆虫、とりわけガ類は、匂い源定位を高精度に行うことが知られており、匂いの受容のメカニズムや匂い源定位行動を調査するためのモデル生物となっている。なかでもカイコガは、実用的なレベルで遺伝子組換えやゲノム編集技術が使用できる唯一のチョウ目昆虫であり、嗅覚受容のメカニズムや嗅覚情報を処理する神経回路の形態学・生理学的知見が蓄積されており、匂い源定位行動についてもよく調べられている。本論文では、匂い源定位問題に着目し、匂い源定位に貢献していると考えられている優れた嗅覚系を持つカイコガを対象とした。効率的な匂い源定位行動に貢献していると考えられている嗅覚系の分子メカニズムと、匂い源定位行動に対する嗅覚系の時間的な貢献を明らかにする目的で、まず初めに、ガ類の嗅覚系で触角応答の高感度化や時間分解能に貢献している可能性が示唆されている分子であるフェロモン結合タンパク質(PBP)の機能解析を行った。*In vivo*でのPBPの機能解析を行う為に、ゲノム編集技術TALEN(transcription activator-like effector nuclease)によって、カイコガのフェロモン結合タンパク質(BmPBP1)遺伝子をノックアウト(KO)した *BmPBP1*-

KO カイコガを作出した。 *BmPBP1-KO* カイコガを用いて、触角の生理応答を計測した結果、 *BmPBP1-KO* カイコガではメスから放出される匂いであるボンビコール・ボンビカールのいずれ対しても、触角電図(EAG)のピーク電位が低下したことから、 *BmPBP1* がボンビコール・ボンビカールに対する触角応答の高感度化に寄与していることが明らかになった。一方、ボンビコール・ボンビカールに対して触角応答の減少率が同程度であったことから、 *BmPBP1* はボンビコール・ボンビカールの選択性には大きく寄与しないことが明らかになった。PBP の選択性への寄与は、 *in vitro* の結合アッセイの結果が研究グループによって異なり、統一的な見解となっていなかったが、本研究で行った生体内での機能解析によって、より直接的な知見をもたらした。さらに、PBP の触角応答に対する時間的な貢献を調査する為に、触角応答の時定数を解析した。触角応答の波形を特徴づけるパラメータとして、波形の時間的なダイナミクスを表す指標である触角応答の立ち上がり立ち下りの時定数を用いて解析を行ったところ、 *BmPBP1-KO* カイコガでは、野生型に比べて触角応答の立ち下り時間が有意に長くなった。この結果から、 *BmPBP1* がボンビコール・ボンビカール受容後の触角応答の素早い立ち下りのキネティクスに関与することを明らかにした。

つぎに、 *BmPBP1* 遺伝子の欠失による触角応答の感度とキネティクスの変化がカイコガの匂い源定位行動に与える影響を調査する為に、 *BmPBP1-KO* カイコガを用いて、様々な刺激頻度に対するテザード下での匂い源定位行動を解析した結果、 *BmPBP1-KO* カイコガでは、行動を素早くリセットできる刺激頻度がある一方で、野生型と比較して、プログラム行動をリセットして匂いに追従する割合が減少する刺激頻度があり、行動の時間分解能が低下していることが明らかになった。触角応答の感度や刺激濃度について、野生型と同一濃度または EAG による触角応答のピーク電位で正規化した条件でも、プログラム行動をリセットして直進行動を継続させる割合が低下したことから、触角応答の感度よりもキネティクスの変化が頻回刺激に対する行動の時間分解能により大きな影響を与えることを明らかにした。さらに、 *BmPBP1-KO* カイコガの匂い源定位行動を解析する為に風洞で定位実験を行ったところ、 *BmPBP1-KO* カイコガでは、野生型と比較して、定位成功率に顕著な傾向は見られなかったものの、定位までに要する時間が有意に長くなっていた。画像処理によって、行動パターンを詳細に解析した結果、 *BmPBP1-KO* カイコガでは間欠的な匂いを受容するたびに素早く行動をリセットして起こす短い直進行動(サージ)が持続できず、サージに続く、匂いと再コンタクトするための行動であるジグザグターンを有意に起こしていた。この行動傾向はボンビコール濃度の影響を大きく受けなかったため、触角感度よりも触角応答のキネティクスによって、間欠的な匂いフィラメントを適切な時間スケールの触角応答によって表現し、環境中の匂い分布に対応して素早く行動をリセットすることで匂いプルームに追従することが、効率的な匂い源定位に必要であると考えられる。

本研究は、*in vitro*の実験系で示唆されてきたPBPの機能について、*in vivo*での機能解析を行うことで、PBPが触角応答の高感度化や時間的なキネティクスに関与することを明らかにし、PBPの生体内での機能について一歩進んだ知見を与えた。さらに、効率的な匂い源定位に寄与する嗅覚系の分子メカニズムを明らかにし、適応的な行動生成のメカニズムの解明に対しても大きく貢献した。また、生物が効率的に匂い源定位を行うメカニズムに対する新たな知見を与えたことで、これまで工学的に実現が難しかった匂い源定位問題の解決のための指針を与え、工学分野へも大きく貢献した。*In vivo*でPBP遺伝子の欠失による触角応答の変化が効率的な匂い源定位行動に与える影響を関連づけて報告した初めての研究であり、生物が行う効率的な匂い源定位について、分子メカニズムと神経行動学の両面から学際的に貢献したものである。