

審査の結果の要旨

氏名 森永 敏史

動物は、化学感覚受容体を通して外界の匂いや味といった化学物質の情報を知覚し、摂食行動や求愛行動などといった適切な行動を選択している。昆虫は化学感覚受容体として、匂い物質の受容体である嗅覚受容体と、味物質の受容体である味覚受容体を有する。カイコでは 66 種類の嗅覚受容体候補遺伝子と 76 種類の味覚受容体候補遺伝子が同定されている。これらの受容体の中で、本研究では嗅覚受容体 **BmOr56** と味覚受容体 **BmGr9** に着目している。**BmOr56** は、クワの葉に含まれ、カイコの誘引行動を強く誘起する匂い物質である *cis*-jasmone を認識する。**BmGr9** は、Fructose を認識する非選択性の陽イオンチャネルとして機能する。本研究では、1) カイコのクワの葉への誘引行動における **BmOr56** の寄与の検証、2) **BmGr9** のチャネル機能の分子基盤の解析、の 2 つの研究を行うことによって、カイコの摂食行動における化学感覚受容体の寄与の解明を目指したものである。

第一章で論文全体の序論が述べられたのち、第二章では、カイコの誘引行動における **BmOr56** の寄与を検証するため、**BmOr56** 遺伝子の欠損系統の行動解析が行われた。**BmOr56** 遺伝子の欠損系統を作製して誘引行動実験を行ったところ、変異体カイコはクワの葉に対する誘引行動は依然として示したものの、*cis*-jasmone に対する誘引行動は示さなかった。この結果は **BmOr56** 欠損系統では *cis*-jasmone に対する誘引行動が特異的に消失していることを示唆している。

第三章では、**BmGr9** のチャネル機能と構造の解析が行われた。まず、**BmGr9** にはリガンド濃度や発現量に応じて整流性を変化させる電位依存的な開閉機構が存在することが示された。次に、**BmGr9** のチャネル機能に寄与するアミノ酸残基の同定を目指している。**BmGr9** のオーソログ遺伝子間でアミノ酸配列の多重整列が行われ、保存性が高く、かつ陽イオンチャネルのイオン選択性に寄与する Glu, Asp, Tyr が探索され、これらのアミノ酸の変異体を作製された。その結果、第 2 膜貫通領域に位置する D99 と、第 3 膜貫通領域に位置する D165 の変異体では Fructose 応答性がほぼ消失したことから、チャネルの機能に大きく影響を与えるアミノ酸残基であると考えられた。各々の変異体を用いてイオン交換実験を行い、**BmGr9** のイオン選択性に影響を与えるアミノ酸を探索したところ、第 5 膜貫通領域に位置する E337Q と第 7 膜貫通領域に位置する Y437F の 2 つの変異体でイオン選択性が変化することが明らかとなった。この結果から、第 5,7 膜貫通領域がポア領域を構成することが示唆された。さらに、MTSET 試薬

を用いて、ポア領域の付近に位置するアミノ酸を探索した結果、E76C、Y186C、Y332C、E337Cの変異体がMTSETによるFructose応答の阻害を受けることが明らかとなった。この結果から、これらのアミノ酸残基が位置する第1,4,5膜貫通領域がポア領域付近に位置することが示唆された。最後に、架橋剤実験と全反射顕微鏡を用いた解析によって、BmGr9は4量体と予想され、この予想と上記のポア領域の解析結果に基づいて、BmGr9のチャネル構造モデルが議論されている。一方、BmGr9遺伝子をショウジョウバエの化学感覚神経に導入しリガンド特異性を検証した結果、BmGr9はFructoseに加えて、*in vitro*では応答を示さないSucroseにも応答も示すことが明らかとなった。生体内ではBmGr9が卵母細胞と異なるリガンド特異性を示す可能性が示唆された。

第四章では結果が詳細に考察され、第五章では総合討論されている。BmOr56に関する研究では、BmOr56が*cis-jasmone*に対する誘引行動に寄与する受容体であることが明らかとなった。BmOr56の欠損系統でもクワの葉に対する誘引は正常に見られたことから、カイコの誘引行動には*cis-jasmone*以外の匂い物質も寄与することが示唆される。今後は*cis-jasmone*以外の匂いにも着目することで、カイコの誘引行動の機構の包括的な解明が期待される。BmGr9に関する研究では、BmGr9が4量体であることが示唆され、さらにポア領域の構成に寄与するアミノ酸残基の候補が同定された。本研究で得られた知見をもとに、種々の昆虫味覚受容体に関する研究が発展していくことが期待される。

以上、これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。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。