

## 博士論文(要約)

論文題目 フタホシコオロギにおける交尾と卵巣摘出による  
栄養選好性変化の分子機構の解明

氏 名 塚本 悠介

東京大学大学院新領域創成科学研究科

先端生命科学専攻

平成 29 年度

博士論文

フタホシコオロギにおける交尾と卵巣摘出による  
栄養選好性変化の分子機構の解明

2017 年 12 月提出

指導教員 永田 晋治 准教授

47157302 塚本 悠介

## 目次

略語表	1
序論	3
<b>第1章 卵巣を摘出したメスの栄養選好性の解析と栄養選好性制御因子の探索</b>	
1-0 はじめに	12
1-1 卵巣摘出による産卵の抑制	12
1-2 卵巣を摘出したメスの栄養選好性の評価	12
1-3 メスの体内の観察	13
1-4 脂肪体におけるトランスクリプトーム解析	13
1-5 代謝系とシグナル伝達系に着目した転写変動解析	14
1-6 まとめと考察	14
<b>第2章 フタホシコオロギのインスリンシグナルに関する知見</b>	
2-0 はじめに	30
2-1 定量PCRによる交尾後と卵巣摘出メスの組織別 <i>gilp</i> 発現変動解析	30
2-2 インスリンシグナルの活性化の評価法の検討	30
2-3 交尾後と卵巣摘出メスのインスリンシグナルの活性化	31
2-4 脂肪体のMALDI-TOF MS測定による <i>Gilp</i> の探索	31
2-5 Ex-vivo系による <i>Gilp</i> の探索	32
2-6 <i>gilp</i> のスプライシングバリエーションに関する解析	32
2-7 摂食状態への <i>gilp</i> の応答性の解析	32
2-8 まとめと考察	33
<b>第3章 インスリンシグナルと栄養選好性</b>	
3-0 はじめに	47
3-1 ヒトインスリン投与後の栄養選好性の解析	47
3-2 <i>IRS</i> ノックダウンの交尾後のメスの栄養選好性への影響	47

3-3 <i>IRS</i> ノックダウンの卵巣摘出メスの栄養選好性への影響	48
3-4 交尾後のメス栄養選好性に関わるインスリンシグナル関連因子の探索	48
3-5 卵巣摘出メスの栄養選好性に関わるインスリンシグナル関連因子の探索	49
3-6 まとめと考察	49
総括	61
実験の部	69
補章 シーケンスとアラインメント	79
参考文献	108
謝辞	121

## 略語表

- 4ebp; elf-4E binding protein (真核生物翻訳開始因子 4E 結合タンパク質)
- AKHR; adipokinetic hormone receptor (脂質動員ホルモン受容体)
- ANOVA; analysis of variance (分散分析)
- Blast; basic local alignment search tool
- cDNA; complementary DNA (相補的 DNA)
- C-rich food; carbohydrate rich food
- Dilp; Drosophila insulin like peptide
- dsRNA; double strand RNA (二本鎖 RNA)
- EF; elongation factor (伸長因子)
- Erk; extracellular signal-regulated kinase (細胞外シグナル調節キナーゼ)
- Foxo; forkhead box o (フォークヘッド型転写因子 O)
- GFW; geometric framework
- Gilp; Gryllus insulin like peptide
- GO; gene ontology
- GSK; glycogen synthase kinase (グリコーゲン合成酵素キナーゼ)
- IGF; insulin like growth factor (インスリン様成長因子)
- ILP; insulin like peptide (インスリン様ペプチド)
- IRS; insulin receptor substrate (インスリン受容体基質)
- KEGG; kyoto encyclopedia of genes and genomes
- MALDI-TOF MS; matrix assisted laser desorption ionization (マトリックス支援レーザー脱離イオン化法)
- NPF; neuropeptide F (神経ペプチド F)
- NPY; neuropeptide Y (神経ペプチド Y)
- ORF; open reading frame
- p70S6K; 70-kDa ribosomal protein S6 kinase (70-kDa リボソーム S6 キナーゼ)
- PBS; phosphate buffered saline (リン酸緩衝生理食塩水)
- PCR; polymerase chain reaction
- PDE; phosphodiesterase (ホスホジエステラーゼ)

PMR; post-mating response

P-rich food; protein rich food

RNAi; RNA interference (RNA 干涉)

RPKM; reads per kilobase of exon per million mapped reads

RPS6; ribosomal protein S6

S.D.; standard deviation (標準偏差)

SP; sex peptide

TOR; target of rapamycin

## 序論

### 栄養選好性

イギリスの科学者の William Prout は、牛乳が、saccharinous (糖質)と albuminous (タンパク質)、oleaginous (脂質)に分離できることを示し、食物が一般にこれら 3 つの栄養素からなることを提唱した(Prout, 1827)。食事由来のこれらの三大栄養素は、代謝において中心的な役割を果たしている。生物はこれらを、必要量だけ摂取しなければならない一方で、過剰に摂ることも避けなければならない。ヒトは、それぞれ文化や経験に影響された食の好みがあるが、好みに傾倒した食事を続けると、栄養のバランスが崩れ、健康や成長を害する。そのような栄養バランスの乱れを防ぐために、ヒトに限らず生物全般に、『セルフセレクション』という機構が備わっている。Richter らは、ラットを用いた実験から、(1) 様々な栄養素を含むいくつかの食餌を自由に摂食させた時、ある一定の割合で各栄養素を摂食することと、(2) 栄養素が偏った食餌を与え続けた後、(1)と同様に自由に摂食させると、偏りを補うように摂食をするを見出した(Richter et al., 1938)。このことから、Richter らは生物には自らに足りない栄養素を認識し、それを自発的に補うよう行動する機構があると考え、その機構を『セルフセレクション』と名付けた。セルフセレクションは、生物が自らの栄養状態やまわりの環境に応じて、栄養選好性を制御することで担保されている。栄養選好性に影響を与える要因としては、第一に偏食が挙げられる(Fortes-Silva et al., 2012; Richter et al., 1938)。また、妊娠・哺乳・交尾といったライフイベントや(Dial and Avery, 1991; Ribeiro and Dickson, 2010; Vargas et al., 2010; Walker et al., 2015)、成長や加齢などのライフステージの変化も(Anselmi et al., 1998)、栄養選好性に影響を与えることが報告されている。さらに、気温や湿度も栄養選好性に影響を与える要因である(Syafwan et al., 2012; Yo et al., 1998)。このように、生物は自身の状況や状態に合わせて巧みに栄養選好性を調節している。現在までに、脊椎動物から昆虫を含む無脊椎動物まで、多くの生物種で栄養選好性が調節されていることが認められている(Almaida-Pagán et al., 2006; Behmer, 2009; Cook et al., 1985; Davis, 1939; Day et al., 2002; Emmerson et al., 1991; Ertle et al., 2004; Fortes-Silva et al., 2012; Friend, 1973; Gutelius, 1948; Richter et al., 1938; Sánchez-Vázquez et al., 1999; Smith et al., 2000; Syafwan et al., 2012; Waldbauer and Friedman, 1991; Yo et al., 1998)。しかし、その分子制御機構はほとんど明らかになっていない。

本研究では、昆虫の交尾後の摂食に着目し、この栄養選好性を制御する分子基盤を明らかに

かにすることを目的とした。交尾はメスの栄養選好性を劇的に変えるという点と、昆虫の交尾後の行動に関しては、後述のとおり行動学から分子メカニズムに至るまで多くの知見があるという点で、本研究の対象に適している。

## 交尾後の行動変化

昆虫は、交尾により、雌雄共に行動が変化する。例えば、オスがパートナーのメスを守る行動(Rodríguez-Muñoz et al., 2011)や、メスの産卵数の増加(Bentur et al., 2009; Chen et al., 1988)などが挙げられる。特に、特に卵成熟や産卵を伴って劇的に変化するメスの行動は、分子制御メカニズムを含めて多くの研究がなされている。例えば、キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* では、産卵数の増加(Chen et al., 1988)、交尾拒否行動の惹起(Chen et al., 1988)、抗菌ペプチド産生の活性化(Domanitskaya et al., 2007)、睡眠パターンの変化(Isaac et al., 2010)などが交尾により引き起こされる。このような交尾後のメスに特徴的な一連の行動(Post-mating response; PMR)を引き起こす物質として、オスの精液から 36 残基のアミノ酸からなるペプチド性因子の sex peptide (SP)が同定されている(Chen et al., 1988)。SP は交尾を介してメスに引き渡され、PMR が引き起こされる。メスの貯精嚢に発現する SP 受容体で受け取ったシグナルが神経を介して伝わり、PMR が導かれることがわかっている(Haesemeyer et al., 2009)。交尾後の行動変化に重要な SP だが、現在までのところ、ショウジョウバエの近縁種においてのみで同定されており、他の昆虫種では見つかっていないことから、SP はショウジョウバエ属に特有の因子であることが示唆されている(Cirera and Aguadé, 1998a, 1998b; Richards et al., 2008; Xia et al., 2008)。他のいくつかの昆虫種では、オスの精液中の因子がメスの PMR を引き起こすが(Brent and Hull, 2014; Jang, 1995; Kingan et al., 1993)、詳細な分子機構は明らかになっていない。

交尾による摂食行動の変化も、PMR に含まれる。多くの昆虫種で交尾により摂食行動が変化することが摂食量や栄養選好性、摂食パターンを指標にした研究で明らかになっている(表 0-1)。キイロショウジョウバエにおいては、上述の SP が交尾後のメスの摂食行動変化に関与することが遺伝学的手法により示されているが(Ribeiro and Dickson, 2010; Vargas et al., 2010; Walker et al., 2015)、その知見は他の昆虫種に適用できず、ショウジョウバエ以外の種ではどのように交尾後の行動が制御されているのかは、ほとんど明らかになっていない。

また、ある PMR が他の PMR に影響を与えるかについても研究がなされている。例え



ば、卵を形成できないキイロショウジョウバエのメスは交尾をしても摂食量が増えないことから、交尾後に摂食量が増加することは卵形成に依存している(Barnes et al., 2008)。一方で、交尾後にメスのフンの形状が小さくなることは、卵を形成できないメスでも観察され、SPの直接的な作用であることが示唆されている(Cognigni et al., 2011)。この例のように、一見PMRの各現象間での相互の関係性は低いとも考えられる。

### 摂食行動を制御する内分泌因子

脊椎動物から無脊椎動物の多くの生物種で摂食行動の制御に内分泌系が関わっている。例えば、神経ペプチドY (neuropeptide Y; NPY)は、哺乳類の視床下部や大脳皮質、海馬で産生され、摂食行動を亢進する(Erickson et al., 1996)。摂食により脂肪細胞での合成と分泌が促進されるレプチンは、視床下部の受容体に作用し、摂食行動を抑制する(Zhang et al., 1994)。また、昆虫においては、NPYの機能的なホモログである神経ペプチドF (NPF)が神経系で産生・分泌され、摂食行動の制御に関わることや(Nüssel and Wegener, 2011)、腸管において産生・分泌されるCCHa2が、脳神経系に発現する受容体を介して、摂食行動を促進することが知られている(Ids et al., 2012; Li et al., 2013)。このように、生物全般において、神経系や末梢組織から分泌されたホルモンが摂食行動の制御に深く関わっていることがわかっている。しかし、その多くは摂食量を指標とした解析により同定されており、栄養選好性に関する解析はほとんどなされていない。そのため、栄養選好性の制御に関わる内分泌因子は未だ同定されていないのが現状である。

### インスリン様ペプチド

1984年にエリ蚕 *Samia ricini* に対し前胸腺刺激活性を有するペプチドがカイコ *Bombyx mori* の頭部粗抽出液から精製され、部分アミノ酸配列が決定された(Nagasawa et al., 1984)。このペプチドはボンビキシンと命名され、その構造は無脊椎動物において初めて発見されたインスリン様ペプチド(Insulin like peptide; ILP)であることがわかった(図 0-1)。その後、昆虫にはILPが広く保存され、様々な生理現象を担うホルモンであることが明らかになった(Lagueux et al., 1990; Riehle et al., 2006)。特に、キイロショウジョウバエでは遺伝学的手法を用いて、ILPの生理機能等が盛んに研究されている(Erion and Sehgal, 2013)。キイロショウジョウバエのゲノム上には、8種類のILP (*Drosophila* ILP; Dilp)がコードされている(Colombani et al., 2012; Grönke et al., 2010)。Dilpは、8種のサブタイプ(Dilp1~8)毎に発

現時期や発現組織、成熟ペプチドの切断パターンなど様々な特徴を持つ(Okamoto, 2016a, 2016b)。例えば、Dilp2 は脳の特定の神経内分泌細胞において産生され、体液中の栄養に応答して発現と分泌が制御されている(Géminard et al., 2009; Kim and Neufeld, 2015)。また、脂肪体で産生される Dilp6 は、一本鎖であるインスリン様成長因子(Insulin-like growth factor; IGF)型の構造を持ち(Okamoto et al., 2009b)、他の7つの Dilp はインスリンと同様に前駆体からCペプチドが切り出されてA鎖とB鎖がジスルフィド結合を介したヘテロダイマーを形成している。

インスリンやそのシグナルは摂食行動の制御にも深く関わっている。キイロショウジョウバエでは、*dilp2* や *dilp4* の過剰発現により幼虫の採餌行動が抑制され、摂食量が減少する(Wu et al., 2005a)。インスリンシグナルの下流の因子である p70S6K の活性化も同様に、摂食量を減少させる(Oldham and Hafen, 2003; Wu et al., 2005a)。また、脳内のキノコ体のケニオン細胞のインスリンシグナルの抑制により、絶食後の採餌行動が抑制され、摂食量が減少する(Zhao and Campos, 2012)。インスリンシグナルは嗅覚神経における short NPF 受容体の発現量を減少させ、摂食行動を抑制する(Zhao and Campos, 2012)。加えて、インスリンシグナルは、摂食量のみならず、餌の選択にも関与している。例えば、空腹状態のショウジョウバエは、高カロリー一食よりも、甘味を好み、摂食が進むにつれ、高カロリー一食を好んで食べるようになるが、*dilp2* と *dilp3* の変異体においては、空腹状態でも高カロリー一食を選択的に摂食する(Stafford et al., 2012)。また、ショウジョウバエの幼虫は、固形の餌よりも液状の餌を好むが、NPF 受容体が発現している神経においてインスリンシグナルを抑制すると、固形の餌への選択性が増す(Wu et al., 2005b)。

### 栄養選好性の解析方法

摂食行動の解析で最も使われる指標は、摂食量である。摂食量の解析は、摂食前後のエサの重量の差分(Dillen et al., 2013; Van Wielendaele et al., 2013)や、色素を付けたエサを摂食させ、生体の抽出液の吸光度を測ること(Carvalho et al., 2006)、摂食量と相関があるフンの量による評価(Konuma et al., 2012)がなされている。また、摂食量だけでなく、栄養素の選択性である栄養選好性の解析もなされている。Richter らは、ラットに様々なエサを同時に与え、それらの栄養素別の摂食量の比により栄養選好性を評価した(Richter et al., 1938)。ショウジョウバエでは色がついた2種類のエサを用意し、腹の色によりどちらのエサが選択されているか評価している(Ribeiro and Dickson, 2010)。本論文では栄養選好性を評価するた

めに Geometric Framework (GFW)解析を導入した。GFW 解析は、ある 2 種類の栄養素を異なる割合で含み、その他の成分は等量に揃えた 2 種類のエサを用意し、図 0-2 のように日ごとの摂食量のプロットから得られた傾きを栄養選好性の指標として用いる方法である。本論文での標的とした栄養素には、糖質とタンパク質を使用し、糖質が豊富なエサ(C-rich food)とタンパク質が豊富なエサ(P-rich food)を用いた。この解析法は、個体毎の選好性を評価できるというメリットがある。さらに、GFW 解析では、傾きの大きさを指標としており、定量的な評価が可能である。

## 本論文の目的

本論文では、栄養選好性を変える要因の中でも特に顕著に変化する交尾後のメスの栄養選好性に着目し、栄養選好性の分子制御メカニズムを明らかにすることを目的とした。第 1 章では、先ず、交尾後に惹起される産卵行動と栄養選好性の変化が関わっているのか、卵巣を摘出したメス(卵巣摘出メス)を用いて解析した。続いて、卵巣摘出メスにおいてタンパク質選好性が強まったことから、卵巣摘出メスと交尾後のメスと処女メスを遺伝子発現レベルで比較し、卵巣摘出メスと交尾後のメスで共通した変化を探索した。第 1 章で卵巣摘出メスと交尾後のメスでは処女メスに比べ、インスリン様ペプチド(*gilp*)の発現量が増加したことから、第 2 章では *gilp* の組織別発現解析やインスリンシグナルの活性化について検証した。最後に第 3 章では、ヒトインスリンの投与や遺伝子のノックダウンにより、インスリンシグナルと栄養選好性との関わりを解析した。本研究では、フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus* を実験動物として用いた(図 0-3)。フタホシコオロギは本研究を遂行する上で、1) 摂食行動の解析方法が確立されている、2) 大型昆虫のため、個体レベルで生化学的な解析が容易、3) RNA 干渉(RNAi)法による遺伝子発現抑制が可能、等のメリットがある。

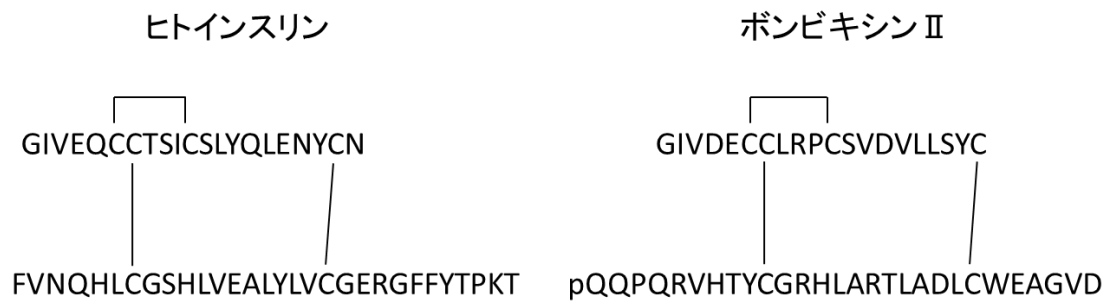


図 0-1 ヒトインスリンとボンビキシンⅡの成熟ペプチドのアミノ酸配列とジスルフィド結合の架橋様式  
 黒線はジスルフィド結合を示す。

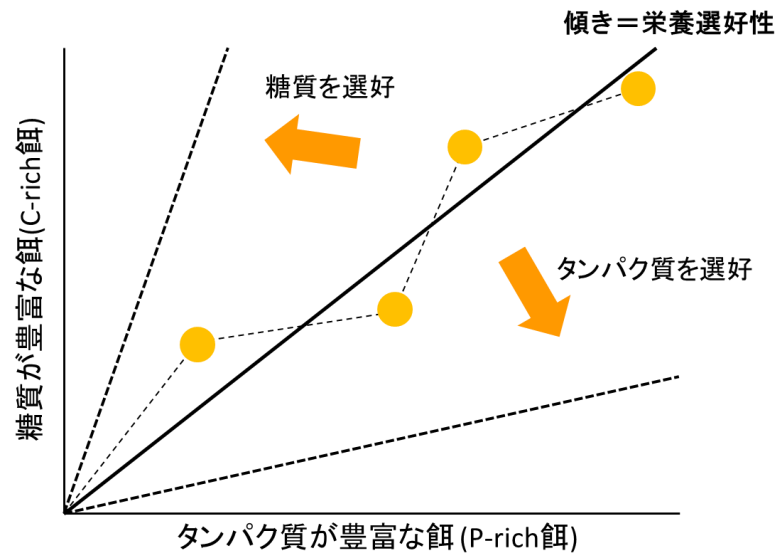


図 0-2 ジオメトリックフレームワーク(GFW)解析法

GFW 解析法による栄養選好性の評価方法。タンパク質が豊富なエサ(P-rich エサ)と糖質が豊富なエサ(C-rich エサ)の 2 種類を用意し、それらを同時に提示した時のそれぞれの摂食量を測定し、プロットした。3 日間の解析の結果得られた回帰直線の傾きを栄養選好性の指標として、本論文における栄養選好性の評価に用いた。

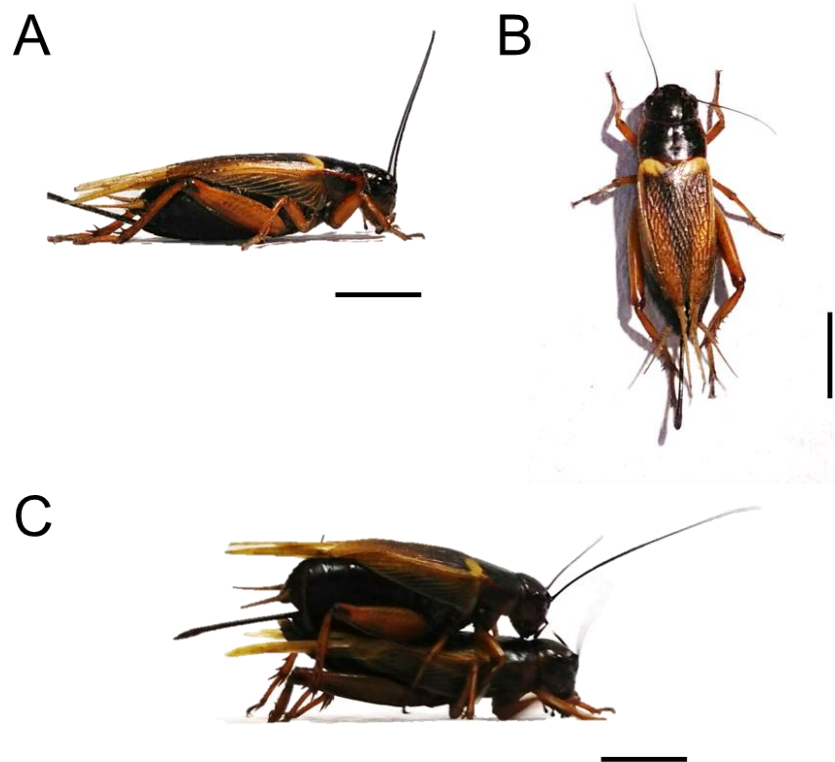


図 0-3 フタホシコオロギ *Gryllus bimaculatus*

(A)フタホシコオロギの成虫メスを横から見た図。(B)フタホシコオロギのメスを上から見た図。(C)フタホシコオロギの交尾行動。上がメスで、下がオス。スケールバーは1 cm。

表 0-1 昆虫のメスの交尾後の摂食行動変化

目	種	交尾後の摂食行動の変化	参考文献
双翅目	<i>Drosophila melanogaster</i>	摂食量の増加	Carvalho et al., 2006
		酵母の嗜好性が高まる	Ribeiro and Dickson, 2010; Vargas et al., 2010
	<i>Aedes aegypti</i>	摂食パターンの変化	Judson, 1967
		吸血量の増加	Adlakha and Pillai, 1976
		吸血量の増加	Ejezie and Davey, 1977
鞘翅目	<i>Adalia bipunctata</i>	摂食量の増加	Perry, 2011
		口針を突き刺す回数増加	Cooper & Spurgeon, 2011

やむを得ない事由のため、第1章から第3章は省略



## 総括

Richter らがセルフセレクションの概念を提唱して以降(Richter et al., 1938)、脊椎動物から無脊椎動物に至るまで、多くの生物種でこの現象が見出されてきた。セルフセレクションの分子メカニズムの解明に向けた試みはなされてはいるものの(Berthoud et al., 2012; Smeets et al., 2012)、未だにその全貌は明らかになっていない。

現在、生理学的な知見に留まっている栄養選好的な摂食行動の分子メカニズムを明らかにすることを目的とし、本論文では、昆虫において交尾後に摂食行動が変化する点に着目した。昆虫の交尾は、簡便に誘導が可能で、実験を再現良く繰り返すことができる。また、今まで、セルフセレクションの生理学的な証明に用いられていた GFW 解析を、栄養選好性の評価に使用した。これらにより研究の有意性を作出できた。研究対象としては、フタホシコオロギ *G. bimaculatus* を用いた。この昆虫種は、大型で摂食行動観察が容易であり、雑食性であるため、様々な栄養素を用いた研究が可能である利点を兼ね備えている(Fukumura and Nagata, 2017)。また、摂食行動解析に関する知見が豊富に蓄積されていることに加え(Konuma et al., 2012, 2016)、RNAi の効果が確認されており(Dabour et al., 2011; Nakamura et al., 2010)、比較的容易に標的遺伝子をノックダウンすることができることも、分子メカニズムの解明を目指す本研究には、大きなメリットとなった。

第 1 章では、先ず GFW 解析によって、卵巣を摘出したメスの交尾による摂食行動の変化を解析した。フタホシコオロギでは、交尾によりタンパク質選好性が高まるだけでなく、産卵数の増加が認められる(Bentur et al., 2009; Tsukamoto et al., 2014)。食餌から摂取したタンパク質が卵巣成熟に使われることから(Tatar, 2011)、交尾後に認められるタンパク質選好的な摂食行動は、産卵行動と関係があると考えられた。多くの昆虫種で精液中に含まれる因子が交尾によりメスに受け渡されることで、メスの交尾後の行動変化が誘起されることが知られている(Brent and Hull, 2014; Chen et al., 1988; Jang, 1995; Kingan et al., 1993; Nagalakshmi et al., 2007)。キイロショウジョウバエにおいては、産卵数の増加はオスの精液中の因子である SP の直接的な影響であり、摂食量の増加は、産卵数の増加に影響を受けた行動であることが示されている(Barnes et al., 2008)。当初は、フタホシコオロギにおいて、交尾後のメスの栄養選好性の変化が、1) 他の昆虫種のように、オスの精液中の因子に

より引き起こされる場合は、交尾の有無により栄養選好性が変化するか、2) 産卵と関連している場合は、卵巣摘出メスは交尾の有無に関わらず、偽施術を受けた処女メスと同程度の栄養選好性であるか、のいずれかであると予想した。ところが、結果は、いずれとも異なり、卵巣を摘出することでタンパク質選好性が強まった(図 1-2)。卵巣を摘出することが栄養選好性に影響することは、他の生物種においても研究例はない。交尾と卵巣摘出で、タンパク質選好性が強まり、脂肪体が肥大していたということは興味深い(図 1-3-1)。実際に、脂肪滴が顕著に蓄積し、脂肪体重量も増加していた(図 1-3-2)。イースタンラバーホッパーも、卵巣の摘出により、脂肪体重量が増加する(Judd et al., 2011)。加えて、寿命が延び、タンパク質の貯蔵量が増える(Hatle et al., 2008; Tetlak et al., 2015)。Judd らは、これらの変化を本来卵巣に使われる栄養分が脂肪体に再分配されたため、と考察している(Judd et al., 2011)。フタホシコオロギにおいても、脂肪体は全身のエネルギーの貯蔵器官であり、本来卵巣で使われる予定の栄養分が、行き場を失い、過剰な栄養分として脂肪体にとどめられていることが考えられる。交尾後のメスの脂肪体も、卵巣摘出メスと同様に、脂肪滴が顕著に蓄積していた(図 1-3-2D)。フタホシコオロギでは、交尾をすると産卵数が増加し、次の産卵のために新たな卵が産生される(Bentur et al., 2009)。脂肪体は卵黄タンパク質を産生しており、交尾後のメスの脂肪滴の蓄積は、新しい卵を産生するためのエネルギー源としての物質が貯蔵されたからだと考えられる。つまり、交尾後のメスと卵巣摘出メスでは、予想される原因は異なるが、脂肪体において顕著に脂肪滴が蓄積するという共通した現象が生じていた。

続いて、交尾後と卵巣摘出メスで顕著に変化した脂肪体のトランスクリプトーム解析を行った。交尾後のメスと卵巣摘出メスのいずれの脂肪体においても、処女メスと比べて転写量が顕著に変動した遺伝子の多くは代謝関連因子であったが(図 1-4BC)、それ以外に免疫関連の因子も含まれていた。交尾によって免疫系が活性化することはよく知られており、この点に関しては、フタホシコオロギでも他の昆虫種と同様の傾向だった(Gioti et al., 2012; Lawniczak and Begun, 2004; McGraw et al., 2004, 2008; Sinha and Rae, 2014)。卵巣を摘出する際には、腹部を切開しているため、免疫応答が引き起こされたと考えられる。このように共通して顕著に発現量が変動した遺伝子はあったものの、交尾と卵巣摘出で顕著に変動する遺伝子には違いも多くみられた。例えば、交尾後のメスでは脂肪酸不飽和化酵素の発現量が顕著に減少していたり、脂質輸送に関わる分泌性のタンパク質である *takeout* 様タンパク質の発現量が顕著に増加していた一方で、卵巣摘出メスではいくつかのシトクロー

ム P450 の発現量が変動していたり、昆虫の腹腔に侵入する外来物質の排除に関わる Hemolymph lipopolysaccharide-binding タンパク質やウイルス感染後に体液中に誘導され体液凝固に関わる hemocytin の発現量が上昇していた。ただし、これらの遺伝子の発現量は統計的に顕著な差があるかないかという違いはあったが、処女メスと比較すると、ほとんどの遺伝子が交尾後と卵巣摘出メスで同様の増減を示していた。つまり、交尾後と卵巣摘出メスにおいて、遺伝子発現レベルでの強弱はあるものの、増減の方向は両者で同傾向であると言える。

RNA-sequencing から、交尾と卵巣摘出で顕著に発現が変動し、代謝や摂食行動制御に直接関わる因子を絞り込もうと試みたが、うまくいかなかった(図 1-4D、表 1-1)。その一因としては、フタホシコオロギのゲノムが未解読であることが挙げられる。例えば、小沼らによってクローニングされた脂質動員ホルモン受容体(AKHR)(Konuma et al., 2012)の塩基配列と相同なコンティグを探索すると、数個のコンティグがヒットした(図 4-1)。本来であれば1種類のコンティグしか作成されないはずだが、*de novo* アセンブリにより、数種の断片的なコンティグが作成された。このように作成されたコンティグを元に発現解析を行っているため、発現データにも影響が生じていると考えられる。また、Blast で何もヒットしないコンティグも多数あった。现阶段ではこれらのコンティグが、non-poly A RNA のコンタミネーションか、mRNA の非翻訳領域のみの配列なのかなどを判断できない。ゲノム情報を用いることができれば、より精度が高い解析ができると思われる。フタホシコオロギのゲノム解読は世界でいくつかのプロジェクトとして取り組まれているものの、ゲノムサイズが  $1.7 \times 10^9$  bp (Zeng et al., 2013)と昆虫としては大きく(キイロショウジョウバエ;  $1.8 \times 10^8$  bp (Adams et al., 2000)、カイコ;  $4.3 \times 10^8$  bp (Xia et al., 2008))、解読作業が難航している。

交尾と卵巣摘出により脂肪体における代謝系が変化することが示唆されていたので、代謝系とシグナル伝達系に着目して RNA-sequencing と定量 PCR により栄養選好性を制御する因子を探索した。その結果、特定の経路が活性化しているというようなことはわからなかったが、交尾と卵巣摘出により顕著に *gilp* の発現量が増加していることがわかった(図 1-5-1)。現在までのところ、様々な昆虫種で、交尾前後のトランスクリプトーム解析が行われているが(カイコ(Zhang et al., 2014)、ミカンコミバエ *Bactrocera dorsalis* (Zheng et al., 2016)、ネッタイシマカ *Aedes aegypti* (Alfonso-Parra et al., 2016)、セイヨウミツバチ(Kocher et al., 2008)、キイロショウジョウバエ(Lawniczak and Begun, 2004; McGraw et al., 2004))、*ilp* の発現量が増加している例は見られない。これらの研究では、解析対象の組織が脂肪体

ではないことが多く、今後、他の昆虫種でも脂肪体に着目すれば交尾前後に *ilp* の発現量に違いが認められる可能性はある。

第2章では、*gilp* の発現変動解析やタンパク質レベルでの探索をした。交尾と卵巣摘出による *gilp* の発現量増加は、脂肪体でのみ認められた(図 2-1)。再摂食に対しては、脂肪体と腸管の複数の組織で *gilp* の発現量に変化があった(図 2-7-1)。これは体液中の栄養分により *gilp* の発現量が増動したと考えられる。このことから、交尾と卵巣摘出による脂肪体における *gilp* の発現量増加は体液中の栄養分以外の因子、例えばホルモン等で制御されていると考えられる。

脂肪体の抽出物からは、*Gilp* に由来するイオンピークは認められなかった(図 2-4-1)。Ex-vivo 解析では、脂肪体から *Gilp* が分泌されていることが示唆された(図 2-5)。脂肪体は、ペプチドホルモンを微量しか蓄積せず、産生後速やかに分泌されてしまうために、脂肪体抽出液から *Gilp* に由来するイオンピークが見つからなかったと考えられる(図 2-4-1)。脂肪体で産生される *Gilp* をペプチドレベルで同定するには、脂肪体を培養した後の培養液中に含まれるペプチドを解析する必要がある。

交尾後の組織別の *4ebp* の発現量を調べたところ、前腸で発現量の減少が認められた。一方で、脂肪体では顕著に発現量が増加した(図 2-3A)。また、卵巣摘出では、脂肪体において、発現量の減少が認められた(図 2-3B)。交尾と卵巣摘出で *4ebp* の発現量変動に、差異が認められたが、これらは交尾と卵巣摘出後の体液中における *Gilp* の濃度の違いと、組織ごとの *Gilp* に対する感受性の違いに起因すると考えられる。脂肪体と腸管では、ヒトインスリンを投与した時の応答性に差があり、脂肪体の方が低濃度で *4ebp* の転写量が減少した(図 3-1AB)。また、*IRS* が他のタンパク質との相互作用によりインスリンシグナルの強弱を調節していることも明らかになっており(Hakuno et al., 2015)、組織別の応答性の差異は、このようなインスリンシグナルの強弱を調節する因子の有無や量が組織によって違うことにより生じているとも考えられる。加えて、脂質が過剰に脂肪組織に蓄積されることにより、インスリン抵抗性が高まることもわかっており(Gustafson et al., 2015)、交尾後のメスで脂肪体において *4ebp* の発現量が増加したのは、*Gilp* への応答性が抑制されるようなメカニズムが働いているのかもしれない。

第3章では、交尾と卵巣摘出により活性化されるインスリンシグナルと栄養選好性との

関わりについて解析した。ヒトインスリンの投与によりインスリンシグナルを活性化させると、フタホシコオロギのタンパク質選好性が強まった(図 3-1C)。また、インスリンシグナルに関連する因子のうち、*IRS*、*AKT*、*GSK*、*p70S6K* をノックダウンすると、交尾後と卵巣摘出メスのタンパク質選好性が抑えられた(図 3-2-1B、3-2-2B、3-3-1、3-3-2、3-4-2、3-5)。これらの実験より、交尾後と卵巣摘出後にタンパク質選好性が強まることには、インスリンシグナルが関わっていることが明らかになった。インスリンシグナルと栄養選好性の制御に関する研究は限られており、例えば、キイロショウジョウバエでは、交尾により、神経系における *TOR/S6K* が活性化し、糖質よりタンパク質を多く含む酵母への選好性が高まること、遺伝学的手法により明らかにされている(Ribeiro and Dickson, 2010; Vargas et al., 2010)。一方で、セイヨウミツバチにおいては、*IRS* をノックダウンすると、糖質を多く含む果汁に対し、タンパク質を多く含む花粉に対する選好性が強まる(Wang Y. et al., 2010)。このように、フタホシコオロギとキイロショウジョウバエでは交尾後のインスリンシグナルの活性化を介してタンパク質選好性が強まり、ミツバチではインスリンシグナルの抑制によりタンパク質選好性が惹起されるという違いはあるが、インスリンシグナルという共通の機構を介して、栄養選好性を制御していると考えられる。インスリンシグナルの下流の因子では、特に *GSK* と *p70S6K* をノックダウンした時に、交尾後と卵巣摘出メスでタンパク質選好性が抑えられたが(図 3-4-2、3-5)、*GSK* はインスリンシグナルの活性化により抑制されることから、*p70S6K* の方が、この現象において重要な因子であると思われる。*p70S6K* は、インスリンシグナルの活性化に伴って、40S リボソームタンパク質 *S6* をリン酸化し、タンパク質の合成を促進させる。そのため、アミノ酸の量が減少し、タンパク質の要求量が増え、タンパク質選好性が強まったと考えられる。また、*p70S6K* をノックダウンした場合には、タンパク質合成が促進されなかったため、交尾や卵巣摘出を経てもタンパク質選好性が強まらなかったのではないかと考えられる。

以上より、交尾後のメスや卵巣摘出メスにおいて、タンパク質選好性を制御しているのは、*p70S6K* を介したインスリンシグナルの活性化が重要であると結論付けられる。つまり、タンパク質選好性の制御に、*p70S6K* が合成を促進するタンパク質の機能が重要な可能性と、*p70S6K* がタンパク質合成を促進することによりアミノ酸を消費することが重要な可能性が考えられる。

本研究を、図 4-2 にまとめた。交尾と卵巣摘出により、脂肪体における *Gilp* の産生・分

泌が活発になり、その結果インスリンシグナルが活性化することによって、タンパク質選好性が強まることが明らかになった。卵巣を摘出したメスの栄養選好性の解析は予想していなかった結果だったが、卵巣を摘出することでメスの脂質代謝をダイナミックに変化させ、行動までも変えてしまうことは大変興味深い。本研究では、*gilp* の発現量を上昇させる具体的な分子や物質や、インスリンシグナルの活性化から行動変化に至るまでのメカニズムなど、未だに不明な点がいくつも残されている。これらを詳細に解析することで、適切な栄養選好性の調節により担保される「セルフセレクション」という、生物の複雑であり魅力的な行動のメカニズムの全容に迫ることができると確信している。

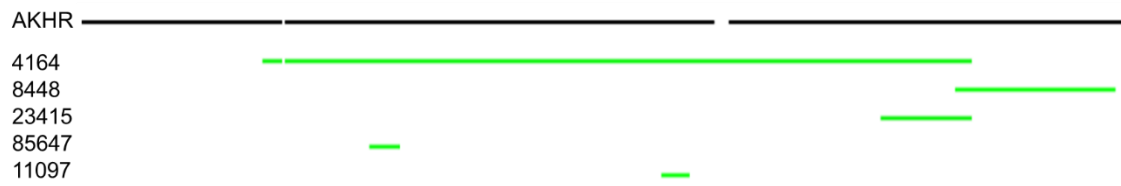


図 4-1 AKHR と相同性が高いコンティグ

フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)の AKHR の塩基配列(HQ709192)に相同性のあるコンティグ。AKHR の塩基配列(黒)と同一のコンティグの領域(緑)を示す。番号はコンティグの番号を示す。

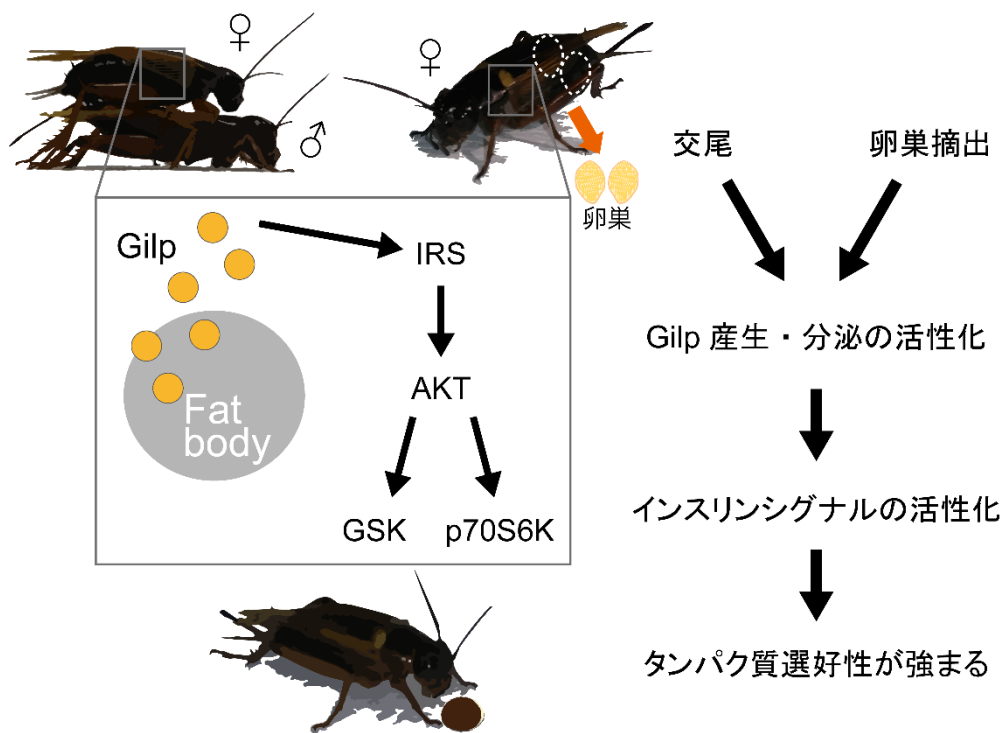


図 4-2 本論文から示唆されたフタホシコオロギにおける交尾と卵巣摘出による栄養選好性制御機構のモデル



## 実験の部

### 機器

MALDI-TOF MS: AB SCIEX、TOF/TOF 5800

遠心濃縮機: Sakuma、EC-57C

凍結乾燥機: 朝日科学株式会社、RFS

PCR: Eppendorf、nexus GSX1

定量 PCR: タカラバイオ、TP850

DNA シーケンサー: Applied Biosystems、3500 Genetic Analyzer

分光光度計: 島津ライフサイエンス、BioSpec-nano

蛍光顕微鏡: オリンパス、IX70

本研究においては、特別な記載がない限り、和光純薬またはナカライテスクの試薬を使用した。

### 実験動物

フタホシコオロギは、月夜野ファーム(群馬県利根郡みなかみ町)より購入したものを研究室で継代して使用した。27±1°C、湿度 70%、16 時間明期-8 時間暗期の下で、ウサギ用人工飼料(LRC4、オリエンタル酵母)とネコ用人工飼料(フリスキー、お魚ミックス、まぐろ・かつお・サーモン入り、ネスレ)を混合し、粉末状にして与えて飼育した。

### 卵巣の摘出

成虫羽化して2日後の成虫メス個体を1時間低温麻酔した後、氷上で腹の側部に解剖ばさみで縦に切り込みを入れた。サッカーの先端にブルーチップを装着し卵巣を吸い出した。左右の卵巣を摘出した後、通常の飼育を行った。偽施術は、卵巣を摘出する場合と同様に腹部に切り込みを入れ、卵巣は摘出しなかった。

### 栄養選好性の評価(ジオメトリックフレームワーク解析法; GFW 解析法)

栄養選好性の評価にはジオメトリックフレームワーク解析法を改良し用いた(Simpson and Raubenheimer, 1995)。下記の P-rich 餌の摂食量を x 軸に C-rich 餌の摂食量を y 軸に取

り、個体ごとに1日の摂食量をプロットした。2日目、3日目はそれぞれ、1日目、2日目の点から摂食量をプロットした。これら3点より、原点を通過する回帰直線を引き、その直線の傾きをその個体の栄養選好性を評価する値とした(図 0-2)。

#### GFW 解析用人工飼料

GFW 解析には、タブレット状にした人工飼料を用いた。デキストリン(日本クレア)とカゼイン(日本クレア)を、セルロース粉末(日本クレア)と混ぜ合わせたものを型( $\phi 2.1 \times 0.5$  cm)に入れた。成型後、水を入れ-80°C で凍結させ、保存した。実験に使用する際は、凍結乾燥した後、高湿度下で一晩置き、70°C で2時間乾熱した後の重量を測定した。実験後は、70°C で2時間乾熱し、重量を測定した。実験開始前と終了後の人工飼料の重量の差分を摂食量とした。タブレットの内容物の割合は、以下の通りである。

・ C-rich food; デキストリン: カゼイン: セルロース粉末= 25: 2.5: 72.5 (wt/wt/wt)

・ P-rich food; デキストリン: カゼイン: セルロース粉末= 2.5: 25: 72.5 (wt/wt/wt)

なお、カロリーは、100g 当たりデキストリンは 379.0 kcal、カゼインは 378.1 kcal とほぼ同等であるため、C-rich food と P-rich food のカロリーはほぼ同じとした。

#### 産卵数の測定

交尾後のメスをプラスチックケース( $\phi 10.0 \times 4.0$  cm)で個別に飼育した。ティッシュペーパーを重ねて、水で湿らせたものを入れ、24 時間後に産卵された卵を数えた。

#### 脂肪体の重量測定

頭部を切断したメスを開腹し、腸管、卵巣、マルピーギ管、付属腺を取り除いた後、脂肪体を全身から回収し、重量を測定した。

#### NileRed 染色による脂肪滴の観察

成虫メスの脂肪体を摘出し、PBS で洗浄した後、4%パラホルムアルデヒド PBS に浸けて15 分間室温で固定した。PBS で洗浄し、染色液(10  $\mu\text{g/ml}$  Nile Red、100  $\mu\text{g/ml}$  Hoescht 33342、PBS 溶液)に浸し、暗所で15 分間染色した。PBS で染色した後、蛍光顕微鏡で観察した。

#### 次世代シーケンサーによる発現変動解析

処女メスと交尾後のメス、卵巣摘出メスの脂肪体から TRI Reagent (コスモバイオ)を用いてトータル RNA を抽出した。続いて、1 U の RQ1 RNase-Free DNase (Promega)を加えて DNase 処理した(37°C、30 分間)。その後、フェノール/クロロホルム抽出、エタノール沈殿により回収した total RNA を RNeasy Mini Kit (QIAGEN)により精製し、その全量を解析に用いた。以降は、共同研究先にて、Illumina HiSeq™ 2000 によりシーケンシングした。得られたリードのデータは、CLC genomics workbench (CLC bio)を用いて、*de novo assembly* し、コンティグを作成した。クラスター解析、発現量解析は CLC genomics workbench を用いて行い、アノテーションと GO 解析は、Blast2GO (Conesa et al., 2005)を用いた。次世代シーケンサーによる発現変動解析は東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻の鈴木穰教授との共同研究である。

#### cDNA の調製および定量 PCR による発現量の定量

成虫メス個体から、各組織を摘出し、TRIreagent (コスモバイオ)により、トータル RNA を抽出した。RNA は 1 U の RQ1 RNase-Free DNase (Promega)を用いて 37°C で 30 分間 DNase 処理した。その後、フェノール/クロロホルム抽出、エタノール沈殿により回収した total RNA を 200 ng 用い、1 U の ReverTra Ace (TOYOBO)を用いた逆転写反応により cDNA を合成した。逆転写におけるプライマーには Oligo(dT)<sub>18</sub>(ユーロフィンジェノミクス)を使用した。定量 PCR には、THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (TOYOBO)を 12.5 µl 用いて、解析した。定量 PCR に用いたプライマーを表 5-1 に示す。なお、相対定量には、フタホシコオロギの伸長因子 *elongation factor (EF)*か  $\beta$ -actin によりノーマライズした。PCR は、T1 と T2 は、95°C、10 秒間(最初のサイクルのみ 1 分間); 56°C、15 秒間; 72°C、20 秒間を 1 サイクルとし、それ以外の遺伝子を対象としたときは、95°C、10 秒間(最初のサイクルのみ 1 分); 60°C、30 秒間を 1 サイクルとした。図 1-5-1B の定量 PCR は、処女メスと交尾後のメスを比較する試行を 2 回、処女メスと卵巣摘出メスを比較する試行を 2 回の計 4 回行った。

#### RT-PCR による組織別発現解析

定量 PCR と同様に、各組織を摘出し、cDNA を作製した。PCR には GoTaq (Promega)を使用した。コントロールとして、*EF* に特異的なプライマーを用いた。PCR は、95°C、30

秒間(最初のサイクルのみ 2 分間); 54°C、30 秒間; 72°C、30 秒間を 1 サイクルとし、*gilp* は 35 サイクル、*EF* は 33 サイクル行なった。最後のサイクルが終了後、72°C で 5 分間伸長させた。PCR に用いたプライマーを表 5-2 に示す。

#### ペプチドの粗精製と MALDI-TOF MS によるペプチドの測定

成虫メスの組織を摘出し、60%アセトニトリル/0.1%TFA に入れた。超音波破碎し、遠心して上清を回収後、遠心濃縮機でアセトニトリルを溜去した。続いて、逆相カートリッジ(メルク、ZiptipC18 チップ)に供し粗精製した。得られたペプチド溶液と 60%アセトニトリル/0.1%TFA に  $\alpha$ -シアノ-4-ヒドロキシけい皮酸を飽和させた溶液をプレート上で混合し、MALDI-TOF MS で測定した。*Gilp* の還元は、粗精製したペプチド溶液に終濃度が 10 mM となるようにジチオトレイトールを加え、100°C で 5 分間加熱した後、再度逆相カートリッジで精製して測定した。

#### 脂肪体の *Ex-vivo* 培養

成虫メスの脂肪体を摘出し、PBS で洗浄した後、150  $\mu$ l の Grace insect medium (1X) (Gibco)を用いて 27°C で 30 分間前培養した。PBS で洗浄した後、1 匹由来の脂肪体を 2 つに分け、ペリスタポンプを用いて、一方は培地の交換をし続けたもの(還流条件)、もう一方は、同じ培地を循環させたもの(循環条件)にして 27°C で 1 時間本培養した。PBS で洗浄した後にただちに脂肪体から RNA 抽出を行い、上記の通り定量 PCR により *4ebp* の発現量を解析した。

#### 二本鎖 RNA (dsRNA)の作製

T7 プロモーター配列(5'-GCTTCTAATACGACTCACTATAG-3')を 5'末端に付加したプライマーを作成した(表 5-3)。作成したプライマーを用いて、各遺伝子の cDNA の塩基配列を挿入配列として含むプラスミド(pGEM-T easy、Promega)を鋳型 DNA として用い、Ex Taq (タカラバイオ)を用いて PCR を行った。PCR は、95°C で 30 秒間(最初のサイクルのみ 2 分間)、55°C で 30 秒間、72°C で 30 秒間を 40 サイクル行った。それぞれの PCR 産物をエコーノスピン(ジーンデザイン)で精製し、核酸濃度を定量した。これを dsRNA 合成反応の鋳型とし、1  $\mu$ g の鋳型量あたり 300 U の T7 RNA polymerase (タカラバイオ)を用いて 37°C で 3 時間、反応を行った。反応終了後、1 U の RQ1 RNase-Free DNase (Promega)を用いて 37°C

で 30 分間 DNase 処理した。反応産物を、フェノール/クロロホルム抽出、およびエタノール沈殿により精製し、50  $\mu$ l の DEPC 水で溶解した。精製した dsRNA はゲル電気泳動により、目的の長さの dsRNA が合成されていることを確認した。調製した各 dsRNA は、熱湯に入れて自然に冷ましてから、投与に用いた。なお、コントロールとしては、*Discosoma sp.* の赤色蛍光タンパク質 DsRed に由来する配列から dsRNA を作製した。

#### dsRNA の投与と発現抑制効果の確認

各 dsRNA について、1 回の投与あたり 3  $\mu$ g/ $\mu$ l の dsRNA を 3  $\mu$ l、シリンジを用いて体内に注射した dsRNA を投与後、3 日目に RNA を摘出し、前述した、定量 PCR により解析した。

表 5-1 定量 PCR に用いたプライマー

名称	配列
1.1.1.27 CG10160 RT Fw	5'-CATCTTCAAGGGCATCATCC-3'
1.1.1.27 CG10160 RT Rv	5'-ACTGGGTTGGAGACGATGAG-3'
1.1.5.9 CG12398-1 RT Fw2	5'-ACCAACATCGGCATCACC-3'
1.1.5.9 CG12398-1 RT Rv2	5'-GTTGGGGACGTGAGTCTTGT-3'
1.1.5.9 CG12398-2 RT Fw2	5'-GCAGGCAATACTGGATGGAG-3'
1.1.5.9 CG12398-2 RT Rv2	5'-CTCGTTCGCCTGCAAATTAT-3'
1.3.3.6 CG4586 RT Fw	5'-GAGGGGGTGACACAGTCAGT-3'
1.3.3.6 CG4586 RT Rv	5'-AAGCACATTGTCGTGCCTTT-3'
2.3.1.9 CG10932 RT Fw	5'-ATGCTGTCTTGAGGGCAGAG-3'
2.3.1.9 CG10932 RT Rv	5'-CAAGCCTCCTGTGTCTGTGA-3'
2.3.1.9 CG9149 RT Fw	5'-TTTCCACACACATGGCAATC-3'
2.3.1.9 CG9149 RT Rv	5'-GGTGAGAACAGGAGGCAGAA-3'
2.4.1.17 CG10178-3 RT Fw	5'-TTGGGCTGTGGAATTCATTT-3'
2.4.1.17 CG10178-3 RT Rv	5'-ATTATTTTCGCGAATCGCTTG-3'
2.4.1.17 CG10178-7 RT Fw2	5'-CTACGATGGCCCTTCTCCTT-3'
2.4.1.17 CG10178-7 RT Rv2	5'-AGCGTGGCGAGGTACATTAG-3'
2.4.1.17 CG10178-9 RT Fw	5'-TCGAAGGTCCAAAGGTTGAC-3'
2.4.1.17 CG10178-9 RT Rv	5'-GCCCAACTACAGGGACTTCA-3'
4EBP1 RT Fw	5'-CTCCGCCAAGGAGAACATC-3'
4EBP1 RT Rv	5'-TGGTCCTGGTTCTCATCCTC-3'
AMPAR2 RT Fw	5'-CCTCGGAATCAGCATTTTGT-3'
AMPAR2 RT Rv	5'-GAGGGGAGAGGAACGAAAAC-3'
ATP1 RT Fw	5'-GGGGTTCTCCTCGGTGTA-3'
ATP1 RT Rv	5'-ACCAGAAGGACGACA-3'
ATP4 RT Fw	5'-ACCAGAAGGACGACA-3'
ATP4 RT Rv	5'-GGGGTTCTCCTCGGTGTA-3'

---

BOSS RT Fw	5'-AAGCTTGGGTTGCTGCTGTA-3'
BOSS RT Rv	5'-GTAATGGCCAGAGCACAGGT-3'
CD36 RT Fw2	5'-CAGCCGCACGAAGTAGAACT-3'
CD36 RT Rv2	5'-CCCAACATTCCCCTTCTCTC-3'
CNG2 RT Fw2	5'-CTTGCACTTTCAGGGGGTAA-3'
CNG2 RT Rv2	5'-GGTTAGAGAAGCCCCGTGA-3'
d12 desaturase RT Fw	5'-AAATTGGTGCCGTTTGCTT-3'
d12 desaturase RT Rv	5'-ACAGCGTCTCTCCCAGAA-3'
d9 desaturase RT Fw	5'-TGGTCAAATGCCTGGTTTG-3'
d9 desaturase RT Rv	5'-GCACTGTTCAACAGCCAAG-3'
ERK1 2 RT Fw	5'-CTGATGAGCCTGTTGCTGAA-3'
ERK1 2 RT Rv	5'-TTCGGAAGATCGTCCAACTC-3'
FOXO RT Fw	5'-ATCATCCACCACGACGACTT-3'
FOXO RT Rv	5'-CATAACCTGTCGCTGCACAA-3'
G6PD 1.1.1.49 CG12529 RT Fw	5'-TTCATTCTCTTGGCTTTGC-3'
G6PD 1.1.1.49 CG12529 RT Rv	5'-CAGAAGTCCGCATCCAATTT-3'
HMG CoA reductase RT Fw3	5'-AGATGGCTGGGTTGAAGTTG-3'
HMG CoA reductase RT Rv3	5'-CTCCGCAGTGGATTCAGTCT-3'
PDE2 RT Fw	5'-AACCCATTCCACAACAGCAT-3'
PDE2 RT Rv	5'-TTCAGAAGCACATTGGTGGA-3'
PKD1_2 RT Fw	5'-TGGGCTTGTGGATAAAAAGGA-3'
PKD1_2 RT Rv	5'-GTGCGGTCCCAGAGTTAAAA-3'
PHK-3 RT Fw	5'-CGGATCAACTTACCGAGGAA-3'
PHK-3 RT Rv	5'-TTTGTCTGAAGAGGGAGAACG-3'
PKC RT Fw	5'-ATGCATTCTTTCGACGCATT-3'
PKC RT Rv	5'-AAAGGGGGTTGCACTTCTCT-3'
Pointed RT Fw	5'-CTTCAGAGCTTGCTGGGGTA-3'
Pointed RT Rv	5'-TCAGGCTTCAGATCGACCAT-3'

---

---

TBC1D1 RT Fw	5'-GGGCTTAGACGCCAATACCT-3'
TBC1D1 RT Rv	5'-GGTCATGCAACAGACGTGAC-3'
TNF2 RT Fw	5'-TTCCGAGACTCCACCTTCTG-3'
TNF2 RT Rv	5'-GAAAGATGCACCTGCCAAAC-3'
Gilp ORF Fw	5'-GCTCCCCTACCCCCTGA-3'
Gilp ORF Rv	5'-TTGGCGATTTGAGCTACGA-3'
Gilp T1 Fw	5'-CCGCCGCAGCTCTAAGA-3'
Gilp T1 Rv	5'-CATAGGCATACTGCTGTCAGG-3'
Gilp T2 Fw	5'-AACTCCGCTGGTTCACACA-3'
Gilp T2 Rv	5'-TCTCAAACAAACGGTCCACA-3'
IRS Fw1	5'-ACTTGCTCTGCCTTACGGAC-3'
IRS Rv1	5'-CTGTTGGCCTTCTCCTCCTG-3'
IRS Fw2	5'-CGAAGGAGGATGTGGTTCCG-3'
IRS Rv2	5'-AGGGATCATCGAGATGGGCT-3'
AKT Fw	5'-GCCCTAAGCCCTACACCTTC-3'
AKT Rv	5'-GAAGGTGCGCTCGATGAC-3'
GSK Fw	5'-TTAGGTTCGCCTTTCACCAG-3'
GSK Rv	5'-TGGAGTGCTGAAGCTCTGTG-3'
PDE Fw	5'-AACCCATTCCACAACAGCAT-3'
PDE Rv	5'-TTCAGAAGCACATTGGTGGGA-3'
p70S6K Fw	5'-AAAGCAGTGGACTGGTGGTC-3'
p70S6K Rv	5'-GGTGGTGCTCCTGTTAGCAT-3'
Erk5144 Fw	5'-GATTCGCCCCCTTTGAAAAC-3'
Erk5144 Rv	5'-GAGGCTCGGAATTACATCCA-3'
Erk7777 Fw	5'-CTGATGAGCCTGTTGCTGAA-3'
Erk7777 Rv	5'-TTCGGAAGATCGTCCAAC-3'
EF Fw	5'-CCCTGCTGCTGTTGCTTT-3'
EF Rv	5'-CCCATTTTGTCCGAGTGC-3'
$\beta$ actin Fw	5'-TTGACAATGGATCCGGAATGT-3'
$\beta$ actin Rv	5'-AAAACCTGCCCTGGGTGCAT-3'

---



表 5-2 RT-PCR に用いたプライマー

名称	配列
Gilp ORF Fw	5'-AACTCCGCTGGTTCCACAG-3'
Gilp ORF Rv	5'-TGTGATGAATGTTGTTCAGTCGG-3'
Gilp T1 Fw	5'-CTCCGCCGCAGCTCTAAG-3'
Gilp T2 Fw	5'-ACTCCGCTGGTTCCACAG-3'
Gilp T1&T2 Rv	5'-AGACGCTTTTGGGAAGGGATT-3'
EF Fw	5'-ATGCCTGTATCTTGACTGCTCA-3'
EF Rv	5'-ATGGTTTGCTTCCAGTTCAGT-3'

表 5-3 T7 プロモーター配列を 5'末端に付加したプライマー(T7 プロモーター配列に下線を付した)

名称	配列
T7 IRS Fw	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAGCT</u> ACATGGAAGTGGGCAGGT-3'
T7 IRS Rv	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAGGGGG</u> TAGAAGGTGACATGGA-3'
T7 IRS-2nd Fw	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAGT</u> GAGAAAAGATGGCGGTCCC-3'
T7 IRS-2nd Rv	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAGT</u> CGAATGCACATCAACCCGA-3'
T7 AKT Fw	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAGT</u> CGACTGTGCTTCGTTATGG-3'
T7 AKT Rv	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAGC</u> AAAACCTCTGGTGCCAAAT-3'
T7 4ebp Fw	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAGG</u> CCAACACCTGCCTTACAAT-3'
T7 4ebp Rv	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAGC</u> ATTGTCCACTTGCCTCCTT-3'
T7 GSK Fw	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAGT</u> GATGTCCCGGTGACAAATA-3'
T7 GSK Rv	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAG</u> AGATTATGCGGCGCTTAGAA-3'
T7 PDE Fw	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAG</u> AACAGCAGGAATTGGACCTG-3'
T7 PDE Rv	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAGT</u> GCTGTTGTGGAATGGGTTA-3'
T7 p70S6K Fw	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAG</u> AAGGATTCCGCAAAGAAGGT-3'
T7 p70S6K Rv	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAG</u> GCTAACAGGAGCACCACCAT-3'
T7 Erk5144 Fw	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAG</u> CAACAGCTCAGCCATTATGC-3'
T7 Erk5144 Rv	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAG</u> CTGTCCACGCAAAGAGAACA-3'
T7 Erk7777 Fw	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAG</u> GCGGTAACAATCGACCAGAT-3'
T7 Erk7777 Rv	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAG</u> TGTTGGAGAGCCCAAACCTC-3'
T7 DsRed Fw	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAG</u> AGAACGTCATCACCGAGTTCAT-3'
T7 DsRed Rv	5'- <u>GCTTCTAATACGACTCACTATAG</u> CCGATGAACTTCACCTTGTAGA-3'

補章 シークエンスとアラインメント

1	TCAGCCAGCCAGCCAGCCCGCCACCTCCGCCGCTCCGCCCTCCGCCGCGGGACGCGCTC	60
61	TAGTCGCCACCGGACCACAGCTGGCTCCGCCGCTCTCTATCTCTATCTCTGTCTGTCTGTC	120
121	TATTCGACTGTCTGCGCCACCGCGAAGATGTCTGCGTCCGCCGTCGCCCGCCAGGCCACC	180
	1 M S A S P V A R Q A T	11
181	CAGAGCCAGGTCATCCCGTCGCGCAAGGTGCTCCTGAGCGACCCGGCGCAGCTGCCCGCC	240
12	Q S Q V I P S R K V L L S D P A Q L P A	31
241	GACTACGCGTCCACGCCCGGCGGCACCCTCTACTCCACCACGCCCGGAGGCACCCGCATC	300
32	D Y A S T P G G T L Y S T T P G G T R I	51
301	GTGTACGAGCGCGCCTTCCTGCTGCAGCTGCGCCACTCGCCGCTGGCGCGCACGCCGCC	360
52	V Y E R A F L L Q L R H S P L A R T P P	71
361	AAGAACATTCACGCGCGCTCATCCGCGGCGCGTCCACGACGACTCCGCCAAGGAGAAC	420
72	K N I P S A L I R G A S H D D S A K E N	91
421	ATCGACGTCATCCCCAGCCCCACCAAGACAGTATTGGTGGAAGAGGATGAGAACCAGGAC	480
92	I D V I P S P T K T V L V E E D E N Q D	111
481	CAGTTCAGTTGGAGATGTAGGCCGAGGGCAGGCCGCATTAGCACTTCCTGGGACAGGC	540
112	Q F Q L E M * 117	
541	CGTGGATGGGGATGCAACCTGCCACTGCCTCAAGTCATTAAGACTGTTGTGTTTTTACTC	600
601	TCATTGTCCACTTGCCTCCTTTTGAGAGGTACCAGCATTGCTGTTGTCTTAAGATTTAC	660
661	AATTTTGAACATATTTGTCTGCTGTTTCTGTGTTAGATTGTTGAATCATCTTAAGCAAT	720
721	ACAAAAGTAGAGAATATGGACAAGTGAAGTGTCTCTGAACTACTTTGTTTTTGAGAC	780
781	TGTTGTCTCAATAATCTTAGTCATTCTGAAGCAGATTGTTTCATCGGAGTATAGGAATGG	840
841	TTCGGACAAAATTTGTTCTGGATTTTGGAGGAGTCTCTTAGACAGTTGATTTTGGAGGAT	900
901	TAAGTATTGGTGTGTCATTGGTGCTTTTTTAAGAAAAAAGTACAAAGAAATTTGTAAGGCA	960
961	GGTGTGGCATCTGAAATATGCCTTCCAGGTTGTTTTATC 1000	

図 S1 フタホシココロギの 4ebp のコンティグの塩基配列とその演繹アミノ酸配列

黒数字は塩基配列の番号を示し、赤数字は演繹アミノ酸配列の番号を示す。\*は終止コードを示す。

Gryllus bimaculatus	1	MSASPVARQAT-QSQVIPS	RKVLI	SDPAQLPADYAST	PGGTLYSTTPGGTR	I	VYERAFLLQLRH	SPIART				
Homo sapiens	1	MSSSAGSGHQPSQSR	AIPTRTVAISDAAQLPHDYC	ITPGGTL	ESTTPGGTRI	I	YDRKFLLD	RNSPVAQT				
Tribolium castaneum	1	MSASPVARQVT-ESKAI	PTKVLINDP	SELP	SHYSSTPGGTL	YSTTPGGTR	I	VYEKAF	LMNLRNSPISKT			
Drosophila melanogaster	1	MSASPTARQAITQALP	MITRKVVISDFIQ	MEVYS	STPGGTL	YSTTPGGTKLI	YERAFV	KNLRGSPISQT				
Gryllus bimaculatus	70	PPK---	NIPSA	LR	CASHDDS	AKENIDV	IPSE	TKTV---	LVEEDENQDQ	QFQLEM		
Homo sapiens	71	PECHLP	NIPGVTSP	CTLI	EDSKVE---	VNNLN	NLNND	RKHAVG	DDAQ	QFEMDI		
Tribolium castaneum	70	PPSY--	GIPEN	LMRCK	TNGSAPIR---	RFSP	PTK-	NHSAK	IEDSH	DEHQ	FQIDI	
Drosophila melanogaster	71	PPS---	NVESC	LR	CTPRT	PFRK---	CV	PV	TEL	IKQTK	SLKIEDQ	QFQFQDL

図 S2 4bp のアミノ酸配列のアラインメント

フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)の 4bp の演繹アミノ酸配列とヒト(*Homo sapiens*; NP\_004087)、キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*; NP\_477295)、コクヌストモドキ(*Tribolium castaneum*; EFA09088)の 4bp のアミノ酸配列のアラインメント。フタホシコオロギの配列との同一性と相同性; ヒト: 同一性; 44.4%、相同性; 59.8%、キイロショウジョウバエ: 同一性; 53.8%、相同性; 69.2%、コクヌストモドキ: 同一性; 50.4%、相同性; 67.5%。

T1 1 ----- 1  
T2 1 GGGCCGGCGGGCGGGCGGAGCCAGTCTCCAGCAGAGCCGGAGCGGGCCGCAGGAGCGGAG 60

T1 1 ----- 1  
T2 61 CAGCGCACAAAGACCCTGCGCCTCGCCTCGCCGCCGCCGACGCCGACAGCCTCCGACCGCC 120

T1 1 ----- *gilp T2 Fw* ----- AGCCAGGTCGTCTCCGCCGTC 21  
T2 121 GCCC GCCGCCGCCGCCGCAACTCCGCTGGTTCCACAGCCCCACTCGCCGCGCATACCCTTCG 180

T1 22 *gilp T1 Fw* ----- *gilp ORF Fw* ----- 81  
T2 181 CTC CCGGTT CGCCGAATCGCCTCCACCGCACCATGTGGACCGTTTGTGTTGAGATTGCT 240  
1 M W T V C L R L L 9

T1 82 TCTCCTGACAGCAGTATGCCTATGTGTAATCACGCATGCCCAAAGGGACATTTTCCATGC 141  
T2 241 TCTCCTGACAGCAGTATGCCTATGTGTAATCACGCATGCCCAAAGGGACATTTTCCATGC 300  
10 L L T A V C L C V I T H A Q R D I F H A 29

T1 142 CCAAACGGATATCTTCCAAGTCCCAAAGAGAGGAAATGAAGTCAGACTATGTGGGCGATA 201  
T2 301 CCAAACGGATATCTTCCAAGTCCCAAAGAGAGGAAATGAAGTCAGACTATGTGGGCGATA 360  
30 Q T D I F Q V P K R G N E V R L C G R Y 49

T1 202 CCTCTCTAACATGCTCCATGTAGTATGCAATGGTTTTATATAATCCAATGTTTAAAGAAAGC 261  
T2 361 CCTCTCTAACATGCTCCATGTAGTATGCAATGGTTTTATATAATCCAATGTTTAAAGAAAGC 420  
50 L S N M L H V V C N G L Y N P M F K K A 69

T1 262 TGAGAAAGAGCCAGAGCCCGAATTCTGGTTGAATGAACCTGCATCTGTTGAAGAGCAGCT 321  
T2 421 TGAGAAAGAGCCAGAGCCCGAATTCTGGTTGAATGAACCTGCATCTGTTGAAGAGCAGCT 480  
70 E K E P E P E F W L N E P A S V E E Q L 89

T1 322 CCCCTACCCCCTGAAATCCCTTCCAAAAGCGTCTTCATTTCTTCGTAGCTCAAATCGCCA 381  
T2 481 CCCCTACCCCCTGAAATCCCTTCCAAAAGCGTCTTCATTTCTTCGTAGCTCAAATCGCCA 540  
90 P Y P L K S L P K A S S F L R S S N R Q 109

T1 382 AAAGAGACAGGGTATTTATGATGAATGCTGTGCGGAAGTCATGTGCAATCGCAGAACTCAG 441  
T2 541 AAAGAGACAGGGTATTTATGATGAATGCTGTGCGGAAGTCATGTGCAATCGCAGAACTCAG 600  
110 K R Q G I Y D E C C R K S C A I A E L R 129

T1 442 AAGCTACTGTGCTGGTTCATAAATATTCACCATTCTCAACATCATTCACTCCTTGCTAAG 501  
T2 601 AAGCTACTGTGCTGGTTCATAAATATTCACCATTCTCAACATCATTCACTCCTTGCTAAG 660  
130 S Y C A G S \* 135

T1 502 CTAAATTAACCGACTGACAACATTCATCACAAATCTACCTTCTTCATTACATGTGCTTTC 561  
T2 661 CTAAATTAACCGACTGACAACATTCATCACAAATCTACCTTCTTCATTACATGTGCTTTC 720

T1 562 AAAGTCAAGTGTTTGCAGAAATTTCAAATTGGCAACATTTATATGATCATTACAAATCA 621  
T2 721 AAAGTCAAGTGTTTGCAGAAATTTCAAATTGGCAACATTTATATGATCATTACAAATCA 780

T1 622 ATAAAAAAAAATTGAAACATCTGAATGAATTATTGTTTTTCCTGT 665  
T2 781 ATAAAAAAAAATTGAAACATCTGAATGAATTATTGTTTTTCCTGT 824

図 S3 *Gilp* をコードしている 2 種類のコンティグの塩基配列

脳と食道下神経節、中腸、脂肪体のトランスクリプトーム解析から得られたコンティグより見出された 2 種類の *gilp* (T1, T2) のコンティグ。黒数字は塩基配列の番号を示し、赤数字は演繹アミノ酸配列の番号を示す。矢印はプライマーに用いた配列を示す。#は開始コドン、\*は終止コドンを示す。

1 GTCACGATTCAGTGAAAACCTTTTGGATGATATTGATGAGTTTAAAGACTAAATAAGTTGTA 60  
61 GTGAATTATTGATTTTTGCTCGACCACATTTCCGTCTGTTAATGCGTAAGTTTACGTTTCG 120  
121 TGTGTTTTAAAGTGTTTTGAAACGTAATTTACACATGTTAAACGTGCATTTGATGGTTA 180  
181 AATCTGGGAATTATTTTGGTGGAGTGCAGAAATTACAGAGCTGGAGTGATGTTTCATT 240  
241 GACCTCGAATAATACTGTGTTTTGGTATTGCGCATGAGAAAACACCCTGCCCTTGGCGCGA 300  
301 GCGTATTTTCGTATTAAGGTGTTGCTAACAAGCAAGAAAACGACTCAACAACAACACACA 360  
361 TTGATTGCACGAGAACATCTCATTGAAAGGTGGGATTTAAATACCAAATTTTCGTGCAATT 420  
421 AAAGGAGACTGCATATCGGAAGAGGCGTGAACACGCTGTAATGTCAATGAGACCAGTTGC 480  
481 CACTCGCGTGGATTTTTGTGGAGCCAATCTCGGATTCCTGTCAATTGATGTTTCGTTTCAT 540  
541 GACTCCTCTGGATGCTGTGAAGTCTTGGTGTGCTTCCACTCGACATGTCATCAGTGAAGA 600  
1 M S S V K 5  
601 GCTCTTCATCGGCTGGAGACTCAGCCTGGAAGGAGCTGGAACGGCAGGATGGAAGGGCCG 660  
6 S S S S A G D S A W K E L E R Q D G R A 25  
661 GAGAAATCTTGAAAATGGGCTATTTGAAGAAATTGAAGACTATGAAAAAGAAGTTTTTCG 720  
26 G E I L K M G Y L K K L K T M K K K F F 45  
721 TACTTCGAGGCGAGTCATCTCAAGCATCTGCTAGATTGGAGTATTATGACAGTGAGAAAA 780  
46 V L R G E S S Q A S A R L E Y Y D S E K 65  
781 AATGGCGATCCCATCATTCTCCAAAAGGAGCATTGCTTTGAAAACCTGTTTCAACATCA 840  
66 K W R S H H S P K R S I A L K T C F N I 85  
841 ATCGCCGTACAGATACCAAACACAAGAATGTCATTGCCCTGTATACGAAGGACGACTGCT 900  
86 N R R T D T K H K N V I A L Y T K D D C 105  
901 TCTGCCTGGTCTCGGAGACAGGAAGAAGTGGAGGAATGGCTGAACAGTCTGCTTTTCGC 960  
106 F C L V L E T E E E L E E W L N S L L S 125  
961 TGCAGCATGGAGAGGATGTGCCAGATGGAGAGCCTCCCAAGCCTACTTTCGAGCACGTGT 1020  
126 L Q H G E D V P D G E P P K P T F E H V 145  
1021 GGCAGGTACCGTGCAGAAGAAGGGCCTGGGCAACAGCAGGCACATCCTGGGCCCCACT 1080  
146 W Q V T V Q K K G L G N S R H I L G P Y 165  
1081 TGCTCTGCCTTACGGACAAAACCTGAGTCTAGTCAGCAAAAAGTCAGGAGGAGAAGACAA 1140  
166 L L C L T D K T L S L V S K S Q E E K T 185  
1141 ACAGGGACACTTACGAGTTCGGGTTGATGTGCATTTCGGCGATGTGGGCACTCGGACTGTT 1200  
186 N R D T Y E F G L M C I R R C G H S D C 205  
1201 TTTTCTACATGGAAGTGGGAGGTCAGCTTGCAGTGGTGCAGGTGACCTTTGGATGCAAAA 1260  
206 F F Y M E V G R S A C T G A G D L W M Q 225  
1261 CAGAAGATCCCAACATTGCCAGAACATGCATGCTGCTATTTTGGAGTGCCATGAGCAACA 1320  
226 T E D P N I A Q N M H A A I L S A M S N 245  
1321 ACAGCTCGAAGGAGGATGTGGTTCCGAGGCCTCGAACCCGCTCGTCCCTCCGCCATTGAGG 1380  
246 N S S K E D V V P R P R T R S S S A I E 265  
1381 CGTCAAAGCCCATCTCGATGATCCCTCGGAAGACGAGCCACTTGGGTCCGATGAAAACAT 1440  
266 A S K P I S M I P R K T S H L G P M K T 285  
1441 CTTGCTACTACTCCACATCAGAAGAAGCTTCTCGGGCCGGTGTCTCATCTCAACTTTGTAC 1500  
286 S S Y Y S T S E E A S R A G A H L N F V 305  
1501 CCAACCGGGCTCAACCAGCAGCTACATACAGAACATCCTTCCATGTCACCTTCTACCC 1560  
306 P N R A Q P A A T Y T E H P S M S P S T 325  
1561 CAGAAGCTCTGCATAGTCAGGGTTCGACTGCTGCAGGGCGTGAGCGTTGTGACAGCTTGC 1620  
326 P E A L H S Q G S T A A G R E R C D S L 345  
1621 CATCGCGTGCACGCACAACACTAGCGAGGGCCATCCGCAGCCTCCTCCACATGCTTTGCCCA 1680  
346 P S R A R T T S E G H P Q P P P H A L P 365  
1681 CCCCAGCCCCCTCGTGGCACACACCTTGTCCAGCCCCTGCGGTGCAGTGCCTCCGCATT 1740  
366 T P A P R G T H L A P A H C G A V R P H 385  
1741 CAATGTACACACGTGGTGTCTCATACTCTCCCC 1773  
386 S M Y T R G V S Y S P 396

図 S4 フタホシコオロギの IRS のコンティグの塩基配列と演繹アミノ酸配列  
黒数字は塩基配列の番号を示し、赤数字は演繹アミノ酸配列の番号を示す。



プレクストリン相同ドメイン

Gryllus bimaculatus 1 MSSVSSSSAGDSAWKELERQDGRAGEITKMGYLKLLKTKKKFFVLRGESS-QASARLEYDSEKKRNS  
Drosophila melanogaster 1 -----MASISDDGVALSGYLKLLKTKKKFFVLYEETS-TSARLEYDTEKKFLQ  
Homo sapiens 1 -----MASPPESDGFSDIRKVGYLKPKSMKRRFFVLRRAEAGCPARLEYDNEKKRQH  
Tribolium castaneum 1 -----MMSGSEGGVRSGLYKLLKTSRKKFFVLRRAEA-DASARLEYDSEKRFNN

Gryllus bimaculatus 70 H-HSPKRSIALKTCFNINRRDITKHKVIALYTKDDCECVLETDDEBLEENLNLSTIQG-----  
Drosophila melanogaster 51 R-APKRVIVLKNCFNINRRDITKHFVIVLSRDGGEGVLEENNDIRKWLDRKMLVQNIAN-----  
Homo sapiens 56 KSSAPKRSIPLESFCFNINRRADSKNHLVALYTRDEHFAAADSAPQDSYQAILLOHNRAGKHHGAA  
Tribolium castaneum 51 G-LPDKRSIPLKNCFNINRRDITKHKVIALYTKDDCECVLDNDDLDLSLKLKLLKIQG-----

Gryllus bimaculatus 130 -----EDVP-DGEFPEKTFEHHVQVIVLQKKGLSRHLIGPYLCLLTDKTLSTV  
Drosophila melanogaster 114 -----SNGTAEISPYDHVQVIVLQKKGISEKVGITGTYHCLTSKSLTFV  
Homo sapiens 126 ALGAGGGGSGSGSSGLGEAGEDLSYGDFVEGFAEKEVWQVILKPKGLGQTKNIGTYRCLLTKTLSTV  
Tribolium castaneum 111 -----EEVV-DGETPKETFHVVQVIVLNRGLGNA-GITGNVRLCLTDKTLSTV

リン酸化チロシン結合ドメイン

Gryllus bimaculatus 178 SKSQEKTN---RDIYEFRLMCIIRRCGHS--DCFFYMEVGRSACTGADLWMQTEEDNIAQNHHAAITLS  
Drosophila melanogaster 158 CIGPEKTPNGEDRVASTELILTITRRCGHASPCQIFVYVELGRQSVLCSGDLWMPEDNAAIATNMNHTITS  
Homo sapiens 196 KLNSR-----AAAVIOLMNIIRRCGHS--ENFFFEVGRSAVTCPEGRWQVDDSVVAQNHHHTITLH  
Tribolium castaneum 158 KRDCR-----KPTIEINLSNIRSCGNL--RDFFFLEIGRSSTLGAELWMQTEEDNIAQNHHSTVHF

Gryllus bimaculatus 242 AMSNNSK-EDVVE-----EPRRSSSAIEASKPTISV-----I PRKTSHTGP-----  
Drosophila melanogaster 228 AMSAKTESNTNINVIYQNRDLSHEPMPKRSSSANEASKPTINNVVIQNSQN-----SL-----  
Homo sapiens 256 AMRAMS---DFRFE-----EKRQSSSN--CSNPTISVPLRRHHLNPPPSVGL--TRRSRTES  
Tribolium castaneum 218 AMSTNSSKDELGE-----EPRRSSSAIEASKPTNMT--RKIHIAPKCHITPPDFVHTSDTQV

Gryllus bimaculatus 283 -----K--TSSYVSTSE-ESRA-----GA--HLNFVFNRAQPAATYTHEESM--SPST  
Drosophila melanogaster 281 ITAT--SPASVVGKPGSFRVRASSCEGTMSRPASVDGSPVSPSTNRTHAHRHRSARLHPELHN-----E  
Homo sapiens 308 ITAT--SPASVVGKPGSFRVRASSCEGTMSRPASVDGSPVSPSTNRTHAHRHRSARLHPELHN-----E  
Tribolium castaneum 275 IPAGSSTQHPVGVSAFVQHL-IQRCAKASERRHSISAGSLTHCGVISHQRT-----QSLPELANPAPLS

Gryllus bimaculatus 326 PEALHSQGSTAAGRERCDSIPSA---RITSECHPQPPHALPTPAPRGTHLAPAHCGVREHSMVYTT--  
Drosophila melanogaster 282 LRSCSSPNIYGFGRERCDSIPTRNGTLSESNQTYFGSN-HGL-----RSNTISIRPHSTNK--  
Homo sapiens 372 -----SISIPMPASRCSPSATSPVLSSTSTSCHGSTSDCLFPRRSASVSGSPSD-GFISSDVYVSS  
Tribolium castaneum 339 DHSHSRKPKCMSRERCDSIPSA---RITSECHNRHL-----NYPREASLVG--

Gryllus bimaculatus 390 -----RGVSYSP-----  
Drosophila melanogaster 339 -----HNSITFTMPL--RCSESEES-S-ISVDESDDN--GSFHYRLNTRS-SETAIE  
Homo sapiens 435 PCDFRSSFRRSVTPDSTGHITPPA-----RGEELSNIYICMGKGPSTLTAPNGHYILSRGGNGHRCIE  
Tribolium castaneum 384 -----RDI SHSPPLGSPVSPPCSTD SAGSSYSLTDETDVC-----TEMEPSLGRYGHSLTE

Gryllus bimaculatus -----  
Drosophila melanogaster 386 EENID-----IFASAELFSK-V-TEQNVSDENYIPMNVNPTDAIHEKEKADMQRDE--DASLHFNF  
Homo sapiens 497 GTGIGTSPALAGDAASAADLDNFRFRKRTHTSA----GTSEITITH--QKTPSQ--SSVA-----SI  
Tribolium castaneum 435 DEATA-----EECPDPPYNNYISMTLHSSDDGYVDMSEFRGRH---HNSPTASMSVYSGTPTDMRF

Gryllus bimaculatus -----  
Drosophila melanogaster 444 PSHASEKLAKDFLSDNQCCRP IRAYSIGNKVEHLKFNKRIHLNDTGQNPNRV--AYSVGSKSKI--  
Homo sapiens 549 EBY-----TEMPAYPPCGG-----SGGRTPGHRH--SAFVPTR  
Tribolium castaneum 496 AEPYPLEKVTS---YLADDDGRPARAYVSGKPEPKYKYTEMCG-----NSDMRARALSVGSKKPPAR

Gryllus bimaculatus -----  
Drosophila melanogaster 510 --PRCDLQRVVLVEDNKHEFTANRQSSTITKEGTSYGSSANRQKKSTSAPIELSLKNQINSDRMSDLMEID  
Homo sapiens 581 SYPEEGLEMHPLERRGGHH---RPSSTLHTDDGY----MPMSPGVAPVPSGRKGS----GDMY--  
Tribolium castaneum 556 VLPHPGY-----H--HPG-----TKSSSAPLILNSRGQ----GSYN--

Gryllus bimaculatus -----  
Drosophila melanogaster 578 FSQATNLEKQKFIKNEI PKYIENVFPKAEITDSSSLTLHATSQKDI FNGTKLNNTAITSEDGYDQMKV  
Homo sapiens 634 -----FMSKVSAP-----QQIINP-IRRHQRVDVPGYMMSES  
Tribolium castaneum 586 -----SIGEMDLM-----M-----DFSHNSGYMDQMKV

Gryllus bimaculatus -----  
Drosophila melanogaster 648 NGYTPSSNCL-----PMKVEKLKLSDY-----QTAPELTATA-----AEV  
Homo sapiens 669 GGCSPDIGGGPSSSSSSNAVPSGTSYKGLWTVNGVGGHSHVLPHPKPEVESGGKLLPCTGDYMNMSV  
Tribolium castaneum 611 NSGYVEMKPGKPKETS PYVDMSSGSS-----PAKPSYISPAATTTQTEVYMEMDPR

Gryllus bimaculatus -----  
Drosophila melanogaster 684 HDLN-----KISTYNI SAE-KWREQSRSEKKSNSPNDNTFSSKPTNVESTSKS  
Homo sapiens 739 GDSNTSSPDCYYPEDPQHKVPLSYSLPRSFKHTORGEPEEGARHQHQR-----LSTSSG  
Tribolium castaneum 662 KNH-----SEYLSMSTKPLPSPGSCTPEGY-----VE-----MSLGRG

図 S5 IRS のアミノ酸配列のアラインメント

フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)の IRS の部分演繹アミノ酸配列とヒト(*Homo sapiens*; NP\_005535)、キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*; NP\_723540)、コクヌストモドキ(*Tribolium castaneum*; XP\_008196596)の IRS のアミノ酸配列のアラインメント。プレクストリン相同ドメインとリン酸化チロシン結合ドメインを青で示した。フタホシコオロギの部分演繹アミノ酸配列との同一性と相同性; ヒト: 同一性; 36.9%、相同性; 51.0%、キイロショウジョウバエ: 同一性; 37.9%、相同性; 46.2%、コクヌストモドキ: 同一性; 46.7%、相同性; 57.1%。

1 GCGGGCGCCGCCCGCCCGCTCGGGGGCCTGCCCCGCGTCGTCAAGGAGGGCTGGCTC 60  
1 G G A A A A V G G P A P A V V K E G W L 20  
61 TACAAGCGCGGGGAGCACATCAAGAACTGGCGATCGCGCTACTTTCGTGCTGCTGGAGAAT 120  
21 Y K R G E H I K N W R S R Y F V L L E N 40  
121 GCGCCCTCATCGGCTTCAAGAACCGGCCCCGAGCCAGACGCCCTGGGGCAGCCCACTCAAC 180  
41 G A L I G F K N R P E P D A L G D P L N 60  
181 AACTTCACGGTGAAGGGCTGCCAGATCATGGCGTGCGACCGCCCTAAGCCCTACACCTTC 240  
61 N F T V K G C Q I M A C D R P K P Y T F 80  
241 GTCATCCGCGGCCTGCAGTGGACCACCGTCATCGAGCGCACCTTCCACGTGACAGCGAG 300  
81 V I R G L Q W T T V I E R T F H V D S E 100  
301 CGCGAACGGGAGGAGTGGGTGGCGGGCATCCGCGGCGTGGCGGACCGGCTGGCGGAGCAG 360  
101 R E R E E W V A A I R G V A D R L A E Q 120  
361 GCGACGTGGACATGCAGCCCGGGCGGGCGGCTCGGGCTCCGGCAGCGCGTCTCTCGTCG 420  
121 G D V D M Q P A G G G S G S G S A S S S 140  
421 CGCGGGCGGGCAGAGCGAGGACCGCTCATCGAGCTCGGGCCCAAGTTCTCCGTGCAG 480  
141 R G G G D S E D A L I E L G A K F S V Q 160  
481 GGCACCTCGGCCTCCAAGAGCTCCGGCAAGAAGAAAGTGACCCTGGAAAACTTTGAGTTC 540  
161 G T S A S K S S G K K K V T L E N F E F 180  
541 TTGAAGGTGCTGGGCAAGGGCACCTTTGGAAAGGTTCATCTTGTGCAGAGAGAAAGCTACA 600  
181 L K V L G K G T F G K V I L C R E K A T 200  
601 GGTACCTGTACGCCATCAAGATTCTCAAGAAGGAAGTGATCATCCAGAAGGATGAGGTG 660  
201 G H L Y A I K I L K K E V I I Q K D E V 220  
661 GCGCACACGCTCACGGAGAATAGAGTGTCCGCACAACCAATCATCCCTTCTCATTCT 720  
221 A H T L T E N R V L R T T N H P F L I S 240  
721 CTGAAGTACTCTTTCCAGACAGCGGATCGACTGTGCTTCGTTATGGAATATGTGAATGGA 780  
241 L K Y S F Q T A D R L C F V M E Y V N G 260  
781 GGAGAACTTTTCTTCCATTTATCAAGGGAACGAGTCTTTTCGGAAGATAGAACTCGGTT 840  
261 G E L F F H L S R E R V F S E D R T R F 280  
841 TATGGTGCAGAAATTATTTAGCTTTAGGATACCTGCATTCGGAGGGTATTATATACCGT 900  
281 Y G A E I I S A L G Y L H S E G I I Y R 300  
901 GATCTCAAGCTAGAGAATCTGCTTCTAGATAAAGATGGGCACATCAAAATAGCAGACTTT 960  
301 D L K L E N L L L D K D G H I K I A D F 320  
961 GGCCTTTGTAAAGAGGATATCACTTATGGACGGACTACGAAGACTTTTTGCGGTACACCA 1020  
321 G L C K E D I T Y G R T T K T F C G T P 340  
1021 GAGTATTTGGCACCAGAGGTTTTGGAGGATAATGACTACGGTTCGTGCTGTTGATTGGTGG 1080  
341 E Y L A P E V L E D N D Y G R A V D W W 360  
1081 GGAATTGGGGTTGTGATGTACGAAATGATGTGTGGTTCGACTACCTTCTACAACCGTGAC 1140  
361 G I G V V M Y E M M C G R L P F Y N R D 380  
1141 CATGACGTTCTTTTCACTCTGATCCTCATGGAAGATGTGAAATATCCTCGAACACTCTCG 1200  
381 H D V L F T L I L M E D V K Y P R T L S 400  
1201 AATGAAGCAAAGGAGCTTCTGGGAGGACTCCTCATCAAAGACCCTAACC GCCGGTTGGGT 1260  
401 N E A K E L L G G L L I K D P N R R L G 420  
1261 GGTGGAGTAGAAGATGCTAAGGAAATCATGGCTCATCCGTTCTTCTCATGCATCAATTGG 1320  
421 G G V E D A K E I M A H P F F S C I N W 440  
1321 ACTGACTTGGAACAAAAAAGATCCCACCCCTTCAAGCCTCAGGTAACATCGGACACA 1380  
441 T D L E Q K K I P P P F K P Q V T S D T 460

```

1381 GACACCCGCTATTTTGACTCGGAGTTCAGTGGTGAATCTGTCGAGTTGACGCCACCCGAG 1440
461 D T R Y F D S E F T G E S V E L T P P E 480
1441 CACGGAGAGCACCTTAACTCCATTGCAGAGGAGCATGAGCAGCCATACTTTCAACAGTTC 1500
481 H G E H L N S I A E E H E Q P Y F Q Q F 500
1501 AGCTACCAGGACATGGCGTCTACCCTCGGCTCGTTCGGCTGCCATTTCTGCATCGAGTGGG 1560
501 S Y Q D M A S T L G S S A A I S A S S G 520
1561 TCCCTTGCTCAGTCAGCATCGATGCAGTGAGGACAACTGCAGTCAGTTGCTCGGTCTTAT 1620
521 S L A Q S A S M Q * 529
1621 TTGTAGCTGTGTGCTGTTGTGTTGGTGATACTGAAGTGGACAAATTCATATGAAACTTGT 1680
1681 GCACATTATGTGAATACTATTGGTCAGATGCTGATGTAAGTAAACAGACGTGTGTTACTG 1740
1741 ATAATGATATGAATTATTTAATGTGTGGATGATATGTGTACAAAAGTGTATGGATTTGGT 1800
1801 TTGTTGTGAAGCATTGCAGTGAAGTACTGGTACATATCCTGAAATCGACACCATTGACTT 1860
1861 AGATGGATTGAAAGAGATTTTCAAGCTGCAGATGCAAACTTCAATAAACGTGACTCATTG 1920
1921 TACAAGTAATGGCAGTGTTCATAATGGCTGATGCCCATCGTGACGGAATTTGTGCCTCT 1980
1981 CGAAGTAGCGCTGGATTTTCAATAAAGATTATGAAATATTCCTGACTGGTAAATGTGCACA 2040
2041 AAGTGTGTTGTAACATTTTTCATTGAGTTGTTGAGTTGCATTTTTAGATGAGTAGCTTTT 2100
2101 TCTTTTTTGTGAGTTGAACGTGTTGCAAGGCAGTGTAACTGAAACAAAATGGGTTGTAC 2160
2161 ATAAATTAAGTAATGCTTTTTCATGTTTGTGAGTGAAGCATTTTACTCCATGAATGATAAG 2220
2221 AAAAAAACTACCTCCTTCTGTTAAAGAAGATTGTGTAGTTTGGATTTGACAAAAGATGTA 2280
2281 ATGGACAATATGTACAAGAACTAATTTTTTCTTTTCCACTATTTGTTGTGTAGAGAAAAA 2340
2341 AATTAATTTTGTCTTGTGGGAACGATGCACCAGAAGGTCTAATCTGGGCTGATGTAATTT 2400
2401 GGCTTTGCAAGTTTTAAGATTTCTGGGCGAATGCAATCTGAAACGGCCTCTTTTTGTACA 2460
2461 AGGAACTGAACAATTGAATTCAATATAGAGTATGTAATACAAAATAAGATTAAGGATATT 2520
2521 TATGCACCTAAAGTAAGCAGATATTTATGTAGATACAGCAAGGAAGGGTTTTGCTTTTTT 2580
2581 TCCTACTTTTTGTTGCTTTTTGTTTGGTTCAGTTTTTCAATTTTTTTTACATAGAAAAGCTTG 2640
2641 AATTCATCAAGAACTTTTCTTGAATAAACTGTTATTGCTTGTGGTGCATAGATTCAATGA 2700
2701 GGTGCGGGTCTTGGATTAATCATTTGTTTGCAGTGAAGATGGGTAAAAAGAGCAGAATTTGT 2760
2761 CTGAACTACAGGAGGGCACACTGTACCCAGATGTGTGTGAGTGTGTGCGTGTGTACACCA 2820
2821 AACTAACAAACTGATGTTTCTGAGATTGAAATTGCAGTTTATTTCTGATTTATAAATCTGT 2880
2881 GGATTTTCTTGTATTACAACAATGATGGGGGAAAAAGGAAAGAAAATTTGTGTTGAAATTT 2940
2941 TAATGTAATGATTGAAAATGTTTTTGGGTGGTGTACCTGGATCCTGAAACTGAATGAATA 3000
3001 TTTGAAAGTGTAATAATATAGGCTTACAGTCTATTGGTACTGAGAGC 3047

```

図 S6 フタホシコオロギの AKT のコンティグの塩基配列と演繹アミノ酸配列

黒数字は塩基配列の番号を示し、赤数字は演繹アミノ酸配列の番号を示す。\*は終止コドンを示す。

Gryllus bimaculatus	1	-----GGAAAAVGG---PAPAVVKEGWLVKRGEHIKNWRSRYFVILENCALIGFKNREPDA---GDPLNNFTVK
Homo sapiens	1	-----MSDVTIVKEGWLKQKGEYIKNWRERYFLKTDGSEIGYKKEQVDI---PYPLNNSVA
Drosophila melanogaster	1	MSINTTFDLSSPSVTSGHALTEQTVVKEGWLKQKGEHIKNWRORYFVILHSDGRLMGYSKEPADSASTPSDFLNNFTVK
Tribolium castaneum	1	-----MNEAGPATLMPKPDFTKCKIVKEGWLVKRGEHIRNWRERYFLLDGSLIGYKKEDETSV---HDPLNNSFTVK
<b>プレクストリン相同ドメイン</b>		
Gryllus bimaculatus	66	GCQIMACDRPKPTTFVIRGLQWTTVIERTFFHVDSEEREREWVAIRGVADRTAEQGDV-DMCPAGGGSGSGSASSSRGGG
Homo sapiens	58	KCOLMKTERPKPTTFVIRGLQWTTVIERTFFHVDSEEREREWVAIRGVADRTAEQGDV-DMCPAGGGSGSGSASSSRGGG
Drosophila melanogaster	81	GCQIMTVDRPKPTTFVIRGLQWTTVIERTFAVESELERQWTEAIRNVSSRLIDVGEVA-MTPSEQTDMT-----DVD
Tribolium castaneum	72	GSQIMLADKPRPTTFVIRGLQWTTVIERTFFHVDSEEREREWVAIRGVADRTAEQGDV-DMCPAGGGSGSGSASSSRGGG
Gryllus bimaculatus	145	DSEDAITELGAKFSVQGTASKSSCKKVVTLLENFEFLKVLGKGTFGKVLCREKATGLYAIKILKKEVI IQKDEVAHTL
Homo sapiens	124	----QIDNICEEE-----MDASTHKKKKTNDFDYLLKLGKGTFGKVLVREKASGRYYAKILKKEVI IQKDEVAHTL
Drosophila melanogaster	153	MATIADELSEQFSVQGTICN-SSCVKVVTLLENFEFLKVLGKGTFGKVLCREKATGLYAIKILKKEVI IQKDEVAHTL
Tribolium castaneum	135	--EGNMDLCEKFSVQGTIS-STCKRKKVTLSEFEFLKVLGKGTFGKVLCREKATGLYAIKILKKEVI IQKDEVAHTL
<b>Protein Kinase B 触媒ドメイン</b>		
Gryllus bimaculatus	225	TENRVLKSTNHPFLISLKYSFQTDRLCFVMEYVNGGELFFHLSRERVFSEDRTRFYGAETISALGYLHSEGI IYRDLKL
Homo sapiens	195	TESRVLKSTNHPFLISLKYSFQTDRLCFVMEYVNGGELFFHLSRERVFSEDRTRFYGAETISALDYLHSGKI IYRDLKL
Drosophila melanogaster	232	TENRVLKSTNHPFLISLKYSFQTDRLCFVMEYVNGGELFFHLSRERVFSEDRTRFYGAETISALGYLHSEGI IYRDLKL
Tribolium castaneum	212	TENRVLKSTNHPFLISLKYSFQTDRLCFVMEYVNGGELFFHLSRERVFSEDRTRFYGAETISALAYLHSONI IYRDLKL
Gryllus bimaculatus	305	ENLLLDKDGHIKIDFGLCKEDITYGR'TTKTFCGTPPEYLAPEVLEDNDYGRAVDWVGIGVVMYEMMCGRLPFYNRDHDVL
Homo sapiens	275	ENLLLDKDGHIKIDFGLCKEDITYGR'TTKTFCGTPPEYLAPEVLEDNDYGRAVDWVGIGVVMYEMMCGRLPFYNRDHDVL
Drosophila melanogaster	312	ENLLLDKDGHIKIDFGLCKEDITYGR'TTKTFCGTPPEYLAPEVLEDNDYGRAVDWVGIGVVMYEMMCGRLPFYNRDHDVL
Tribolium castaneum	292	ENLLLDKDGHIKIDFGLCKEDITYGR'TTKTFCGTPPEYLAPEVLEDNDYGRAVDWVGIGVVMYEMMCGRLPFYNRDHDVL
Gryllus bimaculatus	385	ETLILMEDVKYPRNLSNEAKELLGGLLAKDENRRLGGGPDDAKEIMAHPPFSCINWTDLEOKKIPPPFKQVTSDDTTRY
Homo sapiens	355	ELILMEDIKFPRNLSDAKSLLSGLLAKDENRRLGGGPDDAKEIMAHPPFSCINWTDLEOKKIPPPFKQVTSDDTTRY
Drosophila melanogaster	392	ETLILVEVKFPRNLSDAKSLLSGLLAKDENRRLGGGPDDAKEIMAHPPFSCINWTDLEOKKIPPPFKQVTSDDTTRY
Tribolium castaneum	372	EQLILMDVVKFPRNLSDAKSLLSGLLAKDENRRLGGGPDDAKEIMAHPPFSCINWTDLEOKKIPPPFKQVTSDDTTRY
Gryllus bimaculatus	465	FDSSEFTGESVELTPPEHGEHNSI-AEEHEOYFQOFSYQ-DMASTLGSAAHISASGSLAQSSAMQ
Homo sapiens	435	FDEEFTAQTTITPPPKYDEDMDCMDNERREHFFQFSYSASGRE-----
Drosophila melanogaster	472	FDKSEFTGESVELTPPEPTGPLGSI-A---EDELFFQFSYQDMASTLGSAAHISASGSLAQSSAMQ
Tribolium castaneum	452	FDSSEFTGESVELTPPEHNSGLGAI-----QEEYFFQFSYQ-DMASTLGSAAHISGSMNMMATM---Q

図 S7 AKT のアミノ酸配列のアラインメント

フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)の AKT の部分演繹アミノ酸配列とヒト(*Homo sapiens*; NP\_005456)、キイロシヨウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*; NP\_732113)、コクヌストモドキ(*Tribolium castaneum*; XP\_008191524)の AKT のアミノ酸配列のアラインメント。プレクストリン相同ドメインと Protein Kinase B 触媒ドメインを青で示した。フタホシコオロギの部分演繹アミノ酸配列との同一性と相同性; ヒト: 同一性; 60.9%、相同性; 70.1%、キイロシヨウジョウバエ: 同一性; 72.8%、相同性; 79.4%、コクヌストモドキ: 同一性; 75.2%、相同性; 82.2%。



1 GCAAGGATGGTAGCAAGGTGACGACTGTAGTGGCAACTCCTGGCCAAGGCCCTGACCGGC 60  
**1** K D G S K V T T V V A T P G Q G P D R **19**  
61 CACAGGAGGTGTCATATACTGACACCAAGGTTATCGGCAATGGCAGCTTTGGCGTTGTGT 120  
**20** P Q E V S Y T D T K V I G N G S F G V V **39**  
121 ACCAGGCAAAATTATGTGACACAGGCGAGCTGGTTGCAATCAAGAAAAGTCTTACAGGACA 180  
**40** Y Q A K L C D T G E L V A I K K V L Q D **59**  
181 AGAGGTTCAAGAACCGAGAATTGCAGATTATGCGGCGCTTAGAACATTGTAATATAGTGA 240  
**60** K R F K N R E L Q I M R R L E H C N I V **79**  
241 AACTCAAGTACTTCTTCTACTCCAGTGGGGATAAGAAGGATGAGGTGTACTTGAATCTTG 300  
**80** K L K Y F F Y S S G D K K D E V Y L N L **99**  
301 TGCTGGAGTACATCCCAGAGACTGTGTACAAAGTTGCTAGACATTACAGTAAATCTAAGC 360  
**100** V L E Y I P E T V Y K V A R H Y S K S K **119**  
361 AGACTATACCTATTAGTTTTATAAAGTTGTACATGTACCAGCTGTTTCGGAGCCTGGCTT 420  
**120** Q T I P I S F I K L Y M Y Q L F R S L A **139**  
421 ACATCCACTCATTGGGTATTTGTACCAGGACATCAAGCCTCAAAAACCTCCTCCTAGACC 480  
**140** Y I H S L G I C H R D I K P Q N L L L D **159**  
481 CTGAGACTGGAGTGTGAAGCTCTGTGATTTTGGCAGTGCCAAGCATCTGGTGAAAGGCG 540  
**160** P E T G V L K L C D F G S A K H L V K G **179**  
541 AACCTAATGTATCATACTCTGCTCTCGGTACTACCGAGCTCCTGAGCTCATCTTTGGAG 600  
**180** E P N V S Y I C S R Y Y R A P E L I F G **199**  
601 CTATAGATTACACTACCAAGATAGATGTATGGAGTGTGGATGTGTGCTAGCTGAACTAT 660  
**200** A I D Y T T K I D V W S A G C V L A E L **219**  
661 TACTGGGTCAACCTATCTTCCCTGGCGACTCTGGTGTGACCAGCTGGTGGAGATCATT 720  
**220** L L G Q P I F P G D S G V D Q L V E I I **239**  
721 AAGTGCTGGGTACACCCACCCGTGAACAAATTCGGGAGATGAATCCCAATACACCGAAT 780  
**240** K V L G T P T R E Q I R E M N P N Y T E **259**  
781 TCAAGTTCCCTCAAATCAAGTCCCATCCTTGGCAAAAGGTTTTCCGTGCTCGCACGCCCC 840  
**260** F K F P Q I K S H P W Q K V F R A R T P **279**  
841 CTGAAGCCATTGATCTGGTGTGCGGATTGCTGGAGTACACCCCTTCATCGCGTATTTCCC 900  
**280** P E A I D L V S R L L E Y T P S S R I S **299**  
901 CTCTGCAAGCTTGTGCGCATACTTTTGGATGAACTGCGTGAAGCCAACACACGACTGC 960  
**300** P L Q A C A H T F F D E L R E A N T R L **319**  
961 CCAATGGCCGTGACCTTCCACCATTATTCAACTTCACAGAGCATGAGTTGAGCATCCAGC 1020  
**320** P N G R D L P P L F N F T E H E L S I Q **339**  
1021 CGGCACTCAACTCCGTCTGTGCGCGCCACGCCAAGACGCGTCCGGGGGGCGGCGGCG 1080  
**340** P A L N S V L L P R H A Q D A S G G G G **359**  
1081 GCGGCGGTGGCGGCTACGGAGGCGGCGGAGCGTCCAGCGGCTCGAAAGCGACAGCGGACG 1140  
**360** G G G G G Y G G G G A S S G S K A T A D **379**  
1141 CGTCTGCTGGTGCCGGAGGCGGCGGCTGGAGGAAACCTAGCATTCGGCGGCGGAGGCA 1200  
**380** A S A G A G G G G G G G N L A F G G G G **399**  
1201 ACGGAGGATTTGGAGGCAACGGCGGCGCTTCGGTGGCAACGGAGGCGGCTTCGGTGGGA 1260  
**400** N G G F G G N G G G F G G N G G G F G G **419**  
1261 ACGGCGGCGGTGGCTTCGGTGGAAACGGCGGCTACGGCGGCGGCTGGCTCGCTGGTGGGTG 1320  
**420** N G G G G F G G N G G Y G G G G S L V G **439**  
1321 GCGGAGGCGGTGGCGCCAAGAGTGACCGCTCTGCCGGTCTGCTGCCGGCGGCGGCGGCG 1380  
**440** G G G G G A K S D A S A G S S A G G G G **459**  
1381 GCGGATTCGGCGGGGGCCACAGCGGGCCAAACAGCCAGGCGTCTGCGTCTCAACGCGT 1440  
**460** G G F G G G H S G A N S Q A S A S S N A **479**  
1441 TCGGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCGCACAGCTCGTCCAAGGCGTCTGCGTCCGCCAACG 1500  
**480** F G G G G G G A H S S S K A S A S A N **499**

```

1501 CCGGCGGCGGCGGGTACGGCGGCTCGCGCAGCCAGGCGTCCGCCTCCGCGTCGGCCGACA 1560
500 A G G G G Y G G S R S Q A S A S A S A D 519
1561 GCGACGCGGTGTCCTTCGCTTGAGCGGCGTGCGCTCGGACTGTGTTGATGATGGAATGGC 1620
520 S D A V V F A * 526
1621 TTCCCCCATGCTAACAGAGCATGCTGTGTCGCCTAGTGAAGTGAATACTCCAAATAACAA 1680
1681 AAGCCCTAATGTTGCGCATGCATTTAAAATGCGGCTCAATGTACGCAGTATTTCCGTTC 1740
1741 GGAAGAAATTTCTCAAATCTTTTTTCAGATTTCCGGATCACTTCTGCGAGTCCCAGATGT 1800
1801 GATATGTTTCAAACCTAGGGCTCACTTGATACTGCTACTTCTATTATCGCCATCTCTAGG 1860
1861 CACAGAAATATGCAGCTTATCTAATGGTGCCCTACATAAAGTGTTCCTCGCCTAGTTCCT 1920
1921 GCCTTTTCATGGGCTTTTTCTTTTTTAAGGAAAGCCAGTAATCTGTTTATTATAGGAACGG 1980
1981 CTTCCATGACG 1991

```

図 S8 フタホシコオロギの GSK のコンティグの塩基配列と演繹アミノ酸配列

黒数字は塩基配列の番号を示し、赤数字は演繹アミノ酸配列の番号を示す。\*は終止コドンを示す。

Gryllus bimaculatus -----  
 Drosophila melanogaster -----  
 Tribolium castaneum MSGRPRTTSFAEGNKQPLNPLPGMKISSLLTDAKTFFRDGNDWGSGGGGAPETAATARGAPIARPAGLPI  
 Homo sapiens -----

Gryllus bimaculatus -----  
 Drosophila melanogaster -----  
 Tribolium castaneum 71 RGNSSKLTTFRI FADDSKVASDANYVVKQCECKKLQSVLPEKNKNARPKYGRSVSVCDLSSDKHKSTK  
 Homo sapiens -----

Gryllus bimaculatus 1 -----KDGSK  
 Drosophila melanogaster 1 -----MSGRPRTTSFAE-----GNKQSPSLVGGVKTCSKDGSK  
 Tribolium castaneum 141 KSATLGSVPAIDGIGKSQKTTIGYSRLLYCWRKLRSLSSSGSKEKGREVFDDDDQYVIAS TKLKSQKDGSK  
 Homo sapiens 1 -----MSGRPRTTS-----F-----AESCKPV--QQPSAFGSMKVSRLKDGSK

Gryllus bimaculatus 6 VTTVVATPGQGPDRPQEVSYTDTKVIINGSGFVVYQAKLCDTGELVAIKKVLQDKRFKNRELQIMRRLRH  
 Drosophila melanogaster 35 VTTVVATPGQGPDRPQEVSYTDTKVIINGSGFVVYQAKLCDTGELVAIKKVLQDKRFKNRELQIMRRLRH  
 Tribolium castaneum 211 VTTVVATPGQGPDRPQEVSYTDTKVIINGSGFVVYQAKLCDTGELVAIKKVLQDKRFKNRELQIMRRLRH  
 Homo sapiens 37 VTTVVATPGQGPDRPQEVSYTDTKVIINGSGFVVYQAKLCDTGELVAIKKVLQDKRFKNRELQIMRRLRH

Gryllus bimaculatus 76 CNIVKLYFFYSSGDKKDEVYLNVLVEYIPETVYKVARHYSKSKQTIPISF IKLYMYQLFRSLAYIHSLG  
 Drosophila melanogaster 105 CNIVKLYFFYSSGDKKDEVYLNVLVEYIPETVYKVARHYSKSKQTIPISF IKLYMYQLFRSLAYIHSLG  
 Tribolium castaneum 281 CNIVKLYFFYSSGDKKDEVYLNVLVEYIPETVYKVARHYSKSKQTIPISF IKLYMYQLFRSLAYIHSLG  
 Homo sapiens 107 CNIVRLRYFFYSSGDKKDEVYLNVLVLYIPETVYKVARHYSKSKQTIPISF IKLYMYQLFRSLAYIHSFG

GSK 触媒ドメイン

Gryllus bimaculatus 146 ICHRDIKPQNLLDPEAVLKLKDFGSAKHLVKGEPNVSYICSRYYRAPELIFGATIDYTTKIDVWSAGCV  
 Drosophila melanogaster 175 ICHRDIKPQNLLDPEAVLKLKDFGSAKHLVKGEPNVSYICSRYYRAPELIFGATIDYTTKIDVWSAGCV  
 Tribolium castaneum 351 ICHRDIKPQNLLDPEAVLKLKDFGSAKHLVKGEPNVSYICSRYYRAPELIFGATIDYTTKIDVWSAGCV  
 Homo sapiens 177 ICHRDIKPQNLLDPEAVLKLKDFGSAKHLVKGEPNVSYICSRYYRAPELIFGATIDYTTKIDVWSAGCV

Gryllus bimaculatus 216 LAELLGQPIFPDGSVDQVLEIKVLGTPTREQIREMNPNYTEFKFPQIKSHPWQ-----K  
 Drosophila melanogaster 245 LAELLGQPIFPDGSVDQVLEIKVLGTPTREQIREMNPNYTEFKFPQIKSHPWQ-----K  
 Tribolium castaneum 421 LAELLGQPIFPDGSVDQVLEIKVLGTPTREQIREMNPNYTEFKFPQIKSHPWQ-----Q  
 Homo sapiens 247 LAELLGQPIFPDGSVDQVLEIKVLGTPTREQIREMNPNYTEFKFPQIKSHPWQTKDSSGTGHFTSGVNR

Gryllus bimaculatus 273 VFRARTPPEAIDLVSRLLEYTPSSRISPLQACAEFFDELRLD--PNTRLENGRDLPPLEFNTEHELSTIQEA  
 Drosophila melanogaster 302 VFRIRTPPEAINLVSLLEYTPSARINPLKACAEFFDELRLDMEGNHTLENGRDMPPLEFNTEHELSTIQES  
 Tribolium castaneum 478 VFRARTPPEAIDLVARLLEYTPSSRISPLQACAEFFDELRLD--PNTRLETNKELPPLEFNTEHELSTIQES  
 Homo sapiens 317 VFRRTPEAIALCSRLLEYTPARLTPLEACAEFFDELRLD--PNVKLENGRDTALFNTEHELSSNEP

Gryllus bimaculatus 342 LNSVLLPRHAODASGCGGGGGCGYGGGASGSKATADASAGAGCG--C----GGGNLAFGGGGNGGF  
 Drosophila melanogaster 372 LVPQLLPRHLONASCPGGNRPSA--GGAASIAAGSSTSVSSTGSGASVEGSAQPQSQGTAAAAGSGGGA  
 Tribolium castaneum 547 LNSILLPRGVQEA--ANSPQDGAASS--GADDAAD--TTAAPVQATAA--C----I----P-----  
 Homo sapiens 386 LAIILLPPHARIQAASSTPTNATAAS--DANTCDRCQINNAASASAS--N----S----T-----

Gryllus bimaculatus 404 -GGNGGG-FGGNGGGFGGNGGGFGGNGGY--GGGS-LVGGG--GGGAKSDASAGSSAGGGGGFGGGH  
 Drosophila melanogaster 440 TAGTGGASAGGPGSGNNSSSGASGAPSVAAGGANAAGVAGAGGGGAGATAAATATGATGATNAGGA  
 Tribolium castaneum -----  
 Homo sapiens -----

Gryllus bimaculatus 467 SGANSQASASSNAFGGGGGGAHSSSKASASANAGGGGYGGRSQAASASA-----SADSDAVVFA  
 Drosophila melanogaster 510 NVTGSQSNALNSGSGGGNGEAAAGSGSGSGSGGGNGDNDAGDSGATASGGGAETEAAASG  
 Tribolium castaneum -----  
 Homo sapiens -----



図 S9 GSK のアミノ酸配列のアラインメント

フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)の GSK の部分演繹アミノ酸配列とヒト(*Homo sapiens*; NP\_002084)、キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*; NP\_476714)、コクヌストモドキ(*Tribolium castaneum*; KYB27978)の GSK のアミノ酸配列のアラインメント。GSK 触媒ドメインを青で示した。フタホシコオロギの部分演繹アミノ酸配列との同一性と相同性; ヒト: 同一性; 61.0%、相同性; 67.3%、キイロショウジョウバエ: 同一性; 69.8%、相同性; 78.7%、コクヌストモドキ: 同一性; 63.3%、相同性; 66.5%。

1 CCCC GCCCGCGGAGCGACAAGCGCCGCCCGCCGCCGCCGCCACC GGCTGGCTAG 60  
61 GAACCCGCGCCCGGTTCTGCGCGCGGAGATCTGCTCCCTGGCCTTCCTGCCACCGACC 120  
121 GCTCGGGCTTCTGGTGTCTGCTCTGGGAGATCTCCATGCCGTGATGTTGCTCGCCGCCCT 180  
181 CCCGTGATTCCGGCTGTTTTCTGGAACAAAACGGCCGGCTGCGCCGAGGCCGCCGGAGCG 240  
241 AGAATCGCCCCAAGCAGAGTCGCCATGGCGCCGAACCCAGAACC CGCCGCGGAGGAGCCG 300  
**1** M A P N P E P A A E E P **12**  
301 CGCTTTCCTTCTTTCATGCTCTTCTCGATGGCTCGTCTTATCTGCGCCTCGCTTTCGAT 360  
**13** R F P F F M L F L D G S S Y L R L A F D **32**  
361 GTCAGCATCCTCATTTTTCATCGCACTCTTCCAGTTCAAACGGATGCTCAACAAAGAACTG 420  
**33** V S I L I F I A L F Q F K R M L N K E L **52**  
421 AGTCACTTTTTCGGAATCAAGTAAATCTGGAAACCAGATTTTCGGAATACATCTGCTCGACA 480  
**53** S H F S E S S K S G N Q I S E Y I C S T **72**  
481 TTTCTTGACAAAACAGCAGGAATTGGACCTGCCGTCTCTGCGCGTCGAAAGATGCCGAACCT 540  
**73** F L D K Q Q E L D L P S L R V E D A E P **92**  
541 CGCGTGCCAAGAAGAAGGAGCGCCGCCGACGGCCGGCACCATGTCGCAGATTTTC 600  
**93** R A A K K K E R R P H G P G T M S Q I S **112**  
601 GCGGTCAAAGCGCCCGTGTGCCACACCAACAGCTTACC CGGCGAGAAGCTGCCAAGCAC 660  
**113** G V K R P L C H T N S F T G E K L P K H **132**  
661 GCGGTGGAGACGGCCTTTCGAGGACGAGCTGGGCCGCAACCTGGCCGAGGTGGACCGCTGG 720  
**133** G V E T A F E D E L G R N L A E V D R W **152**  
721 GGCATCGACATCTTCCGCATCGGCGAGCTCTCCGGCAACCGGCCGCTCACCTGCGTGGCC 780  
**153** G I D I F R I G E L S G N R P L T C V A **172**  
781 TACACCTGCTTCCAGAATCGTGATTTATTGAAGACTTTTCATGATCCCAACAAAGACATTT 840  
**173** Y T C F Q N R D L L K T F M I P T K T F **192**  
841 GTGACTTTTATGATGACTCTGGAGATCATTTATGTGAAAGATAACCCATTCACAACAGC 900  
**193** V T F M M T L E D H Y V K D N P F H N S **212**  
901 ATGCATGCTGTGTAACTCAGTCCACCAATGTGCTTCTGAATTCACCAGCTCTCGAA 960  
**213** M H A A D V T Q S T N V L L N S P A L E **232**  
961 TCAGTATTTACTCCACTAGAAATCATGGCAGCTTTGTTTGCAGCAACAATTCATGACGTC 1020  
**233** S V F T P L E I M A A L F A A T I H D V **252**  
1021 GATCAACCCAGGCCTCACCAATCAGTTCTCATCAATTCAGTTCAGAACTGGCTCTCATG 1080  
**253** D H P G L T N Q F L I N S S S E L A L M **272**  
1081 TACAATGATGAATCTGTATTGGAAAATCACCATTTGGCTGTGGCTTTCAAACTTTTGCAA 1140  
**273** Y N D E S V L E N H H L A V A F K L L Q **292**  
1141 AATGACGGCTGTGACATTTTGTCAATATGGGGAAGAAGCAACGCCAAACGCTTCGCAAA 1200  
**293** N D G C D I F V N M G K K Q R Q T L R K **312**  
1201 ATGGTTATTGACATGGTTTTGTCAACAGATATGTCAAAACATATGAGTTTATTAGCAGAT 1260  
**313** M V I D M V L S T D M S K H M S L L A D **332**  
1261 CTTAAAACCATGGTAGAACTAAGAAAGTTGCGGGTCTGGAGTTTGTCTCTTGACAAC 1320  
**333** L K T M V E T K K V A G S G V L L L D N **352**  
1321 TATACTGATAGAATAACAGGTGCTGGAAAATCTTGTTCATTTGTGCTGATCTAAGTAACCT 1380  
**353** Y T D R I Q V L E N L V H C A D L S N P **372**  
1381 ACTAAGCCTTTACATTTGTATCGACGATGGGTTGATCTTCTCATGGAGGAATTTCTCAA 1440  
**373** T K P L H L Y R R W V D L L M E E F F Q **392**  
1441 CAAGGAGACAGAGAGCGAGAACAAAATTTGGAAATTAGTCCAATGTGTGATCGTAATAGT 1500  
**393** Q G D R E R E Q N L E I S P M C D R N S **412**

1501 GCCACAATAGAGAAATCCCAAGTTGGCTTTATTGACTATATTTGTACATCCACTTTGGGAA 1560  
413 A T I E K S Q V G F I D Y I V H P L W E 432  
1561 ACATGGGCAGATTTAGTGCATCCAGATGCCAGGATATTTCTAGACACATTTGGAGGAAAAT 1620  
433 T W A D L V H P D A Q D I L D T L E E N 452  
1621 CGTGACTGGTACCAAAGTATGATTCCTCCAAGTCCACCTCCAACCTGAGGAACCTGCAAGAA 1680  
453 R D W Y Q S M I P P S P P P T E E L Q E 472  
1681 CATGGCCATGAAGAGGAGGAAGAGGAAGATGGAGGGGACTCTGGGGGGATAGAAGTGACA 1740  
473 H G H E E E E E E D G G D S G G I E V T 492  
1741 GAAACAACCTGCGTCTTCTGCAGCAGGACAAGAGCGCATCAGGTTCCAAGTGACGTTGGAA 1800  
493 E T T A S S A A G Q E R I R F Q V T L E 512  
1801 GAAGGCGAAGGCGAAGAGGGGGAAGATGTAGAGGAAACAGTTTCGAGCACAGGGATGTGA 1860  
513 E G E G E E G E D V E E T V S S T G M \* 531  
1861 CGGAGGTTCTTAGGACTTTGCAGGAAATTCACGAAAAAGTGCAGCAATGGTGGAAAGATA 1920  
1921 AAGCAGTGATTAGGAGGTAGTCAAGGGAAAAGAAAAGCAAGAAGAAAATAAAGAGCTTACCTG 1980  
1981 CCCTGTTCTACATTTTTTTGATGGAAAATGGAATAGAGAATAGTGTAAATGGTAAGAGGTTT 2040  
2041 CTCAAATATATTTTTATGAAGTACTCATAGACACAAAGATTCAGCTTTTATGTTTACCTGC 2100  
2101 AAACCTAATTTGTAGTAAGTTGTTATACTGAAACAGGAACCTTGTACACCATAATGTACT 2160  
2161 ATAAGAAATGTGACAACCGAATGATTTGTTTATGAATTTGGCTAGTCTGTATCAGCTCAA 2220  
2221 AAGAGTGTGTTGAATATCATAACAATGAATATGAAATGTCAACACTACTGACTTATTTTAC 2280  
2281 TCAAAGTGAATAATAGCACAAAGATCATCCACTAAGCGGTAAATATGAGGTAGCTCTGAAC 2340  
2341 AGAGAAATCTCAAGTGTATCTGATATATAACACATCATGGTACCACAACTAGAGAACT 2400  
2401 AGATAAAAACCATATTTCAATAATCCCTAATCTATTTTAAATATATAATGAAAGAGAAAT 2460  
2461 ATACAGATATTCTTTTCATACATCTGCATGTATCTGAACTTCATTTTTGAGGGTACTTTT 2520  
2521 ATGAAAACATTTGAAATTGAGCAGTAATTATGTACTGTTTTGTAAATAGCAACTTTGAAT 2580  
2581 TTGCTCTCTGACAGAAAGCATCCTCATGAAGGAAGGATACATAATGCTGGAGATACTGAA 2640  
2641 CTATCATCTTTTTATTATTATTATCATTGTCATTATTTATTTATTTGCTGTTGTTATTACT 2700  
2701 TTTATTATTTTAAATCTGCTTTGGACATTTACTGTCCATGCCCCTTGGTTTCAATGATAAAG 2760  
2761 CTTGTTATTGCTTCCCTTGGGAATATTTTTGTGGAATAGTAAACAGTTTTTCTGTTTGCCT 2820  
2821 GGCAGTATAAATTACTGTGGTTTCAATTTATGTCTGTTAGCTCTAATAAAATAAAAGCAATAG 2880  
2881 GGTGACATATCTCAGTGATTGGCTTGATGAGTACTTGTGCTACAACTTTTAATTTTCAATTA 2940  
2941 CATAAAAACAAGGTTTCTAGCTCAGGAATGAATTAATTTTATTTCCACCACAAGGAATGACT 3000  
3001 TTGCATTTTTTAATGCAGTGCATAACAACAAAAATAATAAGTGTTTGGCATTTGTTAAACAT 3060  
3061 TGTACTTTTGTGTTGACCAATTTTAGATTAGTTCCCAATATGGGATTTACTGTTTATATAATT 3120  
3121 TAACAATTGATTTTTATTTGGTGCTGGCCACCGAAATATGGTTTCTTTCATATAATGACTAA 3180  
3181 CTTAGTCTAGCCCCAGTGTGTTACGAAGTTTGCTGCAGTGACTCACATTTCCAAATCACA 3240  
3241 TCACATGCCACCCTGTCTTACTAAATGTTCTAGTGATTCATTTGTTTGTAAATACTGAA 3300  
3301 ATAAAAATAAATGAAATAAATTTAATAAGGCTGGGAATACTTATAACAAATCTATTGTGA 3360  
3361 ACTCTGCATTGAGACAGAACGCTGGACGTTACTGGTTTAAATATGACAGGGGACATGCA 3420  
3421 GGGTTTTAAGACACTCTTTATCAAAGTAGTTATCTTAACTTTTACCTACGAGAAGAACCG 3480  
3481 TTGTCTAATGTAGATATTGTTGCTAAAAGTTTAAAGCAACTAGACCCTGGCGGTTTTTTAT 3540  
3541 TATTACAGTTTTTTTATAAATTATGTTAGTCCTTGGTAAGCTGTGTGTGTGATGTAGATACT 3600  
3601 GCTCTTGGAGCTGTCCAAAGCCTCCATGTTCTTCCCTGTTTCCFAAAATGTTTATTTAGA 3660  
3661 TATATCAGGATGTTTATTATTAGATATGAAGAAGCAAGAATCATAGAATTTGTTGTCAGTTTA 3720  
3721 TACAAAGGAGTAACAAATATTATTTCAGTTTCAATAAAGAAAAAATAATTTTTTTTAT 3780  
3781 TTCATTTTCAATGTTTACTACCTTCCATATATTTTAAACATATTTTGTGTTT 3840  
3841 ATGAAAAAAGCCCTTTTCGGCAATTTTACAGTTTATAACATGATGCATTTGTACTTTTTTA 3900  
3901 GCACATAAATTTGGTAATGCACTATTGTTTACATGAGTCATTTGAAAAATCTACACATTATA 3960  
3961 GTTTTTCTGGAAGTCCAATCTATTTTCATGATGATGCTGATATAGAATTTCTCTGATGTTT 4020  
4021 TTACGTATGTTTATTATTCTATTTCATGGTGACTTTGAACAACACCAGACCATGACTTTG 4080

4081	AGCATACTTTCAAATTTGTCTCTTTCTGAATTTTTTTAACTGAATGGTTTTATGAACAAA	4140
4141	ATGGATTACTGACATATCACTATGACTGTTGCTTAAATGCTTAGTACCTTGTAAATGAAAT	4200
4201	GTGCTAAAAGAGATACAAAAATTATGCCACTCTAACAGAAGCTCTATTTGAAAGCAAAT	4260
4261	CAGTTTTTTTTTATTCATAGTTTCTGGAAAAAAAACAAACCAAAGGTGATTAACAAACACT	4320
4321	GGTGTTCCTCAAGGCTCTTAAAGCTTAAATTTTCTTGGTAGGAATCTTACTAATAACAACAA	4380
4381	AATCAAGATTTAATCACAATAATAAATTGCAATAGAGACGTAATTTGTAAGTCGGGTAAAT	4440
4441	TAGTTGTTGTTTTTTTTTCTTCTCACATTTCCATAATGTTTCATTCAAACAAGCGTGACTTA	4500
4501	GTCAATGAGTTACAAC TAGAAATAACTGCATCAGCTACAGTAACAGCAATAACTAAAACA	4560
4561	TTGAAACATAAAAAATAAATTTGCATAAGAATTTCACTACCAAATGGAGATATTATATTTGA	4620
4621	TAACTTTTTTTTAAATGCCTTCCATTTCTTATGGTACAGTCATATGTACAAC TTATTTAACT	4680
4681	CTTGGAAATAATATGTTTGTATTTATTTGGTGTATATAGGTGCATGTACAGGACTGTATTC	4740
4741	ATGCATGTACATATGCATGATATTGTACATATGTGTTTTTCATAATTTCTGTTTATTTGCA	4800
4801	TATCTGCTTATGTGTATATACATTTGTGTATAAATACATGTGCATATGTGCTGAAAGGAA	4860
4861	TAAATTCAATATCTGCCTTTGTACCATTTTGTAAAGAAAGTGTGATGTCAATAGAAATAAC	4920
4921	TACAGTACAAAAAAGTAATTTATTATATATTTTGATGTTTTCTTATCCTGCTAGAGAT	4980
4981	TTATTTTAAATGCCTTGGAGACATCAGCCACCAGTGTAGAATTTTATTC AATTC AACACTTG	5040
5041	AGTCAAAACTAAATCAATAAATGTGTGCAATAAGCTGTGCATAACTTCTTTTGTAGATTAC	5100
5101	ACAACCTTGTATATGCACTGACCACATTGTGATCTAACACATTGTTTGTTC AACGCTCTAG	5160
5161	AGATGTACTTGACGTTTCTTGTCTGTTGTAGCAACACACCCATCACAAGTAGCAATGTGTT	5220
5221	ACTAAATATTTTCCAAAATGTAGAAAAAATTGTACATTGTGTATTAGTCTGTTGCCCTCC	5280
5281	TACCATGCAATTGGCATAGACATAATATGTAATGTAGACAAAATATGTAATAGGCAGTATT	5340
5341	ACTGTGTGTTAATATCCTTTT CAGTTGAGCATAACATTTGTGCATATTAGAGCAAATCAGGCA	5400
5401	ACTACATTAATTTTCTCTGGTACATTCACAACCATGAAGACAATATACAAATGCATATTT	5460
5461	TTTGACTCCAGTGTGTTGTATTGAGAAATTTCTTTGCAAAGA AACTTTTTTAAATGAACAAGCA	5520
5521	TGAACCTTGGTAAAAAAGGTTTTATCGCAAGTCATGACTATGCTTTTTCAAACAAATTTATAC	5580
5581	TATTGCATATTTTGAAGCC TAAAAAATGCTTCAAAGATTTCAGCAGTTAAGTAGTTG	5640
5641	TTTTACAAGAAAAATGTCAGTGTATAATAATACATGATGCTTAAAAATTTATAATTGGTAAA	5700
5701	TAAAGCACAGCTTATTTAATTTACTATTTCATCAGTCACAATGAAATATAAATCCTCTGGT	5760
5761	CTTGATGGATACTAATTTTGTCTTATTTTAAAGGGCTGTTAGTTTGTGTTTGGAAATTAATA	5820
5821	CTTATAGTCATGGCTGTTACTCCCTTGTTCCTCTTGGCATAACGCCAGGTACATAGCAAA	5880
5881	CAATGTTGAGTAGATTGTGTGATATATTTTGTGATGTGCTGTGTGTTACTAATAATGTGT	5940
5941	ATGTGTATGTAAAAATTTTAAATATTTTACTGTTGTTTGTGTCAGTACCATAAACAGTACC	6000
6001	AAATCTAATTAAAAAATAAAAAAAGGAAAAATTTTTCTCATTCAAAAA AAAAA 6052	

図 S10 フタホシコオロギの PDE のコンティグの塩基配列と演繹アミノ酸配列

黒数字は塩基配列の番号を示し、赤数字は演繹アミノ酸配列の番号を示す。\*は終止コードを示す。

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

1 MKRNTCDLLSRKSFLLFQSLTLEAASCQLTKTKLQPMEEGHMVKYGGLOPTVSKELRQVNNHASEETLH

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

71 SSNEEEDPFRGMEPYLVRRLSCRNIQLPPLAFRQLEQADLKSESENIQRPTSLPLKILPLIAITSAESSG  
1 -----MVCSFCCCCYNFRNSP

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

141 FDVDNGTSAGRSPLDPMTSPGSLILQANFVHSQRRESFLYRSDSDYDLSPKSMSRNSSIAS-----  
17 FDVENGQGA-RSPLE-GGSPSAGLVLQN---LPQRRESFLYRSDSDFEMSPKMSRNSSIASERFKEQEA

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

1 -----MA  
203 -----DIHGDDLIVTPFAQVLASLRTVRNNFAALTNLQDRAPSKRSPMC-----NQPSINKATIT  
82 SILVDRSHGEDLIVTPFAQILASLRSVRNNLLSLTNVPASNKSRPNQSSASRSRGNPPGAPLSQGE---  
1 -----MLSSDENPKARKRV---L-----TKALSODETLA

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

3 PNPEPAEEPRFPFFMLFDGSSYRLAFDVSTIFIALFQFKRMLNKELSHFSESSKSGNQISEYICST  
258 EAYQKLASETLEETDWCIDQ---LETQTRHSVSEMASNKKFKRMLNRELTHSEMRSRGNQVSEFISNT  
149 -EAYTRLATDTIEEDWCL---DQETQTRHSVSDMASLKKFKRMLNKELSHFSESSRSRGNQISEYICST  
27 ADRIPPHSEKLFNLPWMN-----LVADIAITAAAEIKFKRMLNKELSHFSESSKSGNQISEYICST

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

73 FLDKQQLDLPSLRVEDAEFRAAK-----KERRPHGP-GTMSQISGV-KRPLCHTNSFTGK  
325 FLDKQHEVEIPSPTRKQKE-----KKKRPMQISGVK--KLMHSSSLNNS  
215 FLDKQQLDLPSLRVEDNPELVAANAAGQOSAGQYARSRSPRGP--PMSQISGV-KRPLSHTNSFTGER  
90 FLDKQQLDLPSLRVEDGTEAQPKGQ-----RKERPRGPEYSTMSQISGVNKRPLCHTNSFTGER

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

129 LPKHGVEIAFEDELGNLAEDRWGIDIFRIGELSNRPLTCVAYTQFONRDLLKFMIPKTFVTFMMT  
369 IPRFGVKEQEDVLAKEDLVNKGWLVFRIAELSNRPLTVMHHTFQORDDLLKFKTIVDITLITLMT  
282 LPTFGVETPRENBLGTLLELDWGLQLESIGSEFSVNRPLTCVAYTIFQSRBELTSLMIPKTFVTFMST  
150 LPQHGVEIPFEEDLGLCLAEIDRWGIDIFRIGELSNRPLTCVAYTIFETSRELLKSMIPKTFVTFMMT

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

199 LEDHYVKDNPFHNSLHAADVQTSTNVLNLSPALESVFTPLEMAALFAAITHDVDHPGLTNQFLINSSE  
439 LEDHYHADVAVHNNLHAADVQSTHVLNLSLPALEAVTDLLELAAEFASALHDVDHPGVSNQFLINNSE  
352 LEDHYVKDNPFHNSLHAADVQTSTNVLNLTPALEGVFTPLEVGAALFAAITHDVDHPGLTNQFLVNSSE  
220 LEDHYVKDNPFHNSLHAADVQTSTHVLNLTPALESVFTPLEVGAALFAAITHDVDHPGLTNQFLINSSE

3',5'-サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼドメイン

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

269 LALMYNDESLENHHLAVAFKLLQNGCDIFVNMCKKQRTLRKMVIDVLSLTDMSKHMILLADLKTMTVE  
509 LALMYNDSVLENHHLAVGFKLLQNGCDIFQNLTKKQRTLRKMVIDVLSLTDMSKHMILLADLKTMTVE  
422 LALMYNDESLENHHLAVAFKLLQNGCDIFQNMCKKQRTLRKMVIDVLSLTDMSKHMILLADLKTMTVE  
290 LALMYNDESLENHHLAVAFKLLQNGCDIFINMCKKQRTLRKMVIDVLSLTDMSKHMILLADLKTMTVE

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

339 TKKVAGSGVLLLDNYTDRIQVLENLVHCADLSNPTKPLILYRWRVLLMEEFFQOGDRERERQNEISPMC  
579 TKKVTSAGVLLLDNYSDRIQVLENLVHCADLSNPTKPLILYRWRVLLMEEFFQOGDRERERQNEISPMC  
492 TKKVAGSGVLLLDNYTDRIQVLENLVHCADLSNPTKPLILYRWRVLLMEEFFQOGDKERESGMDISPMC  
360 TKKVAGSGVLLLDNYTDRIQVLENLVHCADLSNPTKPLILYRWRVLLMEEFFQOGDKEREAQMDISPMC

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

409 DRNSATIEKSQVGFIDYIVHPLWETWADLVHPDAQDILDTEENRDWYQSMIPSPPPPEELQEHGHEEE  
649 DKHNASVEKSQVGFIDYIVHPLWETWADLVHPDAQDILDTEENRDWYQSTIQSESPAPDDPEGRQG-  
562 DRNSATIEKSQVGFIDYIVHPLWETWADLVHPDAQDILDTEENRDWYQSMIPSPPPPSGVDEN-----  
430 DRNSATIEKSQVGFIDYIVHPLWETWADLVHPDAQDILDTEENRDWYQSMIPSPPAEDVDP-----

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

479 EEEDGGDSGGIEVTEETTASAAQGERIRFQVTLLEGCGEAGE-----DVEETVSSTGM-----  
718 -----QTERFQELTLEEDGESDEKDSGSQVEEDTSCSDSKTLCTQDSESTE  
626 -----PQEDRIRFQVTLLEESQENLA-----EIEGDES GGESTTTGTTGTAA  
493 -----QRPGRIRFQVTLLEGCGEAEA-----DAPM-----

Gryllus bimaculatus  
Homo sapiens  
Drosophila melanogaster  
Tribolium castaneum

766 IPLDEQVEEEAVGEEESQPEACVIDDRSPDT  
670 SALSGAGGGGGGGGMAPRTGGCQNPQHGGM

図 S11 PDE のアミノ酸配列のアラインメント

フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)の PDE の演繹アミノ酸配列とヒト(*Homo sapiens*; XP\_011541771)、キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*; NP\_726855)、コクヌストモドキ(*Tribolium castaneum*; EFA10768)の PDE のアミノ酸配列のアラインメント。3',5'-サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼドメインを青で示した。フタホシコオロギの演繹アミノ酸配列との同一性と相同性; ヒト: 同一性; 59.7%、相同性; 70.1%、キイロショウジョウバエ: 同一性; 72.3%、相同性; 77.2%、コクヌストモドキ: 同一性; 73.1%、相同性; 79.5%。



1 GTTATAGTCAATTCTAGAAATGGGCATCATGAGTCATGACAATAGATATGTATAAACAGT 60  
61 GTTGCCAATGTAAAGAGTATACGTAAACGTACAATATTGGTATGTTTTCTTTCTTACAG 120  
121 ACAATCGACAAATCTTACATAAAACATTACATTAAGCCAAATATTGCAGACAGGCGGAAT 180  
181 TCAATAAACTTTGTGATGTTAGTGCAGTGGTACTTCCTATGTCAATTCTCAGTGCTCTCA 240  
241 ACTGTGTTTGAAGAACAGCTTTCCAGTAGTGGTATTTTTGTTTTTTCAGAGCAATTCTATTAGA 300  
301 GAATTGGAATTATTACTTTTTATACTTTATCTTATGACTCATTTCGTGACCAATGATTGAGC 360  
361 TGGGAACGTGATATTTGGAATGCAGTCTTTGTGTTTCGTGCACAACCTTTCACGTTTTTCGCT 420  
421 ATAGCGAAGTTTTACCACATGAAGCAGGTGGAGTTGTGAATTGATCGAGAAGCAATATTA 480  
481 AAATCAAGATCGTTGAACGACTGGATATAAAATATTGTGATATAAGTGTGTCTCAATGTA 540  
541 AATTTGTTGTGAGAAGCATGGCAGGCGCTATGTTTGATATTGAATTGCAAGATGCAGATG 600  
**1 M A G A M F D I E L Q D A D 14**  
601 TTCACCAAGATGAATCAGATGACGATGCTTTTTGAGATAGAAGAGGGTGATTACGATACGG 660  
**15 V H Q D E S D D D A F E I E E G D Y D T 34**  
661 ATCCAAATGTCAATGCCATAATTGAATCAGATGATGTGAAACTGTTCAACTCTCTGAGC 720  
**35 D P N V N A I I E S D D V E T V Q L S E 54**  
721 AGAATGTGAACACTGGCAAGGAGAAAAGTGGTCTCAAGATTTTTGAACTGCGTAAAGTTTT 780  
**55 Q N V N T G K E K T G P Q D F E L R K V 74**  
781 TAGGAAAGGGAGGGTATGAAAAGTGTTCAGTACGTAAAGTTACTGGACAGGACACTG 840  
**75 L G K G G Y G K V F Q V R K V T G Q D T 94**  
841 GTACCATCTTTGCCATGAAAGTGTAAAGGAAAGCTTCCATTGTGCGTAATCAAAAAGACA 900  
**95 G T I F A M K V L R K A S I V R N Q K D 114**  
901 CAGCTCACACCAAGGCAGAAAGAAATATTTTTGGAAGCAGTGAAGCACCCCTTCATTGTGG 960  
**115 T A H T K A E R N I L E A V K H P F I V 134**  
961 ATCTGATTTATGCATTTCAAAGTGGAGGCAAGCTGTATCTTATTTTTAGAATACCTTAGTG 1020  
**135 D L I Y A F Q T G G K L Y L I L E Y L S 154**  
1021 GTGGTGAACTATTTATGCATCTTGAACGAGAAGGAATATTTCTAGAAGATACAGCTTGCT 1080  
**155 G G E L F M H L E R E G I F L E D T A C 174**  
1081 TCTATCTATCAGAAATATTTTTAGCACTAGAACATTTACATTTACAAGGAATTATTTATA 1140  
**175 F Y L S E I I L A L E H L H L Q G I I Y 194**  
1141 GGGACTTGAAACCAGAAAATATATTATTAGATGCACAAGGTCATGTGAAACTAACAGATT 1200  
**195 R D L K P E N I L L D A Q G H V K L T D 214**  
1201 TCGGTCTGTGTAAGAACATATCCAAGATGGTTCTATGACACATACATTCTGTGGAACCA 1260  
**215 F G L C K E H I Q D G S M T H T F C G T 234**  
1261 TAGAATATATGGCCCAGAAAATTTTTGACTAGGAGTGGACATGGAAAAGCAGTGGACTGGT 1320  
**235 I E Y M A P E I L T R S G H G K A V D W 254**  
1321 GGTCACTTGGTGCCTTGATGTATGACATGCTAACAGGAGCACCACCATTCACTGCAGAGA 1380  
**255 W S L G A L M Y D M L T G A P P F T A E 274**  
1381 ATAGGAAGAGAACAATTGAGAAGATTTTTGAAAGGGAAGCTGAACTTACCCCGTACCTGA 1440  
**275 N R K R T I E K I L K G K L N L P P Y L 294**  
1441 CGCCTGATGCAAGAGATTTAATAAGAAAATTTACTGAAGCGCCAAATGAGCCAGAGACTAG 1500  
**295 T P D A R D L I R K L L K R Q M S Q R L 314**  
1501 GCTCAGGACCAGGTGATGGAGCTATGATAAAAATGCACTCCTTTTTTTAGACATATATGTT 1560  
**315 G S G P G D G A M I K M H S F F R H I C 334**  
1561 GGGCTGATGTGGTTGCTAGGAAATTGGAACCCCTTTTTAAACCCTGTCTGTCCTCAGATG 1620  
**335 W A D V V A R K L E P P F K P C L S S D 354**  
1621 ATGACGTATCCCAGTTTGACACAAAATTTACAAAACAGACACCAATTGATTCTCCAGATG 1680  
**355 D D V S Q F D T K F T K Q T P I D S P D 374**

1681	AATCAACCCTGAGCGAAAAGTGCCAATTTAGTGTTTCAGGGTTTCACATATGTGGCACCAT	1740
375	E S T L S E S A N L V F Q G F T Y V A P	394
1741	CAGTTTTAGAGGAAATGTATAAACCTCCACGCATAGTGAAAGCTAGATCACCTCGTAAAT	1800
395	S V L E E M Y K P P R I V K A R S P R K	414
1801	CAGCATTTTCAACAACACCTTCTTTGCGGAATCCTTTTAGTTACCAAGACATCATTAT	1860
415	S A F S T T P S L R N P F S S P R H H L	434
1861	CTCCTGCAGGCTTTTATAATTTTAGTGGAATAATCGTGATTATAGTACTATCTTAGATG	1920
435	S P A G F H N F S G N N R D Y S T I L D	454
1921	GAAACTGTCAAGAAGAAATGATGGAGATTCAAGGAGTACCTCATGTATAGCCTAGGCTTG	1980
455	G N C Q E E M M E I Q G V P H V * 470	
1981	ACAATAGCTACATTTTGAAGCAATTTATTTGACAGGGGTTGTGTTTGTGCTGAGCTTCAG	2040
2041	TCACATTTTCGTCTTATCCTTAAACTTAAACCATTGCCAATTTATTGATTGTATACTATTGT	2100
2101	GAAACTGCGTATTACTTAGCAATGACCGAAAGTGTTCAAAGGTTCTGCCGTGGCCTAACA	2160
2161	AACCAAGCATCCAAGCAAGTGAATTTACTTTGTTTTGAGCTTGAAAATCCATTATAATAC	2220
2221	AACGGTGCTAGACTCAGAATTGTCACACACATTTACACACATACACATACACACGATTTT	2280
2281	TTGTAATCTTTTAAATGCCTCAAAAATATGAAATTAATATTAATCATGAATTATGCTCTTA	2340
2341	GAATGTATATATTTGCTGTATTTATATAAGTTATTGCCTGTAATTTGATTTGTATACATA	2400
2401	TTTTGATAAGTTTCTTGCAAGCTGTAGCCTTTCCTGTCTTCAATTTCAATATATTACATT	2460
2461	TTTAGTGTTAACTATTGATATATGTTCTGCATATTTTGTACATACGTTTGTGGGTCTTT	2520
2521	TTCTTCAAAGATTGTGGAATTATAGATTGACAAAAACATTTAACTCTTTACATTGTATAC	2580
2581	TTTCTTATTCCTTACCTACCTCTCCTAAAAATTTATACCTGAAAAGATACTAGTCTTCT	2640
2641	TCCTACAAGTTGCTTAAAAGCACATGCAATTGTTCTTATGACTGTTTATTAATATCAAGA	2700
2701	AAACGACTCTTGAGAACAATGTTGACACACATTCCATTATTAATGCCTAGTACATTCTT	2760
2761	TACAAGATTCTTTAGAAGTCAGGTTGAAGTTACGCTAAGAGCATAATTTATGACAATTT	2820
2821	GCTGTTCTTAACTGTTTCTGGTATAGAGCATCATGTATTGTGTTTATATTGTTAATTTCA	2880
2881	AGAGGCTCTGCAACATTATTTTGGGGACATTTTTCCCCTCTTTAAATTTTTTCCCCC	2940
2941	TTCTTTTGCAATGCTTTTTAATTTATTTTTTTTTTCTTCTTCTTTTTTTAAATAGTGAATT	3000
3001	GGTTGTTTCTAACTCTATTACCATATTTACTCAAATATAAGACATTACCCTTAAATTTTG	3060
3061	AAGAGACCTCCTAAGAACGTATAAAATTTTTAATTTTGTCTTACTTTTTAATGAAATTA	3120
3121	ATGTGTAGAAAATTGTCTTGATGAGAATGTTTAAATGAATTGCCTGAGCTATTGCAATTT	3180
3181	TCTTGTTCTTGAAATCATAATTATGTATTTTGTACCACCATCTTCACATGTATAATTG	3240
3241	TTTCTTCTTTATGGTCCTCCTCCTATGTCTGTATTGATTACTTTGGTTTTTAGACCTCT	3300
3301	CTG 3303	

図 S12 フタホシコオロギの p70S6K のコンティグの塩基配列と演繹アミノ酸配列

黒数字は塩基配列の番号を示し、赤数字は演繹アミノ酸配列の番号を示す。\*は終止コードを示す。



Gryllus bimaculatus 1 ----MAGVFDIDLDQADVHQD---ESDDDAFEIEEED-YD----TDPNVNAIIESSDDVETVQLSSEONV  
Tribolium castaneum 1 MANSTRRYRAFGVSRSLR-IV-SSQSGDADFAVGVEEAG-----PTEGEHEHEI-GELV  
Homo sapiens 1 ----MAGVFDIDLDQPEDA-----GSED---EIEECCQLNESMDHGGVGPYELGMHECCKFEISSTSV  
Drosophila melanogaster 1 MADVSDPSELFDLEIHDLEIQQDKARDSDDDRIELEDDVD-LE----PELCINLHQDEEGQETIQIQCEENV

Gryllus bimaculatus 58 NTGKEKTPQDFEELKVLGKGGYGKVFQVRKVTGODTCTIFAMKVLKKAIVRNQKDTAHTKAERNILEA  
Tribolium castaneum 52 RNCGDKADPSQFELKVLGEGSFGKVFIVRKVVGADNGRLVAMKVLKKAIVKVV--RDRHRTKVERNILVD  
Homo sapiens 57 NRCPEKIRPECFEELKVLGKGGYGKVFQVRKVTGANTCKIFAMKVLKKAIVRNQKDTAHTKAERNILEE  
Drosophila melanogaster 66 NPKIKLGPKEFELKVLGKGGYGKVFQVRKVTAGRDANVYFAMKVLKKAIVRNQKDTAHTKAERNILEA

Gryllus bimaculatus 128 VKHPFIVDLIYAFQTGGKLYLILEYLSGGELFMHLEREGIFLEDTCFYISETIILALCHLHKLGIITYRDL  
Tribolium castaneum 120 VEHPFIVKLIYAFQTAGKLYLILEYLRGGDLSEKLSKEVMTEDVKFYLAETALALNHLHTTIGIITYRDL  
Homo sapiens 127 VKHPFIVDLIYAFQTGGKLYLILEYLSGGELFMHLEREGIFMEDTCFYLAETSMALCHLHKLGIITYRDL  
Drosophila melanogaster 136 VKHPFIVELIYAFQTDGKLYLILEYLSGGELFMHLEREGIFLEDTCFYISETIILALCHLHKLGIITYRDL

p70S6K 触媒ドメイン

Gryllus bimaculatus 198 KPENILLDAQGHVKLTDFGLCKEHTIDGCSMHTTFCGTIEYMAPEIILTRSGHGKAVDWWSLGAIMYDMLTG  
Tribolium castaneum 190 KPENVLLDADGHTALTDGFLSKLPTEECK-AYSFCGTVEYMAPEVVRNRKSHSBAADWWSFGVLMFEMLTG  
Homo sapiens 197 KPENIMLNHQGHVKLTDFGLCKESHIDGCTVHTTFCGTIEYMAPEIILMRSGHNRAVDWWSLGAIMYDMLTG  
Drosophila melanogaster 206 KPENILLDAQGHVKLTDFGLCKEHTIDGCTIVHTTFCGTIEYMAPEIILTRSGHGKAVDWWSLGAIMFDMLTG

Gryllus bimaculatus 268 APPFTAENRKFTIEKILKCKLNLPAYLTPDARDLVRRLKRMKMSORLGSQPGDAGMVKMHSFFPHIHWAD  
Tribolium castaneum 259 SLPFOCANRRDTMTQILKAKLGMKANLSEASQSLRRLKRNIPANRLGAGPGGVEDLKKHEFFATIDPDA  
Homo sapiens 267 APPFTGENRKFTIEKILKCKLNLPAYLTPDARDLVRRLKRNAAASRLGAGPGDAGEVQAEHFFPHINWEE  
Drosophila melanogaster 276 VPPFTAENRKFTIEKILKAKLNLPAYLTPDARDLVRRLKROEPORLGSQPGDAAAQIHPFFPHINWDD

Gryllus bimaculatus 338 VVARKLEPPFKPOLSSDDVVSQFDKFKTKQTPIDSPDESTLSESANLVFQGFYVAPSVLEEVKPPN-I  
Tribolium castaneum 329 LLAKKIRPEPQPAVCGPDD-AYFDSFTSKTPRDSGVP-ASANAHELFRGFSEVACILENGNVSKKSE  
Homo sapiens 337 LLARKVEPPFKPOLSEEDVVSQFDKFKTRQTPVDSRDDSTLSESANOVLFQGFYVAPSVLESVKEKFSFE  
Drosophila melanogaster 346 VLARRLEPPFKPOLRSEDDVVSQFDKFRFRQIPVDSRDDSTLSESANLVFQGFYVAPSVLEEDVHRANR-M

Gryllus bimaculatus 407 VKARSPRKSFAF-STTPSLRNPSSPRH-HLSFAGFHNSGNR-----D---YSTIL  
Tribolium castaneum 397 TPLRIMRTMERNFNDYLL--MDLGTGSYSICKLAR-KATGQQFAVKIIKKSLCDSREEHEILMRYGHH  
Homo sapiens 407 PKIRSPRRFIGSPRTPVSPVKI-----SPGDFWGGAS---ASTANPQ-----TPVE---YPMET  
Drosophila melanogaster 415 PA-RSPRRTPRQLPDSFRLOPSSANVGANALAMHGHSQSRSGMFARATPP-----HMQ---TFAPR

Gryllus bimaculatus 454 DGNCO-----EEMETQGVPHV-----  
Tribolium castaneum 465 PCIVTMKSVYEEAGKIYMVLLQLLGGDLLDYMIAKKHLAEQEAAILKTLATTVAYVHENGVHRLKPA  
Homo sapiens 456 SCIEQMDVTMSGEAS--APLPIRQP-----NSGPYKKAFFEMVSKRPE  
Drosophila melanogaster 474 PSPAQ-----DEMVDVQGLEMV-----

Gryllus bimaculatus -----  
Tribolium castaneum 535 NILFASEERTPDSVTICDMGFAKQLRADNGLLMTPCYTANFVAPEVLKRQGYDAAACDIWSLGVILYIMLS  
Homo sapiens 497 HLRMNL-----  
Drosophila melanogaster -----

Gryllus bimaculatus -----  
Tribolium castaneum 605 GRCPFSTAPSDSPHRILQRISGKLDLHNGHWSGVSQEAKMLVTDMLHIAPQRRPTAAQLVKHPWLAATA  
Homo sapiens -----  
Drosophila melanogaster -----

Gryllus bimaculatus -----  
Tribolium castaneum 675 PSLYQVQANTSQVSTPEQDAHLKETVAATFRAIATSPOVAHLGPVAMSELARRRFRDKALSRVQQNS  
Homo sapiens -----  
Drosophila melanogaster -----

図 S13 p70S6K のアミノ酸配列のアラインメント

フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)の p70S6K の演繹アミノ酸配列とヒト(*Homo sapiens*; NP\_001258989)、キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*; NP\_523941)、コクヌストモドキ(*Tribolium castaneum*; XP\_008201212)の p70S6K のアミノ酸配列のアラインメント。p70S6K 触媒ドメインを青で示した。フタホシコオロギの演繹アミノ酸配列との同一性と相同性; ヒト: 同一性; 64.5%、相同性; 73.4%、キイロショウジョウバエ: 同一性; 68.5%、相同性; 80.0%、コクヌストモドキ: 同一性; 42.3%、相同性; 56.0%。

1 GGATTATTCTGTGACCAGCCCGCCACACTGATCTTCGCCAGGCCCTGGGTACGCTAGCT 60  
61 GACGCTCTGCTCAAGCCGATTTCGGGAGTAATTCTTGAGAAGTGCGTGTTTTGGAATTTGTT 120  
121 ATAGTGTAATGTGTTTTGTGACGTCTATTTCGATACCCGGCGAGAAGAAACATGCCATCGTT 180  
1 M P S F 4  
181 TTATAAAGTTGAAATCAACCGGACCGAATGGGAGGTCCCGGAACGCTATCAGATGCTGGC 240  
5 Y K V E I N R T E W E V P E R Y Q M L A 24  
241 AGGACTAGGTTCTGGAGCCTACGGTCAAGTGTGTTGTGCAGATGACACGAAATTGGGGAT 300  
25 G L G S G A Y G Q V C C A D D T K L G I 44  
301 AAGGGTGGCTATCAAAAACTTACCCGCCCTTTTCAGTCGGCTGTCCACGCAAAGAGAAC 360  
45 R V A I K K L T R P F Q S A V H A K R T 64  
361 ATACAGAGAACTTCGTCTGCTCAAGCACATGAATCATGAAAATGTTATAGGACTTTTGG 420  
65 Y R E L R L L K H M N H E N V I G L L D 84  
421 TGTATATCATCCGTCATCTTCTCTGGAAGATTTTAAAGTGTGATCTTGTGACCCACCT 480  
85 V Y H P S S S L E D F N S L Y L V T H L 104  
481 AATGGGAGCGGACCTCCACAACATTGTTAGAACACAAAACTTTTCAGATGATCATGTACA 540  
105 M G A D L H N I V R T Q K L S D D H V Q 124  
541 GTTTCTGGTTTATCAGATATTAAGAGGTTTAAAGTATATTTCATTCTGCAGGAATTATACA 600  
125 F L V Y Q I L R G L K Y I H S A G I I H 144  
601 CAGAGACTTGAAACCATCAAATATTGCTGTAAATGAAGATTGTGAGCTGAAAATCCTGGA 660  
145 R D L K P S N I A V N E D C E L K I L D 164  
661 TTTTGGACTAGCTAGACCAACAGAAAATGAAATGACAGGCTATGTTGCTACTAGATGGTA 720  
165 F G L A R P T E N E M T G Y V A T R W Y 184  
721 CCGTGCTCCTGAGATAATGCTCAATTGGATGCATTACAATCAGACTGTGGACATCTGGTC 780  
185 R A P E I M L N W M H Y N Q T V D I W S 204  
781 TGTGGGGTGCATAATGGCTGAGCTGTTGACTGGAAGAACTTTGTTCCCTGGAACAGATCA 840  
205 V G C I M A E L L T G R T L F P G T D H 224  
841 CATTGATCATTAAACACGCATCTTAGTGCTGTGTGGCACTCCGAGCAAGGAGACGGTTGA 900  
225 I D H L T R I L V L C G T P S K E T V D 244  
901 TAAAATAACAAGTGAAGAGGCTCGGAATTACATCCAGTCATTGCCGCCCTTGAAGAAGAA 960  
245 K I T S E E A R N Y I Q S L P P L K K K 264  
961 GGACTTCAAAGAAGTTTTCAAAGGGGCGAATCCTTTAGCTATTGATCTACTTGAAAAAAT 1020  
265 D F K E V F K G A N P L A I D L L E K M 284  
1021 GCTGGAGCTAGATGCAGATAAAAGGATTACAGCAGAAGAAGCATTGGCACATCAGTACCT 1080  
285 L E L D A D K R I T A E E A L A H Q Y L 304  
1081 CAGCCAATATGCAGACCCGAATGACGAACCTATTTCTGCCCCCTATGACCAGAGCTTTGA 1140  
305 S Q Y A D P N D E P I S A P Y D Q S F E 324  
1141 GGATATGGATCTCCCTGTAGAGAAGTGGAAAGAACTGGTGTACAAGGAAGTTGTGGAGTT 1200  
325 D M D L P V E K W K E L V Y K E V V E F 344  
1201 TGTGCCTCAACTGACATGCCCCTAGATTTGTTATCATTAAAGTAGCAATCATCATAGCTTG 1260  
345 V P Q L T C P \* 351  
1261 TTGTAGAATAATGACAGTTAAGCGAGATTTCCAATTCAGTTGTTAATGTGAATGTTGCTC 1320  
1321 CTGCCAAACTTTGTGTTCAAACCTCAGTCATCTGAAACGTGCACATCTCATCGGGAGGCT 1380  
1381 AATTCTAGTAGTGAGTTGCTCTATTTTTCTTTTGTTCACAGCACTTTAAAAGTATAAGCC 1440  
1441 GTGCTTTGTACTTTCTTTATATTATGTTATAAATATGACTAAGTCATATTAAGTCCTCAT 1500  
1501 TTCTTCCTTAAATGTTATTGCTGTCCTTTTTTTTATATAGATTTTGTATTGTTAGTAGTTT 1560  
1561 TTAGAATATTTTTTATTGTTACTGATTTTAGTTGTAAAATAAACTGTGAAGTGTATTGTT 1620

1621	GTCTGTCTACTTAAGACATACTTTTGTATGTAGAGTTTGTAAGAGGGTACAAAAACAGGC	1680
1681	TGCAGAAGTGCTTTTCTAGCCTCTCCACGGGAATTGAGTGTCCAAGTGTGGCTGTAAGAA	1740
1741	TTTTTCTGTGATGATTGCACTCGAGCTCTTGCTGGGCAGCTCGGTTGCTTTCTGCATGCA	1800
1801	ATCAAAAATAAAGACAGATATTAACGTGAGTAGCTGCTCAGGTGTATGAGGGGAAGTCT	1860
1861	ATTGGCTTTTTATGTATGGATTTGTTGCCTTCACCTTGTTGTTTTGAATCGTTTCAAGTATT	1920
1921	TTTTGTTATTCTCTTAATCTTGTTGTTCTTGAATGTGATCAGTTTTTCATCTTGAGAAT	1980
1981	TTCATATTTTTCTGCTGCATCCAAACAGGCTTGCTCAAGCCAATTTGTATATAATGTTTT	2040
2041	TATATTGTTTAGTAATAATCTGAAATATTTAATGTTTGAATAAAATTTGTTTTGAAGATG	2100
2101	TGCTATTAATATTTTTCTTTTACTTGGCTGTTATATCAATTATGCAATTGAAGAAAAGTGT	2160
2161	GGGTATTAGTGAAGTATTTTTATTCTGTCACTACAGCCTTTCTAGAAGAACAGACTTGTA	2220
2221	TTCATATAAAATTATCTAAATGCAATGCATATTAATATGCAGCTTTGTATATTAAGGATTG	2280
2281	TTGACTTTCTGTTTAATGTTTATTATTTTCAACATTTAATGACTGATCACATAAAAGTTC	2340
2341	TTTTCCGTAATAAAAAGTTGGAAAACAAATTTTTCTGCGTGGTATTATTCAAACCTAAGCTT	2400
2401	GTTAACAGAATTATGTGCATCGTCCATTGAATCTCGTGATACATTTTATATTTAGTGATT	2460
2461	CTTTAAAAAAGTAGAAAGCACTGAACATTTAGCATGTGCATATGGCAGTTGATGAAGAGT	2520
2521	AAATTACTAATGATTTTTTGGTAATTTCTTAACATGTAATAATGCTTTATTTTTCTTTTCA	2580
2581	AGATTTCTAATAGAAATACTAAAATATCAATTTCTGTTATAGTGCTAACATTCGTATTGT	2640
2641	TGACATGTGCTAGTGTAAACTTTGAGTGAGTTTAATTTCTGCATTAATGTGTCTCAGAA	2700
2701	AATCATATGGTCAGTTGAAAGGAATTATTGATTGGCTGTTGATGATTTTTTCAATTTTTTC	2760
2761	TATCACTGGGGACCAATATATTTTTTATGAAAATTTTCTCATCTGTAACCTGCTCATTTT	2820
2821	TGCATAAGAAATGTATGGCATCAGTGAAAGTGAATCAATTCCTATAAAAATGTGTATAGA	2880
2881	TTAGTAAGTTTTGTAAATTTGCTAGTGAAAAGTAAATTTGCTAGTTGATCTCAGACTTGCA	2940
2941	GAGTCTGAATTTTGTGCATATTAATAGGTTGTGCAAAAACCACCTATTCTCAGGCTTTGT	3000
3001	GCCAGTGACAGTTGTTGGCATCCAAGGGTTGTGCGAGGTCTACACCTCTGCTTTATCATA	3060
3061	ACAGTTATAGTGTTACGCACATGGCAATATTGAAAAAAAACCTTGATTTTTAATTAATA	3120
3121	CATAAATGTATCTAATGTGTATATATTTATAATTTACTACAGTAATATTGATTTACTCGCT	3180
3181	ATTTAACAGTTACATCATTGAATGATATATTTTATAAATTTGCAATAAAGAGTAATAAATG	3240
3241	AATTAATTTTATTGAATCAGGAAGCATAAAAATTTTGCCCTTGATGTATGTGAGTTGTGG	3300
3301	CTATTAATCATGTTATGAAATAAAAGTTATTTTTTGTGCAATTTTTAAATATCTCTTGTC	3360
3361	ATTTTGCATTCCAGATAAACATCCACTCCTGGTAACTTATTGAGAAAGACCTTTTCAAGTCT	3420
3421	TTTATACTAATTTGATTTTTTTTTAAAGGAAATGGAGTCCTTGTGTGTTTCTTTAAAGTACA	3480
3481	TTGAAGGAAAAGGAGCAAAGACAGTTAACTATGTATGGAATCATAAAAATAGCACAAATG	3540
3541	TAAAGAAGTTAGTGTAAACCAACAAGCAATTTAACAGTATTCCAATTTATTAGACAATA	3600
3601	TCATCACCTGTTTTCTACAATGGCAGTGTTTATTTGGGTGAAAGAGAGTGGCAGGAGAGG	3660
3661	AGAGGCGTGACTTGCATCCAACAACACTGCATTAATTAATATGGCACTCAGCATTTCTCT	3720
3721	TCCGCTCCTCTTGGTCACAAAAATTTACATTTATTATTATAGAATGGGGTAGAAACTCGA	3780
3781	AAAAATACCAATCTCCTTTCTTATTCTAATGGTACATAATCTCAAAATATCTAAAGATTT	3840
3841	TACAAGGAATCGATGCTGGAATGCAGTGGGCAACTTATGTTGGACACTCAAGTCAAGG	3900
3901	ACCCTCTGGTATGTTCAATGGTCTGACTTTTACTAAGTAGGTGACTAGCCTGCACATTA	3960
3961	ATTTGTGGTGTAATAAAGTAGTAACAGGTCAATGAAACATTTAAGCATATTGCCTTAGCT	4020
4021	CTGTTTTCTAAAAACCAACATTAGGCGCACCACTGGTACAATCGTATAAAAATTACAAAT	4080
4081	TTTTATTTTGTGATCCACATAATTAATGGTTAAAAAATAGTTAAAGTGTGAGTCCCTTT	4140
4141	CATTTACAATTAATAATTTTACACACTTAAGTAAAAGGAATATAGCACCAATACACTT	4200
4201	TGCGTCTGCGACTTTTATGCATTTATGTAATGGAGACAGTCACATGGTCAATGTC	4255

図 S14 フタホシコオロギの Erk5144 のコンティグの塩基配列と演繹アミノ酸配列

黒数字は塩基配列の番号を示し、赤数字は演繹アミノ酸配列の番号を示す。\*は終止コドンを示す。

1 AAGTGAGTATCGAAAATACGGAACGCTTCTTGTGGCGGGTAGCGTAAGCTTTTCACTTTCGC 60  
61 AAGGTAGTTGTCAAAATGGCGGGCGGAAGGAGTAAGTGCTCCTGCAGGGAACCCCAATGCG 120  
1 M A A E G V S A P A G N P N A 15  
121 GAAATTGTTTCGAGGGCAAGTATTTGAAGTGGGCCCTCGTTATACGAACCTTTCTTACATC 180  
16 E I V R G Q V F E V G P R Y T N L S Y I 35  
181 GGAGAAGGAGCATATGGAATGGTAGTATCTGCCTACGACAACGTAACAAAACTAAAGTG 240  
36 G E G A Y G M V V S A Y D N V T K T K V 55  
241 GCTATCAAGAAAATATCTCCCTTTGAACACCAGACCTACTGCCAAAGAACACTCCGAGAA 300  
56 A I K K I S P F E H Q T Y C Q R T L R E 75  
301 ATAAAGATCCTCACAAGGTTTAAACATGAAAATATCATAGATATCAGAGATATCCTTCGG 360  
76 I K I L T R F K H E N I I D I R D I L R 95  
361 GCGGTAACAATCGACCAGATGAAGGACGTGTACATCGTCCAATGCCTCATGGAGACAGAC 420  
96 A V T I D Q M K D V Y I V Q C L M E T D 115  
421 CTCTATAAGCTTCTTAAGACGCAGAGGCTTAGTAACGACCACATTTGCTACTTTCTGTAC 480  
116 L Y K L L K T Q R L S N D H I C Y F L Y 135  
481 CAAATACTCCGTGGCCTCAAGTACATTCATTACAGCAAATGTTCTGCATCGAGACTTGAAG 540  
136 Q I L R G L K Y I H S A N V L H R D L K 155  
541 CCAAGTAATCTTCTTCTCAACACTACGTGTGATCTCAAGATTTGCGATTTTCGGCCTTGCT 600  
156 P S N L L L N T T C D L K I C D F G L A 175  
601 CGAGTAGCGGATCCTGATCACGACCACACTGGATTTTTGACTGAATATGTGCGCCACCCGA 660  
176 R V A D P D H D H T G F L T E Y V A T R 195  
661 TGGTATCGAGCACCCGAGATTATGCTGAATTCAAAGGGCTACACCAAATCCATTGATATC 720  
196 W Y R A P E I M L N S K G Y T K S I D I 215  
721 TGGTCAGTAGGCTGTATTCTAGCAGAGATGTTATCCAACCGACCAATTTTCCCTGGAAAG 780  
216 W S V G C I L A E M L S N R P I F P G K 235  
781 CATTACTTGGATCAGCTAAATCATATCCTGGGAGTTTTGGGCTCTCCAACACCAGAAGAT 840  
236 H Y L D Q L N H I L G V L G S P T P E D 255  
841 CTGGAATGTATTATAAACGAGAAAGCCCCGGAGTTACCTGCAGTCGTTGCCATACAAGCCC 900  
256 L E C I I N E K A R S Y L Q S L P Y K P 275  
901 AAAGTTCGGTGGGTCAAACCTCTTTCCCAATGCTGATCCAAAGGCATTGGACTTGTGGAC 960  
276 K V P W V K L F P N A D P K A L D L L D 295  
961 AAAATGCTAACCTTCAATCCTCACAAATCGGATAGGTGTTGAAGACGCACTGGCTCATCCT 1020  
296 K M L T F N P H N R I G V E D A L A H P 315  
1021 TACCTGGAGCAGTACTATGATCCTGCTGATGAGCCTGTTGCTGAAGAGCCATTCCGTTTT 1080  
316 Y L E Q Y Y D P A D E P V A E E P F R F 335  
1081 TCCATGGAGTTGGACGATCTTCCGAAAGAACTCTGAAGAAATACATATTTGATGAAACA 1140  
336 S M E L D D L P K E T L K K Y I F D E T 355  
1141 GTGCAATTTAAACAGAAACTTGCACAGGAAGCAAATAACATGTAGTGCAATGGATGATAA 1200  
356 V Q F K Q K L A Q E A N N M \* 369  
1201 TTCCATATGTGGCCATGGCCAGAATTCTGCCGTCACTTGTGTTAATGTTGTCAGGCAGTT 1260  
1261 GCCATGCAGCCTCTCTCCCATCTGGCACCTCACTAGAGAACCTGGGAGTGATTGAGGCTG 1320  
1321 GGCATATCTTATCATCATGAGACAACCTCACTTTAATAAGATTAATAAAGATAAATAATAA 1380  
1381 TTGTTATAGACTTATTTGTGTGTTTTGGGTCATTTGTCTTTTGTCTGTGATTAAGTAA 1440  
1441 AAATCTTCATTCTACCTCCCTTCCCTTGCTGATGTGTAGATGGGACTGATCCCTAACCCAA 1500  
1501 TTTTCGCATTATATATTACACTGTTGTTTAGCATTTCAAATTATCTTTGCCCTGTGACA 1560

1561	ATGGAACCTTAGTATTGTTTGGTTTTGCCATCTGACTAGTATTACACTGTCACAATGCAGA	1620
1621	GTGTTGAGGAATTTTAAATTTTATCCATTAATGGGTAGATATTTATATCTCCAAATAAAC	1680
1681	CATATCCACCTGTCTCATGACCCATAAACCTCTCGGTTTTCTCTGTTTAAATACAATCTCTT	1740
1741	GTTGTCTTGTGTATATAAGCATGCCATACTTTTCATCATGTCTGTAAGTGTGTATTTAAA	1800
1801	AGAACATATGATATAATGCAACTGGTTGCAGAAGACAAATAATTTGAGCCATAAACTTAT	1860
1861	TTTAATTGTTTAAAAATAAAATGATGGTTGTGTGATGAAAATTTAAATTCATACAATTTT	1920
1921	GGGAGGTCCTTCAAGATACTTTGTAATTATTATGTAGATTAGTTTCATTTACTCAGAAAA	1980
1981	TTTAAAAAGCACAACTACTGAAAGGTGAAACTGTGAGACAAAATGCCTCCCTGGAAAAGCG	2040
2041	CATTCATGCAAGTTCATGAATGTGATCAGGGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTGTAATGTTGT	2100
2101	GTGAGTAGTCTGAATGCAGGAGAGAAGTGAATGTCAAAAGTCAGTTCAGAAAAACAAA	2160
2161	ATGTTACAAAAATATGACATCATGTGGCCTAAAACTTTTGAAATTTACTTCAAACCTGTCA	2220
2221	ACTGTGTCTCCCTAAGGCACCTTTAGCCTCCATATAGACTAGACCACCGCCTCAGGTAGTT	2280
2281	CTACAAGATTTAGATATCCAATTCATTGTCACAACAGGAACTGTTGGAACCTGTTGGTG	2340
2341	CTCATGGTCGTAGCACCGGAGCTACATGAGTGGGAAAACAACCTATTGGTTTTATTTACA	2400
2401	TTTGATAAAAACCTGCATCTTTCTTATTAGAGAGCATTGGCTCTTCCCATTTTAGTGTACC	2460
2461	TGTACAAGTAAATTTGCCATGTCATACGCAAATATACCATGCATCAGAGGGTATATTGGAA	2520
2521	TTCTTGATGGAACTGTTAAATATAAACAATACTAATTCATGCCAATGTTGTGAATAATG	2580
2581	TCATTTATCAGTCTATCTTACTTTTCATGCGACTTTTTCACTTCGTTCAAATCAATCTTTT	2640
2641	ATGTTTCAGTGATTATGACTTTAGTTTTTTGTAAGTGTATATAACAACCTGTTATACAAAAT	2700
2701	ATATTATTGCACCTTTTGTAAACATATTGAAATACTGTGAATAATTAGTGTGATATGATCTA	2760
2761	TGTGTGTGTTTTATTGTGCTGGTTTTATTAACATTTGCTGTAGGGAATGTTATGAGTTAA	2820
2821	ACAATCAAGAAAGTATTTATGTACTTAAACTGACATTAATGAATTGCAGAATTGTGTACA	2880
2881	TTTACTCATTAATATAAGTATCATAGCCTTCCACTATGTTGAAAATACATGGCAAATG	2940
2941	TCCTTTACAGTAAGAAAAAAGAAAGAAATTTAACATTTGTTGCTATTGAAACTAGTAGCT	3000
3001	AGCCATTTACAAGGTCATAGATGACGAAATCCAAGTTGAGTCTTCTCATCCACATCAT	3060
3061	AATACTGTTTCAGCAATGCCTGGGTCAGCATGTTTTAGGAATAACTGTAAATAACCTGGTG	3120
3121	AGGGGAGGAAGACTCTTCTAATGTACCATTATTTTTCAAGAAGATTGTAACCTACGCAGAG	3180
3181	CAAGCAAACACCCAAAGTTTTATTTTCAGGAAAATAAAGGCTTAGAGAAAACCTATTTCAGGA	3240
3241	GTTGCAGCTGGAGACTTTTATTTCTGCTGCTGCAATATAGTGTTTTAAGAAGCAACAATAT	3300
3301	TTAAATTTTGATCTCCCAAACCTCTAATACTTCCTCTCAATTATGTTTTGACCCCAATTCT	3360
3361	AGCAATAAGTTACTAAACAAGTAATTGTCAATGCGTTCTGTCAACAGACTGTAGATAATG	3420
3421	GCTAGCTGACAGTGCCCCAATTGATAAATAAGTACTTTCCATATATAAGGTGAGCAGGCA	3480
3481	TATTGCCTCATTATTATTATATACATAGTAACGGGCTATTATAAGAACATAGTTAAATGTT	3540
3541	TTGCTGTTAAATTTTTCTACCTCTTTTGGTGAATGAATTGCCATTTTTTAGTAATGTGTG	3600
3601	CAAAAAGGTGCCTTTTTCATTGTGTAAGAAGATTGTCAATGAACTTGTGGTTTTCTGTG	3660
3661	AAAATGAATTTCTCAAAGAATTTTTTTCAGTGCTCTCAAAGTGGCTTGTGGGCATAGTA	3720
3721	TGGACGTGGTATTTTTGCGTATGTACAGTTGTTATAACTACATCAAATTAACAACCTTGC	3780
3781	AAGTCAATGCTGGGATTTGTCCAGTACATGAACATGGTTATACTGTTTGTCACTCGTTTG	3840
3841	AGTAAAACATTTCCAGTTTTCTCCATATATACAGTATTATTATACTTATTATTCATTATA	3900
3901	TTGTTGTGCTGAAATAAAAAGCTTTGTTGGCAATATTTCTTTTTTCTTTTTTTTAAATGC	3960
3961	TTCCCTTGTTATGAAAACCTCAAGCTGGC	3987

図 S15 フタホシコオロギの Erk7777 のコンティグの塩基配列と演繹アミノ酸配列

黒数字は塩基配列の番号を示し、赤数字は演繹アミノ酸配列の番号を示す。\*は終止コドンを示す。



Gryllus bimaculatus 5144	1	-----MPSFYKVEINRTEWEVPERYQMLAGLCSGAYGOVCCDDTKLGIKVAIKKI--TRPFSQSAVHA
Gryllus bimaculatus 7777	1	MAAEGVSAPAGNPNAEIVRGQVEVGPRTYTNLSYIGEGAYGMVVSAYDNVTKKVAIKKI--SPFEHQTYC
Homo sapiens	1	-----MAAAAAGAGPEMVRGQVEDVGPRTYTNLSYIGEGAYGMVCSAYDNVNVKVRVAIKKI--SPFEHQTYC
Tribolium castaneum	1	-MAEATGVSSVNPNAEIVRGQVEVGPRTYTNLSYIGEGAYGMVVSALDTATNKKVAIKKI--SPFEHQTYC
Drosophila melanogaster	1	-----MSVSITKKFYKLDINRTEWEVDPDLYOGLQPVCSGAYGOVSKAVVRGTNMHVAIKKIARPFQSAVHA
Gryllus bimaculatus 5144	62	KRTVRELRLIKHMHENVIIGLDIVYPS---SSEDFNSLYLVTHLMGADLHNIVRQKLSDDHVOQLVY
Gryllus bimaculatus 7777	70	QRTIREIKILTRFKHENIIDIRDILRA---VFIDQMKDYYIVQCLMETDLYKALKTORLSNDHICMFLY
Homo sapiens	66	QRTIREIKILTRFKHENIIGINDILRA---VFIDQMKDYYIVQCLMETDLYKALKTORLSNDHICMFLY
Tribolium castaneum	69	QRTIREIKILTRFKHENIIDIRDILRA---VFIDQMRDYYIVQCLMETDLYKALKTORLSNDHICMFLY
Drosophila melanogaster	67	KRTVRELRLIKHMAHENVIIGLDIEHPHPANGSLENFOQVYLVTHLMDADLNNIVRQKLSDDHVOQLVY
Erk 触媒ドメイン		
Gryllus bimaculatus 5144	129	QILRGLKYIHSACIHRDLKPSNLAVNEDCELKIIDFGLARPTEN-----EMTGVVATRWYRAPEIMLN
Gryllus bimaculatus 7777	136	QILRGLKYIHSANVHRDLKPSNLDINTTCDLKICDFGLARVADPDHDHTGFTTEYVATRWYRAPEIMLN
Homo sapiens	132	QILRGLKYIHSANVHRDLKPSNLDINTTCDLKICDFGLARVADPDHDHTGFTTEYVATRWYRAPEIMLN
Tribolium castaneum	135	QILRGLKYIHSANVHRDLKPSNLDINTTCDLKICDFGLARVADPEHDHTGFTTEYVATRWYRAPEIMLN
Drosophila melanogaster	137	QILRGLKYIHSACVHRDLKPSNLAVNEDCELRIIDFGLARPTEN-----EMTGVVATRWYRAPEIMLN
Gryllus bimaculatus 5144	193	WMHYNQTVDIWSVGCIMAEILLGRTEFPGTDHIDHILTRILVLCCTPSKETVDKITSSEARNYIQSLEPLK
Gryllus bimaculatus 7777	206	SKGYTKSIDIWSVGCILAEMLSNRPFPPCKHYDQLNHILGLGSPTEPDLKINIEKARSYIQSLEYKPK
Homo sapiens	202	SKGYTKSIDIWSVGCILAEMLSNRPFPPCKHYDQLNHILGLGSPTEPDLKINIEKARSYIQSLEPHKN
Tribolium castaneum	205	SKGYTKSIDIWSVGCILAEMLSNRPFPPCKHYDQLNHILGLGSPTEPDLKINIEKARSYIQSLEYKPK
Drosophila melanogaster	201	WMHYDQTVDIWSVGCIMAEILLRRTLFPGTDHIDHQLNLIEMLGTEPAEELKKTISSESARSYIQSLEPMK
Gryllus bimaculatus 5144	263	RKDKKEVEKGANPLADLLEKMLELDADKRTTAEBAALAHQYLSOYADPNDEPIS-APYDQSFEDMDLPEV
Gryllus bimaculatus 7777	276	KVPVVKLEPNADPKALDLDLKMILTFNPHNRIGVEDALAHYPYLEQYVDPADPEVAEAPFRFSMELDDLEKE
Homo sapiens	272	KVPVNRLEPNADSKALDLDLKMILTFNPHKRIEVEQALAHYPYLEQYVDPSEDEPAEAPFKFDMELDDLEKE
Tribolium castaneum	275	KVPVSKLEPNADPKALDLDLKMILTFNPHKRIEVEGSLAHYPYLEQYVDPADPEVAETPFREDFTELDLLEPKD
Drosophila melanogaster	271	GRSFKNVEKGANPLADLLEKMLELDAEKRTTAEBAALSHYPYLEKYAEPESVEQTS-PPYDHSFEDMDLPEV
Gryllus bimaculatus 5144	332	KWKELVYKEVVEFVPLTCP-----
Gryllus bimaculatus 7777	346	TLKKYIIDEETVQFKQKLAQEANM----
Homo sapiens	342	KLKELIEEETARFQPGYRS-----
Tribolium castaneum	345	QLKRIIIDEETILFKQRQQEQQAMAAS
Drosophila melanogaster	340	KWKELIYKEVTNEKPPPSYAQLKDVK-

図 S16 Erk のアミノ酸配列のアラインメント

フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)の Erk5144 と Erk7777 の演繹アミノ酸配列とヒト (*Homo sapiens*; NP\_620407)、キイロシヨウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*; AAB97138)、コクヌストモドキ(*Tribolium castaneum*; XP\_966833)の Erk のアミノ酸配列のアラインメント。Erk 触媒ドメインを青で示した。Erk5144 の Erk7777 との同一性; 45.9%、相同性; 61.5%。Erk5144 の演繹アミノ酸配列との同一性と相同性; ヒト: 同一性; 47.9%、相同性; 62.4%、キイロシヨウジョウバエ: 同一性; 76.4%、相同性; 84.0%、コクヌストモドキ: 同一性; 45.9%、相同性; 61.0%。Erk7777 の演繹アミノ酸配列との同一性と相同性; ヒト: 同一性; 82.4%、相同性; 86.2%、キイロシヨウジョウバエ: 同一性; 43.1%、相同性; 58.3%、コクヌストモドキ: 同一性; 88.6%、相同性; 91.9%。

## 参考文献

- Adams, M.D., Celniker, S.E., Holt, R.A., Evans, C.A., Gocayne, J.D., Amanatides, P.G., Scherer, S.E., Li, P.W., Hoskins, R.A., Galle, R.F., George, R.A., Lewis, S.E., Richards, S., Ashburner, M., Henderson, S.N., Sutton, G.G., Wortman, J.R., Yandell, M.D., Zhang, Q., Chen, L.X., Brandon, R.C., Rogers, Y.H., Blazej, R.G., Champe, M., Pfeiffer, B.D., Wan, K.H., Doyle, C., Baxter, E.G., Helt, G., Nelson, C.R., Gabor, G.L., Abril, J.F., Agbayani, A., An, H.J., Andrews-Pfannkoch, C., Baldwin, D., Ballew, R.M., Basu, A., Baxendale, J., Bayraktaroglu, L., Beasley, E.M., Beeson, K.Y., Benos, P. V, Berman, B.P., Bhandari, D., Bolshakov, S., Borkova, D., Botchan, M.R., Bouck, J., Brokstein, P., Brottier, P., Burtis, K.C., Busam, D.A., Butler, H., Cadieu, E., Center, A., Chandra, I., Cherry, J.M., Cawley, S., Dahlke, C., Davenport, L.B., Davies, P., de Pablos, B., Delcher, A., Deng, Z., Mays, A.D., Dew, I., Dietz, S.M., Dodson, K., Doup, L.E., Downes, M., Dugan-Rocha, S., Dunkov, B.C., Dunn, P., Durbin, K.J., Evangelista, C.C., Ferraz, C., Ferreira, S., Fleischmann, W., Fosler, C., Gabrielian, A.E., Garg, N.S., Gelbart, W.M., Glasser, K., Glodek, A., Gong, F., Gorrell, J.H., Gu, Z., Guan, P., Harris, M., Harris, N.L., Harvey, D., Heiman, T.J., Hernandez, J.R., Houck, J., Hostin, D., Houston, K.A., Howland, T.J., Wei, M.H., Ibegwam, C., Jalali, M., Kalush, F., Karpen, G.H., Ke, Z., Kennison, J.A., Ketchum, K.A., Kimmel, B.E., Kodira, C.D., Kraft, C., Kravitz, S., Kulp, D., Lai, Z., Lasko, P., Lei, Y., Levitsky, A.A., Li, J., Li, Z., Liang, Y., Lin, X., Liu, X., Mattei, B., McIntosh, T.C., McLeod, M.P., McPherson, D., Merkulov, G., Milshina, N. V, Mobarry, C., Morris, J., Moshrefi, A., Mount, S.M., Moy, M., Murphy, B., Murphy, L., Muzny, D.M., Nelson, D.L., Nelson, D.R., Nelson, K.A., Nixon, K., Nusskern, D.R., Pacleb, J.M., Palazzolo, M., Pittman, G.S., Pan, S., Pollard, J., Puri, V., Reese, M.G., Reinert, K., Remington, K., Saunders, R.D., Scheeler, F., Shen, H., Shue, B.C., Sidén-Kiamos, I., Simpson, M., Skupski, M.P., Smith, T., Spier, E., Spradling, A.C., Stapleton, M., Strong, R., Sun, E., Svirskas, R., Tector, C., Turner, R., Venter, E., Wang, A.H., Wang, X., Wang, Z.Y., Wassarman, D.A., Weinstock, G.M., Weissenbach, J., Williams, S.M., WoodageT, Worley, K.C., Wu, D., Yang, S., Yao, Q.A., Ye, J., Yeh, R.F., Zaveri, J.S., Zhan, M., Zhang, G., Zhao, Q., Zheng, L., Zheng, X.H., Zhong, F.N., Zhong, W., Zhou, X., Zhu, S., Zhu, X., Smith, H.O., Gibbs, R.A., Myers, E.W., Rubin, G.M., Venter, J.C., 2000. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science* **287**, 2185–2195.
- Adlakha, V., Pillai, M.K.K., 1976. Rôle of male accessory gland substance in the regulation of blood



- intake by mosquitoes. *J. Insect Physiol.* **22**, 1441–1442.
- Agrawal, N., Delanoue, R., Mauri, A., Basco, D., Pasco, M., Thorens, B., Léopold, P., 2016. The *Drosophila* TNF Eiger is an adipokine that acts on insulin-producing cells to mediate nutrient response. *Cell Metab.* **23**, 675–684.
- Alfonso-Parra, C., Ahmed-Braimah, Y.H., Degner, E.C., Avila, F.W., Villarreal, S.M., Pleiss, J.A., Wolfner, M.F., Harrington, L.C., 2016. Mating-induced transcriptome changes in the reproductive tract of female *Aedes aegypti*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **10**, e0004451.
- Almáida-Pagán, P.F., Rubio, V.C., Mendiola, P., De Costa, J., Madrid, J.A., 2006. Macronutrient selection through post-ingestive signals in sharpshout seabream fed gelatine capsules and challenged with protein dilution. *Physiol. Behav.* **88**, 550–558.
- Andoh, T., 2016a. Insulin family, in: Takei, Y., Ando, H., Tsutsui, K. (Eds.), Handbook of Hormones. Elsevier, 155-e19-1.
- Andoh, T., 2016b. Subchapter 19A. Insulin, in: Takei, Y., Ando, H., Tsutsui, K. (Eds.), Handbook of Hormones. Elsevier, 157–160, e19-2-e19-3.
- Anselmi, B., Conconi, M., Veyrat-Durebex, C., Turlin, E., Biville, F., Alliot, J., Friguet, B., 1998. Dietary self-selection can compensate an age-related decrease of rat liver 20S proteasome activity observed with standard diet. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* **53**, B173–B179.
- Arrese, E.L., Soulages, J.L., 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annu. Rev. Entomol.* **55**, 207–225.
- Badisco, L., Claeys, I., Van Hiel, M., Clynen, E., Huybrechts, J., Vandersmissen, T., Van Soest, S., Vanden Bosch, L., Simonet, G., Broeck, J. Vanden, 2008. Purification and characterization of an insulin-related peptide in the desert locust, *Schistocerca gregaria*: Immunolocalization, cDNA cloning, transcript profiling and interaction with neuroparsin. *J. Mol. Endocrinol.* **40**, 137–150.
- Bai, H., Kang, P., Tatar, M., 2012. *Drosophila* insulin-like peptide-6 (dilp6) expression from fat body extends lifespan and represses secretion of *Drosophila* insulin-like peptide-2 from the brain. *Aging Cell* **11**, 978–985.
- Barnes, A.I., Wigby, S., Boone, J.M., Partridge, L., Chapman, T., 2008. Feeding, fecundity and lifespan in female *Drosophila melanogaster*. *Proc. R. Soc. B* **275**, 1675–1683.
- Behmer, S.T., 2009. Insect herbivore nutrient regulation. *Annu. Rev. Entomol.* **54**, 165–187.
- Bentur, J.S., Dakshayani, K., Mathad, S.B., 2009. Mating induced oviposition and egg production in the

- crickets, *Gryllus bimaculatus* De Geer and *Plebeiogryllus guttiventris* Walker. *Zeitschrift für Angew. Entomol.* **84**, 129–135.
- Berthoud, H., Münzberg, H., Richards, B.K., Morrison, C.D., 2012. Neural and metabolic regulation of macronutrient intake and selection. *Proc. Nutr. Soc.* **71**, 390–400.
- Brent, C.S., Hull, J.J., 2014. Characterization of male-derived factors inhibiting female sexual receptivity in *Lygus hesperus*. *J. Insect Physiol.* **60**, 104–110.
- Brogiolo, W., Stocker, H., Ikeya, T., Rintelen, F., Fernandez, R., Hafen, E., 2001. An evolutionarily conserved function of the *Drosophila* insulin receptor and insulin-like peptides in growth control. *Curr. Biol.* **11**, 213–221.
- Carvalho, G.B., Kapahi, P., Anderson, D.J., Benzer, S., 2006. Allocrine modulation of feeding behavior by the sex peptide of *Drosophila*. *Curr. Biol.* **16**, 692–696.
- Chen, P.S., Stumm-Zollinger, E., Aigaki, T., Balmer, J., Bienz, M., Böhlen, P., 1988. A male accessory gland peptide that regulates reproductive behavior of female *D. melanogaster*. *Cell* **54**, 291–298.
- Cirera, S., Aguadé, M., 1998a. The sex-peptide gene (Acp70A) is duplicated in *Drosophila subobscura*. *Gene* **210**, 247–254.
- Cirera, S., Aguadé, M., 1998b. Molecular evolution of a duplication: the sex-peptide (Acp70A) gene region of *Drosophila subobscura* and *Drosophila madeirensis*. *Mol. Biol. Evol.* **15**, 988–996.
- Cognigni, P., Bailey, A.P., Miguel-Aliaga, I., 2011. Enteric neurons and systemic signals couple nutritional and reproductive status with intestinal homeostasis. *Cell Metab.* **13**, 92–104.
- Colombani, J., Andersen, D.S., Leopold, P., 2012. Secreted peptide Dilp8 coordinates *Drosophila* tissue growth with developmental timing. *Science* **336**, 582–585.
- Conesa, A., Götz, S., García-Gómez, J.M., Terol, J., Talón, M., Robles, M., 2005. Blast2GO: A universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics* **21**, 3674–3676.
- Cook, N.E., Kane, E., Rogers, Q.R., Morris, J.G., 1985. Self-selection of dietary casein and soy-protein by the cat. *Physiol. Behav.* **34**, 583–594.
- Cooper, W.R., Spurgeon, D.W., 2011. Laboratory studies of variations in feeding behaviors among *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) of different gender and reproductive states. *Environ. Entomol.* **40**, 367–373.
- Dabour, N., Bando, T., Nakamura, T., Miyawaki, K., Mito, T., Ohuchi, H., Noji, S., 2011. Cricket body

- size is altered by systemic RNAi against insulin signaling components and epidermal growth factor receptor. *Dev. Growth Differ.* **53**, 857–869.
- Davis, C.M., 1939. Results of the self-selection of diets by young children. *Can. Med. Assoc. J.* **41**, 257–261.
- Day, D.E., Mintz, E.M., Bartness, T.J., 2002. Diet choice exaggerates food hoarding, intake and pup survival across reproduction. *Physiol. Behav.* **75**, 143–157.
- Dial, J., Avery, D.D., 1991. The effects of pregnancy and lactation on dietary self-selection in the rat. *Physiol. Behav.* **49**, 811–813.
- Dillen, S., Zels, S., Verlinden, H., Spit, J., Van Wielendaele, P., Vanden Broeck, J., 2013. Functional characterization of the short neuropeptide F receptor in the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *PLoS One* **8**, e53604.
- Domanitskaya, E. V., Liu, H., Chen, S., Kubli, E., 2007. The hydroxyproline motif of male sex peptide elicits the innate immune response in *Drosophila* females. *FEBS J.* **274**, 5659–5668.
- Drozdetskiy, A., Cole, C., Procter, J., Barton, G.J., 2015. JPred4: A protein secondary structure prediction server. *Nucleic Acids Res.* **43**, W389–W394.
- Ejezie, G.C., Davey, K.G., 1977. Some effects of mating in female tsetse, *Glossina austeni* newst. *J. Exp. Zool.* **200**, 303–310.
- Eliautout, R., Dubrana, M.P., Vincent-Monégat, C., Vallier, A., Braquart-Varnier, C., Poirié, M., Saillard, C., Heddi, A., Arricau-Bouvery, N., 2016. Immune response and survival of *Circulifer haematoceps* to *Spiroplasma citri* infection requires expression of the gene hexamerin. *Dev. Comp. Immunol.* **54**, 7–19.
- Emmerson, D.A., Denbow, D.M., Van Krey, H.P., Hulet, R.M., El Halawani, M.E., 1991. Protein and energy self-selection of turkey hens. serum prolactin and luteinizing hormone concentrations. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Physiol.* **100**, 495–499.
- Erickson, J.C., Clegg, K.E., Palmiter, R.D., 1996. Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. *Nature* **381**, 415–418.
- Erion, R., Sehgal, A., 2013. Regulation of insect behavior via the insulin-signaling pathway. *Front. Physiol.* **4**, 353.
- Ettle, T., Mentschel, K., Roth, F.X., 2004. Dietary self-selection for organic acids by the piglet. *Arch. Anim. Nutr.* **58**, 379–388.

- Fortes-Silva, R., Rosa, P. V., Zamora, S., Sánchez-Vázquez, F.J., 2012. Dietary self-selection of protein-unbalanced diets supplemented with three essential amino acids in Nile tilapia. *Physiol. Behav.* **105**, 639–644.
- Friend, D.W., 1973. Self-selection of feeds and water by unbred gilts. *J. Anim. Sci.* **37**, 1137–1141.
- Fukumura, K., Nagata, S., 2017. Behavioral tracing demonstrates dietary nutrient discrimination in two-spotted crickets *Gryllus bimaculatus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **8451**, 1–4.
- Géminard, C., Rulifson, E.J., Léopold, P., 2009. Remote control of insulin secretion by fat cells in *Drosophila*. *Cell Metab.* **10**, 199–207.
- Gioti, A., Wigby, S., Wertheim, B., Schuster, E., Martinez, P., Pennington, C.J., Partridge, L., Chapman, T., 2012. Sex peptide of *Drosophila melanogaster* males is a global regulator of reproductive processes in females. *Proc. Biol. Sci.* **279**, 4423–32.
- Grönke, S., Clarke, D., Broughton, S., Andrews, T.D., Partridge, L., 2010. Molecular evolution and functional characterization of *Drosophila* insulin-like peptides. *PLoS Genet.* **6**, e1000857.
- Gustafson, B., Hedjazifar, S., Gogg, S., Hammarstedt, A., Smith, U., 2015. Insulin resistance and impaired adipogenesis. *Trends Endocrinol. Metab.* **26**, 193–200.
- Gutelius, M.F., 1948. Modified self-selection-method of feeding preschool children in the home. *Am. J. Public Health Nations. Health* **38**, 1118–1125.
- Haesemeyer, M., Yapici, N., Heberlein, U., Dickson, B.J., 2009. Sensory neurons in the *Drosophila* genital tract regulate female reproductive behavior. *Neuron* **61**, 511–518.
- Hakuno, F., Fukushima, T., Yoneyama, Y., Kamei, H., Ozoe, A., Yoshihara, H., Yamanaka, D., Shibano, T., Sone-Yonezawa, M., Yu, B.C., Chida, K., Takahashi, S.I., 2015. The novel functions of high-molecular-mass complexes containing insulin receptor substrates in mediation and modulation of insulin-like activities: Emerging concept of diverse functions by IRS-associated proteins. *Front. Endocrinol.* **6**, 1–18.
- Hatle, J.D., Paterson, C.S., Jawaid, I., Lentz, C., Wells, S.M., Fronstin, R.B., 2008. Protein accumulation underlying lifespan extension via ovariectomy in grasshoppers is consistent with the disposable soma hypothesis but is not due to dietary restriction. *Exp. Gerontol.* **43**, 900–908.
- Hetru, C., Li, K.W., Bulet, P., Lagueux, M., Hoffmann, J.A., 1991. Isolation and structural characterization of an insulin-related molecule, a predominant neuropeptide from *Locusta migratoria*. *Eur. J. Biochem.* **201**, 495–499.

- Ida, T., Takahashi, T., Tominaga, H., Sato, T., Sano, H., Kume, K., Ozaki, M., Hiraguchi, T., Shiotani, H., Terajima, S., Nakamura, Y., Mori, K., Yoshida, M., Kato, J., Murakami, N., Miyazato, M., Kangawa, K., Kojima, M., 2012. Isolation of the bioactive peptides CCHamide-1 and CCHamide-2 from *Drosophila* and their putative role in appetite regulation as ligands for G protein-coupled receptors. *Front. Endocrinol.* **3**, 1–8.
- Isaac, R.E., Li, C., Leedale, A.E., Shirras, A.D., 2010. *Drosophila* male sex peptide inhibits siesta sleep and promotes locomotor activity in the post-mated female. *Proc. R. Soc. B* **277**, 65–70.
- Jang, E.B., 1995. Effects of mating and accessory gland injections on olfactory-mediated behavior in the female mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *J. Insect Physiol.* **41**, 705–710.
- Judd, E.T., Wessels, F.J., Drewry, M.D., Grove, M., Wright, K., Hahn, D.A., Hatle, J.D., 2011. Ovariectomy in grasshoppers increases somatic storage, but proportional allocation of ingested nutrients to somatic tissues is unchanged. *Aging Cell* **10**, 972–979.
- Judson, C.L., 1967. Feeding and oviposition behavior in the mosquito *Aedes aegypti* (L.). I. preliminary studies of physiological control mechanisms. *Biol. Bull.* **133**, 369–377.
- Kang, M.A., Mott, T.M., Tapley, E.C., Lewis, E.E., Luckhart, S., 2008. Insulin regulates aging and oxidative stress in *Anopheles stephensi*. *J. Exp. Biol.* **211**, 741–748.
- Kim, J., Neufeld, T.P., 2015. Dietary sugar promotes systemic TOR activation in *Drosophila* through AKH-dependent selective secretion of Dilp3. *Nat. Commun.* **6**, 6846.
- Kingan, T.G., Thomas-Laemont, P. a, Raina, A.K., 1993. Male accessory gland factors elicit change from “virgin” to “mated” behaviour in the female corn earworm moth *Helicoverpa zea*. *J. Exp. Biol.* **183**, 61–76.
- Kocher, S.D., Richard, F.J., Tarpy, D.R., Grozinger, C.M., 2008. Genomic analysis of post-mating changes in the honey bee queen (*Apis mellifera*). *BMC Genomics* **9**, 232.
- Konuma, T., Morooka, N., Nagasawa, H., Nagata, S., 2012. Knockdown of the adipokinetic hormone receptor increases feeding frequency in the two-spotted cricket *Gryllus bimaculatus*. *Endocrinology* **153**, 3111–3122.
- Konuma, T., Tsukamoto, Y., Nagasawa, H., Nagata, S., 2016. Imbalanced hemolymph lipid levels affect feeding motivation in the two-spotted cricket, *Gryllus bimaculatus*. *PLoS One* **11**, e0154841.
- Kromer-Metzger, E., Lagueux, M., 1994. Expression of the gene encoding an insulin-related peptide in *Locusta* (Insecta, Orthoptera). *Eur. J. Biochem.* **221**, 427–434.

- Lagueux, M., Lwoff, L., Meister, M., Goltzene, F., Hoffmann, J.A., 1990. cDNAs from neurosecretory cells of brains of *Locusta migratoria* (Insecta, Orthoptera) encoding a novel member of the superfamily of insulins. *Eur. J. Biochem.* **187**, 249–254.
- Lawniczak, M.K.N., Begun, D.J., 2004. A genome-wide analysis of courting and mating responses in *Drosophila melanogaster* females. *Genome* **47**, 900–910.
- Lee, M.J., Goldsworthy, G.J., 1995. The preparation and use of dispersed cells from fat body of *Locusta migratoria* in a filtration plate assay for adipokinetic peptides. *Anal Biochem* **228**, 155–161.
- Li, S., Torre-Muruzabal, T., Søggaard, K.C., Ren, G.R., Hauser, F., Engelsen, S.M., Pødenphanth, M.D., Desjardins, A., Grimmelikhuijzen, C.J.P., 2013. Expression patterns of the *Drosophila* neuropeptide CCHamide-2 and its receptor may suggest hormonal signaling from the gut to the brain. *PLoS One* **8**, e76131.
- Matsumoto, Y., Sumiya, E., Sugita, T., Sekimizu, K., 2011. An invertebrate hyperglycemic model for the identification of anti-diabetic drugs. *PLoS One* **6**, e18292.
- McGraw, L.A., Clark, A.G., Wolfner, M.F., 2008. Post-mating gene expression profiles of female *Drosophila melanogaster* in response to time and to four male accessory gland proteins. *Genetics* **179**, 1395–1408.
- McGraw, L.A., Gibson, G., Clark, A.G., Wolfner, M.F., 2004. Genes regulated by mating, sperm, or seminal proteins in mated female *Drosophila melanogaster*. *Curr. Biol.* **14**, 1509–1514.
- Menting, J.G., Whittaker, J., Margetts, M.B., Whittaker, L.J., Kong, G.K.W., Smith, B.J., Watson, C.J., Žáková, L., Kletvíková, E., Jiráček, J., Chan, S.J., Steiner, D.F., Dodson, G.G., Brzozowski, A.M., Weiss, M.A., Ward, C.W., Lawrence, M.C., 2013. How insulin engages its primary binding site on the insulin receptor. *Nature* **493**, 241–245.
- Meyuhas, O., 2015. Ribosomal protein S6 phosphorylation: four decades of research. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* **320**, 41–73.
- Mortazavi, A., Williams, B.A., McCue, K., Schaeffer, L., Wold, B., 2008. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nat. Methods* **5**, 621–628.
- Nagalakshmi, V.K., Applebaum, S.W., Azrielli, A., Rafaeli, A., 2007. Female sex pheromone suppression and the fate of sex-peptide-like peptides in mated moths of *Helicoverpa armigera*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **64**, 142–155.
- Nagarajan, S., Grewal, S.S., 2014. An investigation of nutrient-dependent mRNA translation in

- Drosophila* larvae. *Biol. Open* **3**, 1020–1031.
- Nagasawa, H., Kataoka, H., Isogai, A., Tamura, S., Suzuki, A., Ishizaki, H., Mizoguchi, A., Fujiwara, Y., Suzuki, A., 1984. Amino-terminal amino acid sequence of the silkworm prothoracicotropic hormone: homology with insulin. *Science* **226**, 1344–1345.
- Nakamura, T., Yoshizaki, M., Ogawa, S., Okamoto, H., Shinmyo, Y., Bando, T., Ohuchi, H., Noji, S., Mito, T., 2010. Imaging of transgenic cricket embryos reveals cell movements consistent with a syncytial patterning mechanism. *Curr. Biol.* **20**, 1641–1647.
- Nässel, D.R., Wegener, C., 2011. A comparative review of short and long neuropeptide F signaling in invertebrates: Any similarities to vertebrate neuropeptide Y signaling? *Peptides* **32**, 1335–1355.
- Ogata, H., Goto, S., Fujibuchi, W., Kanehisa, M., 1998. Computation with the KEGG pathway database. *BioSystems* **47**, 119–128.
- Okamoto, N., 2016a. Insect insulin-like growth factor-like peptides, in: Takei, Y., Ando, H., Tsutsui, K. (Eds.), *Handbook of Hormones*. Elsevier, 371–373.
- Okamoto, N., 2016b. Insect insulin-like peptides, in: Takei, Y., Ando, H., Tsutsui, K. (Eds.), *Handbook of Hormones*. Elsevier, 368–370.
- Okamoto, N., 2016c. Insulin superfamily, in: Takei, Y., Ando, H., Tsutsui, K. (Eds.), *Handbook of Hormones*. Elsevier, 366-e45-4.
- Okamoto, N., Yamanaka, N., 2015. Nutrition-dependent control of insect development by insulin-like peptides. *Curr. Opin. Insect Sci.* **11**, 21–30.
- Okamoto, N., Yamanaka, N., Satake, H., Saegusa, H., Kataoka, H., Mizoguchi, A., 2009a. An ecdysteroid-inducible insulin-like growth factor-like peptide regulates adult development of the silkworm *Bombyx mori*. *FEBS J.* **276**, 1221–1232.
- Okamoto, N., Yamanaka, N., Yagi, Y., Nishida, Y., Kataoka, H., O'Connor, M.B., Mizoguchi, A., 2009b. A fat body-derived IGF-like peptide regulates postfeeding growth in *Drosophila*. *Dev. Cell* **17**, 885–891.
- Oldham, S., Hafen, E., 2003. Insulin/IGF and target of rapamycin signaling : a TOR de force in growth control. *Trends Cell Biol.* **13**, 79–85.
- Perry, J.C., 2011. Mating stimulates female feeding: Testing the implications for the evolution of nuptial gifts. *J. Evol. Biol.* **24**, 1727–1736.
- Prentki, M., Matschinsky, F.M., Madiraju, S.R.M., 2013. Metabolic signaling in fuel-induced insulin

- secretion. *Cell Metab.* **18**, 162–185.
- Price, G.M., 1966. The *in vitro* incorporation of [U-<sup>14</sup>C] valine into fat body protein of the larva of the blowfly, *Calliphora erythrocephala*. *J. Insect Physiol.* **12**, 731–740.
- Prout, W., 1827. On the ultimate composition of simple alimentary substances; with some preliminary remarks on the analysis of organized bodies in general. *Philos. Trans. R. Soc. London* **117**, 355–388.
- Puig, O., Marr, M.T., Ruhf, M.L., Tjian, R., 2003. Control of cell number by *Drosophila* FOXO: downstream and feedback regulation of the insulin receptor pathway. *Genes Dev.* **17**, 2006–2020.
- Ribeiro, C., Dickson, B.J., 2010. Sex peptide receptor and neuronal TOR/S6K signaling modulate nutrient balancing in *Drosophila*. *Curr. Biol.* **20**, 1000–1005.
- Richards, S., Gibbs, R.A., Weinstock, G.M., Brown, S.J., Denell, R., Beeman, R.W., Gibbs, R., Beeman, R.W., Brown, S.J., Bucher, G., Friedrich, M., Grimmelikhuijzen, C.J.P., Klingler, M., Lorenzen, M., Richards, S., Roth, S., Schröder, R., Tautz, D., Zdobnov, E.M., Muzny, D., Gibbs, R.A., Weinstock, G.M., Attaway, T., Bell, S., Buhay, C.J., Chandrabose, M.N., Chavez, D., Clerk-Blankenburg, K.P., Cree, A., Dao, M., Davis, C., Chacko, J., Dinh, H., Dugan-Rocha, S., Fowler, G., Garner, T.T., Garnes, J., Gnirke, A., Hawes, A., Hernandez, J., Hines, S., Holder, M., Hume, J., Jhangiani, S.N., Joshi, V., Khan, Z.M., Jackson, L., Kovar, C., Kowis, A., Lee, S., Lewis, L.R., Margolis, J., Morgan, M., Nazareth, L. V., Nguyen, N., Okwuonu, G., Parker, D., Richards, S., Ruiz, S., Santibanez, J., Savard, J., Scherer, S.E., Schneider, B., Sodergren, E., Tautz, D., Vattahil, S., Villasana, D., White, C.S., Wright, R., Park, Y., Beeman, R.W., Lord, J., Oppert, B., Lorenzen, M., Brown, S., Wang, L., Savard, J., Tautz, D., Richards, S., Weinstock, G., Gibbs, R.A., Liu, Y., Worley, K., Weinstock, G., Elsik, C.G., Reese, J.T., Elhaik, E., Landan, G., Graur, D., Arensburger, P., Atkinson, P., Beeman, R.W., Beidler, J., Brown, S.J., Demuth, J.P., Drury, D.W., Du, Y., Fujiwara, H., Lorenzen, M., Maselli, V., Osanai, M., Park, Y., Robertson, H.M., Tu, Z., Wang, J., Wang, S., Richards, S., Song, H., Zhang, L., Sodergren, E., Werner, D., Stanke, M., Morgenstern, B., Solovyev, V., Kosarev, P., Brown, G., Chen, H., Ermolaeva, O., Hlavina, W., Kapustin, Y., Kiryutin, B., Kitts, P., Maglott, D., Pruitt, K., Sapojnikov, V., Souvorov, A., Mackey, A.J., Waterhouse, R.M., Wyder, S., Zdobnov, E.M., Zdobnov, E.M., Wyder, S., Kriventseva, E. V., Kadowaki, T., Bork, P., Aranda, M., Bao, R., Beermann, A., Berns, N., Bolognesi, R., Bonneton, F., Bopp, D., Brown, S.J., Bucher, G., Butts, T., Chaumot, A., Denell, R.E., Ferrier, D.E.K.,



- Friedrich, M., Gordon, C.M., Jindra, M., Klingler, M., Lan, Q., Lattorff, H.M.G., Laudet, V., von Levetzow, C., Liu, Z., Lutz, R., Lynch, J.A., da Fonseca, R.N., Posnien, N., Reuter, R., Roth, S., Savard, J., Schinko, J.B., Schmitt, C., Schoppmeier, M., Schröder, R., Shippy, T.D., Simonnet, F., Marques-Souza, H., Tautz, D., Tomoyasu, Y., Trauner, J., Van der Zee, M., Vervoort, M., Wittkopp, N., Wimmer, E.A., Yang, X., Jones, A.K., Sattelle, D.B., Ebert, P.R., Nelson, D., Scott, J.G., Beeman, R.W., Muthukrishnan, S., Kramer, K.J., Arakane, Y., Beeman, R.W., Zhu, Q., Hogenkamp, D., Dixit, R., Oppert, B., Jiang, H., Zou, Z., Marshall, J., Elpidina, E., Vinokurov, K., Oppert, C., Zou, Z., Evans, J., Lu, Z., Zhao, P., Sumathipala, N., Altincicek, B., Vilcinskas, A., Williams, M., Hultmark, D., Hetru, C., Jiang, H., Grimmelikhuijzen, C.J.P., Hauser, F., Cazzamali, G., Williamson, M., Park, Y., Li, B., Tanaka, Y., Predel, R., Neupert, S., Schachtner, J., Verleyen, P., Raible, F., Bork, P., Friedrich, M., Walden, K.K.O., Robertson, H.M., Angeli, S., Forêt, S., Bucher, G., Schuetz, S., Maleszka, R., Wimmer, E.A., Beeman, R.W., Lorenzen, M., Tomoyasu, Y., Miller, S.C., Grossmann, D., Bucher, G., 2008. The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum*. *Nature* **452**, 949–955.
- Richter, C.P., Holt Jr., L.E., Barelare Jr., B., 1938. Nutritional requirements for normal growth and reproduction in rats studied by the self-selection method. *Am. J. Physiol.* **122**, 734–744.
- Riehle, M.A., Fan, Y., Cao, C., Brown, M.R., 2006. Molecular characterization of insulin-like peptides in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*: Expression, cellular localization, and phylogeny. *Peptides* **27**, 2547–2560.
- Robinson, M.D., Oshlack, A., 2010. A scaling normalization method for differential expression analysis of RNA-seq data. *Genome Biol.* **11**, R25.
- Rodríguez-Muñoz, R., Bretman, A., Tregenza, T., 2011. Guarding males protect females from predation in a wild insect. *Curr. Biol.* **21**, 1716–1719.
- Rulifson, E.J., Kim, S.K., Nusse, R., 2002. Ablation of insulin-producing neurons in flies: growth and diabetic phenotypes. *Science* **296**, 1118–1120.
- Sánchez-Vázquez, F.J., Yamamoto, T., Akiyama, T., Madrid, J.A., Tabata, M., 1999. Macronutrient self-selection through demand-feeders in rainbow trout. *Physiol. Behav.* **66**, 45–51.
- Sano, H., Nakamura, A., Texada, M.J., Truman, J.W., Ishimoto, H., Kamikouchi, A., Nibu, Y., Kume, K., Ida, T., Kojima, M., 2015. The nutrient-responsive hormone CCHamide-2 controls growth by regulating insulin-like peptides in the brain of *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet.* **11**,

e1005209.

- Simpson, S.J., Raubenheimer, D., 1995. The geometric analysis of feeding and nutrition: a user's guide. *J. Insect Physiol.* **41**, 545–553.
- Sinha, A., Rae, R., 2014. A functional genomic screen for evolutionarily conserved genes required for lifespan and immunity in germline-deficient *C. elegans*. *PLoS One* **9**, e101970.
- Smeets, P.A.M., Charbonnier, L., van Meer, F., van der Laan, L.N., Spetter, M.S., 2012. Food-induced brain responses and eating behaviour. *Proc. Nutr. Soc.* **71**, 511–520.
- Smith, B.K., Andrews, P.K., West, D.B., 2000. Macronutrient diet selection in thirteen mouse strains. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **278**, R797–R805.
- Stafford, J.W., Lynd, K.M., Jung, A.Y., Gordon, M.D., 2012. Integration of taste and calorie sensing in *Drosophila*. *J. Neurosci.* **32**, 14767–14774.
- Swevers, L., Raikhel, A.S., Sappington, T.W., Shirk, P., Iatrou, K., 2005. Vitellogenesis and post-vitellogenic maturation of the insect ovarian follicle, in: Gilbert, L. I., Iatrou, K., Gill, S. S. (Eds.), *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, 87–155.
- Syafwan, S., Wermink, G.J.D., Kwakkel, R.P., Verstegen, M.W.A., 2012. Dietary self-selection by broilers at normal and high temperature changes feed intake behavior, nutrient intake, and performance. *Poult. Sci.* **91**, 537–549.
- Taguchi, A., White, M.F., 2008. Insulin-like signaling, nutrient homeostasis, and life span. *Annu. Rev. Physiol.* **70**, 191–212.
- Tatar, M., 2011. The plate half-full: Status of research on the mechanisms of dietary restriction in *Drosophila melanogaster*. *Exp. Gerontol.* **46**, 363–368.
- Tetlak, A.G., Burnett, J.B., Hahn, D.A., Hatle, J.D., 2015. Vitellogenin-RNAi and ovariectomy each increase lifespan, increase protein storage, and decrease feeding, but are not additive in grasshoppers. *Biogerontology* **16**, 761–774.
- Tiedemann, L.J., Schmid, S.M., Hettel, J., Giesen, K., Francke, P., Büchel, C., Brassen, S., 2017. Central insulin modulates food valuation via mesolimbic pathways. *Nat. Commun.* **8**, 16052.
- Tsukamoto, Y., Kataoka, H., Nagasawa, H., Nagata, S., 2014. Mating changes the female dietary preference in the two-spotted cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Front. Physiol.* **5**, 366–e45-4.
- Van Wielendaele, P., Dillen, S., Zels, S., Badisco, L., Vanden Broeck, J., 2013. Regulation of feeding by Neuropeptide F in the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **43**, 102–114.

- Vargas, M.A., Luo, N., Yamaguchi, A., Kapahi, P., 2010. A role for S6 kinase and serotonin in postmating dietary switch and balance of nutrients in *D. melanogaster*. *Curr. Biol.* **20**, 1006–1011.
- Waldbauer, G.P., Friedman, S., 1991. Self-selection of optimal diets by insects. *Annu. Rev. Entomol.* **36**, 43–63.
- Walker, S.J., Corrales-Carvajal, V.M., Ribeiro, C., 2015. Postmating circuitry modulates salt taste processing to increase reproductive output in *Drosophila*. *Curr. Biol.* **25**, 2621–2630.
- Wang, Y., Mutti, N.S., Ihle, K.E., Siegel, A., Dolezal, A.G., Kaftanoglu, O., Amdam, G. V., 2010. Down-regulation of honey bee IRS gene biases behavior toward food rich in protein. *PLoS Genet.* **6**, e1000896.
- Wang, Z., Wilhelmsson, C., Hyrsi, P., Loof, T.G., Dobes, P., Klupp, M., Loseva, O., Mörgelin, M., Iklé, J., Cripps, R.M., Herwald, H., Theopold, U., 2010. Pathogen entrapment by transglutaminase—A conserved early innate immune mechanism. *PLoS Pathog.* **6**, e1000763.
- Williams, K.W., Elmquist, J.K., 2012. From neuroanatomy to behavior: central integration of peripheral signals regulating feeding behavior. *Nat. Neurosci.* **15**, 1350–1355.
- Woods, S.C., Lotter, E.C., McKay, L.D., Porte, D., 1979. Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature* **282**, 503–505.
- Wu, Q., Zhang, Y., Xu, J., Shen, P., 2005a. Regulation of hunger-driven behaviors by neural ribosomal S6 kinase in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 13289–13294.
- Wu, Q., Zhao, Z., Shen, P., 2005b. Regulation of aversion to noxious food by *Drosophila* neuropeptide Y- and insulin-like systems. *Nat. Neurosci.* **8**, 1350–1355.
- Xia, Q., Wang, J.J., Zhou, Z., Li, R., Fan, W., Cheng, D., Cheng, T., Qin, J., Duan, J., Xu, H., Li, Q., Li, N., Wang, M., Dai, F., Liu, C., Lin, Y., Zhao, P., Zhang, H., Liu, S., Zha, X., Li, C., Zhao, A., Pan, M., Pan, G., Shen, Y., Gao, Z., Wang, Z., Wang, G., Wu, Z., Hou, Y., Chai, C., Yu, Q., He, N., Zhang, Z., Li, S., Yang, H., Lu, C., Wang, J.J., Xiang, Z., Mita, K., Kasahara, M., Nakatani, Y., Yamamoto, K., Abe, H., Ahsan, B., Daimon, T., Doi, K., Fujii, T., Fujiwara, H., Fujiyama, A., Futahashi, R., Hashimoto, S.I., Ishibashi, J., Iwami, M., Kadono-Okuda, K., Kanamori, H., Kataoka, H., Katsuma, S., Kawaoka, S., Kawasaki, H., Kohara, Y., Kozaki, T., Kuroshu, R.M., Kuwazaki, S., Matsushima, K., Minami, H., Nagayasu, Y., Nakagawa, T., Narukawa, J., Nohata, J., Ohishi, K., Onor, Y., Osanai-Futahashi, M., Ozaki, K., Qu, W., Roller, L., Sasaki, S., Sasaki, T., Seino, A., Shimomura, M.M., Shimomura, M.M., Shini, T., Shinoda, T., Shiotsuki, T., Suetsugu,

- Y., Sugano, S., Suwa, M., Suzuki, Y., Takiya, S., Tamura, T., Tanaka, H., Tanaka, Y., Touhara, K., Yamada, T., Yamakawa, M., Yamanaka, N., Yoshikawa, H., Zhong, Y.S., Shimada, T., Morishita, S., The International Silkworm Genome, 2008. The genome of a lepidopteran model insect, the silkworm *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **38**, 1036–1045.
- Yo, T., Siegel, P.B., Faure, J.M., Picard, M., 1998. Self-selection of dietary protein and energy by broilers grown under a tropical climate: adaptation when exposed to choice feeding at different ages. *Poult. Sci.* **77**, 502–508.
- Zeng, V., Ewen-Campen, B., Horch, H.W., Roth, S., Mito, T., Extavour, C.G., 2013. Developmental gene discovery in a hemimetabolous insect: *de novo* assembly and annotation of a transcriptome for the cricket *Gryllus bimaculatus*. *PLoS One* **8**, e61479.
- Zhang, S., Liu, X., Zhu, B., Yin, X., Du, M., Song, Q., An, S., 2014. Identification of differentially expressed genes in the pheromone glands of mated and virgin *Bombyx mori* by digital gene expression profiling. *PLoS One* **9**, e111003.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J.M., 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* **372**, 425–432.
- Zhao, X.L., Campos, A.R., 2012. Insulin signalling in mushroom body neurons regulates feeding behaviour in *Drosophila* larvae. *J. Exp. Biol.* **215**, 2696–2702.
- Zheng, W., Luo, D., Wu, F., Wang, J., Zhang, H., 2016. RNA sequencing to characterize transcriptional changes of sexual maturation and mating in the female oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis*. *BMC Genomics* **17**, 194.
- 塚本悠介 (2015) 修士論文

## 謝辞

本研究を行うに当たり、東京大学大学院・新領域創成科学研究科・先端生命科学専攻・分子認識化学分野 永田晋治准教授には、実験の手法から、データの解釈や表現方法に至るまで御指導、御助言を頂きました。また、研究以外のことにおいても、多くの御指導、御助言を頂きました。心から感謝いたします。同研究室 片岡宏誌教授にはデータの解釈等研究全般に関する御指導、御助言を頂きました。心から感謝いたします。

姫路獨協大学・医療薬学科・生物分析化学研究室・齋藤一樹教授には、研究に関して様々な視点から御指導、御助言を頂きました。心から感謝いたします。

本研究で行われた次世代シーケンサーによる解析は、東京大学大学院・新領域創成科学研究科・情報生命理工学専攻 鈴木穰教授に御協力頂きました。御礼申し上げます。

東京大学大学院・農学生命科学研究科・応用生命化学専攻 長澤寛道名誉教授には、生物有機化学研究室を離れた後も、気にかけて頂き、研究に関して冷静な鋭い御助言を頂きました。心から感謝いたします。

分子認識化学分野の研究室員の皆様には非常に助けられました。心から感謝申し上げます。

最後になりましたが、長い学生生活を支えてくれた家族に感謝致します。