



博士 (人間科学) 学位論文 概要書

キイロシヨウジヨウバエの雄特異的神経発生を  
支配する *fruitless* 遺伝子に関する解析

2002年1月

早稲田大学大学院人間科学研究科

青木 (薄井) 一恵

キイロショウジョウバエの雄は交尾に際して、1) 定位、2) タッピング (雄が前足で雌の体を叩き、体表のフェロモンを認識する)、3) 求愛歌を歌う (定型的なパルス波とサイン波から構成され、その周期の違いによって種間の認識を行う)、4) リッキング (雄が雌の交尾器をなめる)、5) 交尾試行、6) 交尾成立、という定型的な求愛行動をとる。*fruitless<sup>stari</sup>*(*fru<sup>stari</sup>*)変異体は雄が雌に対して殆ど興味を示さない変異体として約 2000 系統の行動スクリーニングから単離された。さらに詳細な表現型の解析により、*fru<sup>stari</sup>* 変異体雄は雄に対する同性愛行動を示し、興味の対象を雌から雄に変化させたことが解った。さらに雄のみに存在するローレンス筋が欠失していることが解った。

雌雄モザイク解析により求愛行動は脳に支配されていることが知られている。また雌雄モザイク解析及び核移植実験によりローレンス筋の発生は当該筋肉に投射する神経の雌雄に依存することが明らかになっている。つまり *fru<sup>stari</sup>* 変異体の性指向性と筋肉の異常という表現型は共に神経系の異常に起因し、*fru* 遺伝子は成虫の神経発生において性特異的な分化を誘導すると考えられる。

キイロショウジョウバエでは、転写調節因子である一連の遺伝子群が個々の細胞で独立に ON/OFF されることにより細胞毎に雌雄が決まる。雌 (性染色体と常染色体の比が 1.0 以上) の体細胞 (体表のクチクラ、生殖器の構造) では、*Sxlethal*(*Sxl*)遺伝子の ON→*transformer*(*tra*), *transformer-2*(*tra-2*)遺伝子の ON→雌型 *doublesex*(*dsx*)遺伝子の ON→雌型 Dsx タンパク質が *dsx* 支配下の遺伝子群を制御し雌特異的構造を形成する。一方性染色体と常染色体の比が 0.5 となる雄では、転写調節機能をもつ *Sxl*, *Tra* タンパク質を持たない為、結果として雄型 Dsx が発現し雄特異的構造形成を促す。

我々は *fru* 遺伝子をクローニングし、以下の点を明らかにした。1) この遺伝子は N 末付近に BTB domain、C 末付近に Zinc-finger motif をもつ転写因子様タンパク質をコードしている。2) *fru* mRNA の 3' 領域では alternative splicing によって 5 種類の異なるエクソンが使用され、C 末の配列の異なる 5 種類のタンパク質が作られる。3) *fru* 遺伝子は、既知の性決定遺伝子の一つである *Tra*, *Tra2* タンパク質結合配列を有する。つまり *fru* は *Tra*, *Tra2* の標的遺伝子と考えられる。

*fru<sup>stari</sup>* 変異体の雄は雄特異的筋肉であるローレンス筋を持たないことは先に述べたが、性決定カスケードを構成する各遺伝子の変異体において *tra* 変異体では雌雄共にローレンス筋が存在し、*dsx* 変異体では雌雄共に異常が見られな

った。つまり *tra*、*tra2* の下流で性決定カスケードは分岐し、一方に *dsx*、もう一方に *fru* 遺伝子が存在していると解釈できる。

次に我々は Fru タンパク質に対する抗体を作成し発現を調べた。この結果、1) Fru タンパク質は蛹、成虫期の中樞神経系において限られた領域（触角から入力のある触角葉、求愛歌に必要な筋肉へ投射する胸部神経節、ローレンス筋へ投射する腹部神経節など）の神経細胞の核で発現している。この発現は蛹期で強く成虫になると弱くなる。2) 中樞神経系においては雄のみで発現がみられる。3) *fru<sup>mal</sup>* 変異体では殆ど発現していない。mRNA では雌雄共に発現が見られるが、タンパク質は雄のみで発現が見られることから、mRNA からタンパク質への翻訳の過程で雌雄特異的な制御メカニズムが働いていることが示唆された。さらに我々は培養細胞系を用いた実験により Tra タンパク質を介する翻訳抑制メカニズムの存在を示すことができた。

分離した *fru* 遺伝子が *fru<sup>mal</sup>* 変異の原因遺伝子であることを確定する為、得られた cDNA を人為的に *fru<sup>mal</sup>* 変異体へ導入した。ヒートショックプロモーターや GAL4/UAS システムを用いて正常型 cDNA を強制発現すると、*fru<sup>mal</sup>* 変異体でありながらローレンス筋が完全に回復した個体が見られた。また本来ローレンス筋が形成されない雌においても正常型 cDNA の異所的発現により、それが形成された。

つまり、Fru タンパク質は特定の神経を雄型に分化させるスイッチとして働くと考えられる。*fru<sup>mal</sup>* 変異体の求愛行動回復実験や Fru 発現細胞の投射パターンの同定など残された課題もあるが、今回の解析により神経系の性分化がタンパク質の翻訳制御によってもたらされるという新しいメカニズムを発見できた。さらに脳の性分化の異常により性指向性の変化が引き起こされることも明らかになった。