The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Identification of a protein involved in chemical recognition of butterfly
Author(s)	土原, 和子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42521
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【7】

氏　　名	土原和子（つちはらかずこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　15723　号
学位授与年月日	平成12年9月29日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Identification of a protein involved in chemical recognition of butterfly　（チョウの物質認識機構）
論文審査委員	（主査） 教　授　徳永　史生 （副査） 教　授　中西　康夫　　教　授　河村　　悟　　助教授　久冨　　修

論文内容の要旨

チョウは産卵する植物が種によって正確に決まっている。モンシロチョウは十字花植物、アゲハチョウはミカン科植物、ジャコウアゲハはウマノスズクサ等である。チョウの感覚子は前肢の第5フセツ部にあり、メスチョウは寄生する植物にとまると前肢で激しく葉をひっかき（ドラミングという）、葉に傷をつけフセツの感覚子で産卵刺激物質を認識し、産卵行動をおこす。

本研究では、ジャコウアゲハの前肢フセツを雌雄それぞれ100頭から分離し、タンパク質を抽出して水溶性画分をSDS-PAGEで展開した。その結果、雌に特異的な約23KDaのタンパク質のバンド（以下Jf23と表記）を確認し、N末端から23残基のアミノ酸配列を決定した。得られた配列を基にRT-PCR法及びRACE法を用いてcDNA（全長723bp）をクローニングした。単離したJf23の推定アミノ酸配列（212AA）は、モンシロチョウのbilin-binding proteinと38%の相同性があった。その他lipophilicな物質に対するbinding proteinと相同性が高く、これらのタンパク質は4つのシステイン残基が完全に一致していた。また、Jf23はlipocalin familyの保存配列を有していた。

X線結晶構造解析によって構造のとかれているbilin-binding proteinをもとにmodelingをおこなったところ、ちょうどアリスロキア酸を結合する大きさのbinding pocketをもっていることがわかった。このことより、Jf23はウマノスズクサの葉に含まれる産卵刺激物質であるアリスロキア酸に結合し、受容体に輸送するタンパク質ではないかと推定できる。

Jf23に対する抗体を作成しwestern blot analysisをおこなったところ、このタンパク質は、メス特異的に発現していることがわかった。また、触覚・口吻・前肢（フセツ以外の部分）においても、メスでは特異的に発現していた。免疫組織染色では感覚子に強い発現を確認した。

ジャコウアゲハの食草であるウマノスズクサのメタノール抽出物を用いて電気生理実験をおこなった。前肢フセツ部で記録をとったところ、メスでは激しい応答を記録した。また、メスにおいてJf23に対する抗体で処理をすると応答が下がった。

以上の結果から、Jf23はメス特異的なタンパク質であり、外部環境から化学物質を認識する器官に存在するタンパク質である。また、脂溶性物質（lipophilic substance）に対するbinding proteinの一種であり、脂溶性物質である産卵刺激物質と結合し、結合した物質をその受容体にまで運ぶ役割を果たしていると考えられる。

本研究で単離したタンパク質に対する抗体は産卵阻害物質となるので、このJf23タンパク質および抗体を研究す

ることにより、新たな農薬開発に発展する可能性があるため、非常に重要な研究である。

論文審査の結果の要旨

チョウは特定の植物の葉に産卵することが知られている。土原和子君提出の論文では、ウマノスズクサを食草とするジャコウアゲハについて食草決定機構を解析した。そして雌特異的タンパク質を前肢符節から分離精製した。このタンパク質のcDNAをクローニングし塩基配列を決定しアミノ酸配列から、質量20kDの脂溶性物質結合タンパク質と推定された。このタンパク質に対する抗体を作成したところ、ウマノスズクサ抽出液による符節感覚毛からのインパルスがこの抗体によって阻害された。またこのタンパク質の諸性質を解析し、このタンパク質がモデリングによってウマノスズクサの成分であるアリストロキア酸と結合することを示した。これらの結果はチョウの食草決定機構を受容体側から解析した世界で最初の成果であり、よって土原和子君提出の論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。