

山元行動進化プロジェクトの研究成果

目次

1. ショウジョウバエの中樞神経系の一部の性特異的な分化を支配する
fruitless 遺伝子の構造と発現の解析 2
2. 交尾における生殖器の連結および解除に異常を示す
キイロショウジョウバエの変異体、lingerer の解析 4
3. fickle 変異体の解析から同定されたショウジョウバエ
Bruton's tyrosine kinase (Btk) ホモログの構造と機能 5
4. キイロショウジョウバエにおける dual tagging gene-trap 法：
機能的ゲノム解析のための新しい効率的な技術 6
5. GAL4 システムを利用したショウジョウバエ脳構造の解析 7
6. キイロショウジョウバエの雌の配偶行動に関与する
spinster 遺伝子の機能と進化 8
7. fru BTB ドメイン配列を用いたショウジョウバエの系統樹 9
8. ハワイのショウジョウバエにみる脳の性的二型とその進化 10

1. ショウジョウバエの中枢神経系の一部の性特異的な分化を支配する fruitless 遺伝子の構造と発現の解析

fruitless 遺伝子の構造と発現の解析

研究成果の概要

キイロショウジョウバエの変異体、fruitless(*fru*) (Gill, 1963) および *satori*(*sat*) (Ito et al., 1963) の雄は求愛異常を示す。*(fru* 雄は雌雄の両方に、*sat* 雄は雄のみに求愛を行う)。また、両変異体は雄特異的な腹部第5節の筋肉、ローレンス筋を欠いている。そこで、その原因遺伝子である *fru* 遺伝子の遺伝子構造 (図1) と発現部位を解析した。*fru* 遺伝子は、N 末に BTB domain、C 末に Zinc finger motif を持つ転写因子をコードしていた。*fru* mRNA の 3' 領域には alternative splicing が見られ、その結果 C 末構造の異なる 5 種類の Fru タンパク質をコードしていた (図2)。また、一部の *fru* mRNA の 5' 領域には性特異的な alternative splicing が見られ、結果として、雄では雌に存在しない 101 アミノ酸が N 末に付加された雄特異的な Fru タンパク質が作られていた。性特異的な alternative splicing を受ける exon には、性決定遺伝子の一つである *transformer*(*tra*)、*transformer-2*(*tra-2*) 遺伝子の産物、Tra/Tra-2 タンパク質が結合する 3つの配列が存在した。このことから体細胞の性決定カスケードには、*tra*、*tra-2* の下流に *doublesex* を通らない新たな経路が存在し、それが神経系の一部の性分化を支配すると推定された。

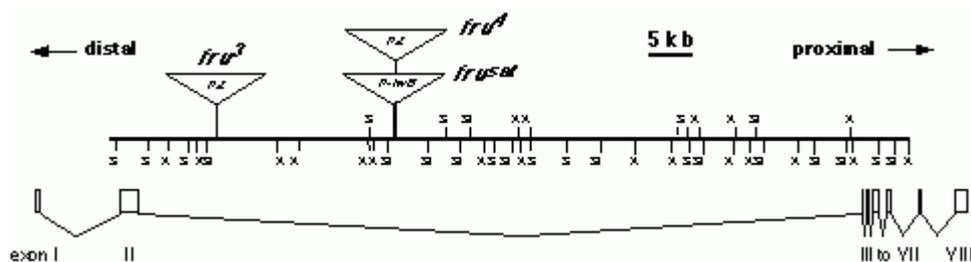


図1 fruitless locus のゲノム構造

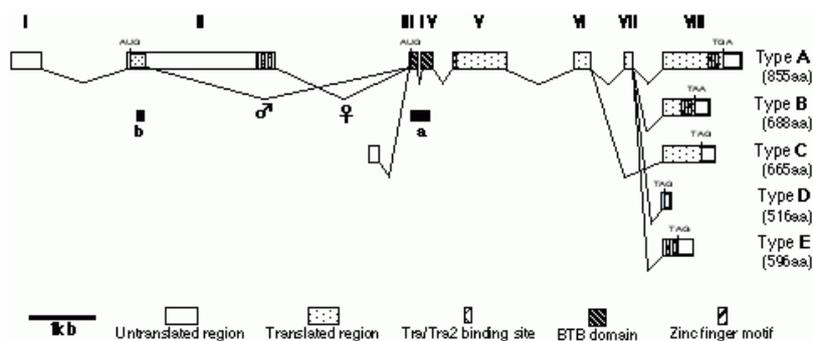


図2 fruitless mRNA の構造

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) 哺乳類での fruitless 相同遺伝子の解析

特許出願

なし

報告書他

- 1) Ito, H.; Fujitani, K.; Usui, K.; Shimizu-Nishikawa, K.; Tanaka, S.; Yamamoto, D. Sexual orientation in *Drosophila* is altered by the satori mutation in the sex-determination gene fruitless that encodes a zinc finger protein with a BTB domain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 1996, p. 9687-9692.

〔研究者名〕 伊藤 弘樹

2. 交尾における生殖器の連結および解除に異常を示すキイロショウジョウバエの変異体、*lingerer* の解析

lingerer 遺伝子の構造と機能解析

研究成果の概要

lingerer 遺伝子 (図1) は第2染色体 44A に位置し、alternative splicing によって2種類 (1型と2型) の転写産物を生じていることがわかった。1型と2型とも約150 kD のタンパク質をコードしており、これらの違いはC末のわずかな長さの差だけだった。ホモロジー検索の結果、ヒト、マウス由来の機能不明のタンパク質と部分的に高いホモロジーを示した (図2)。1型の cDNA を heat-shock 70A プロモータと連結させて、これを雄変異体に導入して第3齢幼虫後期で発現させると成虫の交尾異常が消失したことから、この転写単位が *lingerer* の原因遺伝子であることが示された。*lingerer* 遺伝子は変態初期の中樞神経系で発現しており、その減少によって成虫の交尾器の運動障害が引き起こされることから、交尾器運動の神経ネットワークの構築の際に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

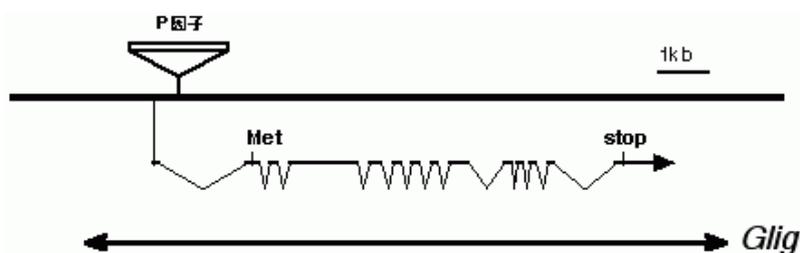


図1 *lingerer* 遺伝子の構造

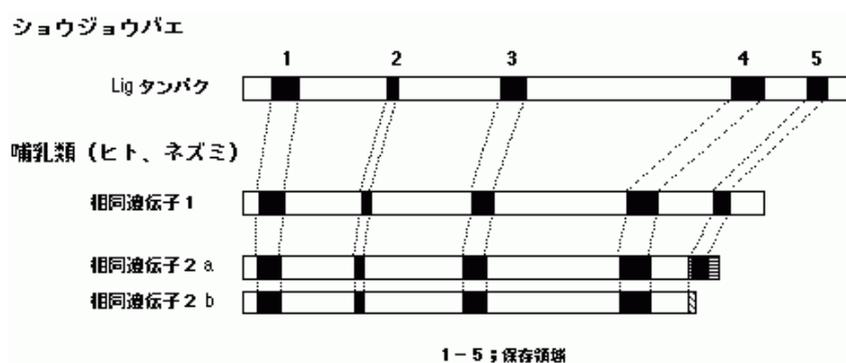


図2 *Lingerer* タンパク質の構造

成果展開可能なシーズ、用途等 哺乳類での *lingerer* 相同遺伝子の解析

特許出願 なし

報告書他 なし

〔研究者〕 国吉 久人

3. *fickle* 変異体の解析から同定されたショウジョウバエ Bruton's tyrosine kinase (Btk) ホモログの構造と機能

Bruton's tyrosine kinase (Btk) ホモログの構造と機能解析

研究成果の概要

雄の交尾持続時間が野生型に比して短くかつ不規則な分布を示す変異として分離された *fickle* (*fic*) 変異を分子遺伝学的、組織化学的に解析した。その結果、原因遺伝子としてショウジョウバエの Btk 遺伝子ホモログを同定し (図 1)、*fic* 変異はその発現が阻害されることによって起こることを証明した。変異形質を詳細に調べた結果、*fic* 変異体雄の交尾行動異常は、雄性内部生殖器の形態異常によることが明らかになった。また、Btk 遺伝子の発現阻害によりショウジョウバエ成虫の寿命が短縮することがわかった。

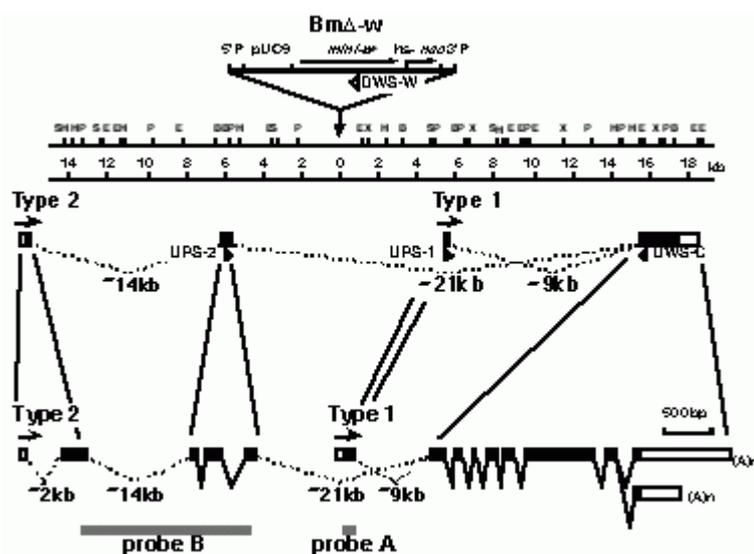


図1 ショウジョウバエ Btk 遺伝子の構造

成果展開可能なシーズ、用途等 哺乳類での Bruton's tyrosine kinase (Btk) 相同遺伝子の解析

特許出願 なし

報告書他 なし

〔研究者〕 従二 直人

4. キイロショウジョウバエにおける dual tagging gene-trap 法：機能的ゲノム解析のための新しい効率的な技術

機能的ゲノム解析のための新しい効率的なジーントラップ法

研究成果の概要

ジーントラップ法は遺伝子をクローン化し同定するために非常に有効な方法である。我々は最近キイロショウジョウバエで独自に有効なジーントラップ法を開発した（図1）。このジーントラップ法は1）突然変異を効率的におこし、2）突然変異体の表現型に対応した遺伝子を確実に同定し、3）トラップした遺伝子を速やかにクローニング出来る。これらの特徴はキイロショウジョウバエの機能的なゲノム解析において非常に有効なものである。

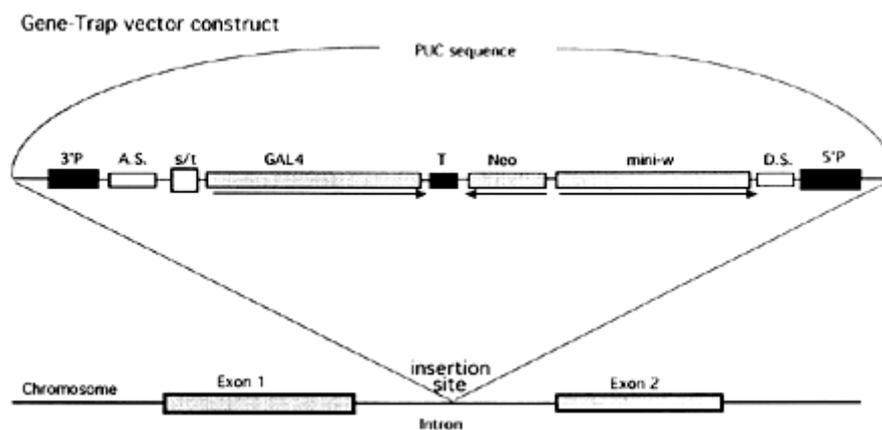


図1 dual tagging gene-trap 用ベクター

成果展開可能なシーズ、用途等

キイロショウジョウバエにおける効率的な遺伝子のクローン化と同定

特許出願

1) 遺伝子トラッピング用ベクターとこのベクターを用いた遺伝子トラッピング方法

特 願：H10-141952（平成10年5月22日）

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：本技術は、本発明ベクターの特性を用いて容易に未知遺伝子をトラップでき、かつその未知遺伝子を迅速にクローニングできる。

報告書他 なし

〔研究者〕 Tamas Lukacsovich

5. GAL4 システムを利用したショウジョウバエ脳構造の解析

キノコ体領域を中心として

研究成果の概要

キノコ体は学習や行動制御など多くの高次脳機能をこなす中心的領域として注目され、突然変異解析や脳破壊実験、遺伝子クローニングなどの研究が行われてきた。しかしキノコ体で処理された情報が、脳のどの部分に伝えられるのかという基本的な回路構造は、これまで全く解析が行われていなかった。そこでエンハンサートラップ系統を用いて、キノコ体からの出力線維を同定する初の試みを行なった。従来キノコ体の出力は、脳後方にある運動中枢に送られていると漠然と想像されており、このような仮定を元にした回路モデルが種々提唱されてきたが、今回初めて明らかになったキノコ体からの線維群は、すべてキノコ体の葉部周辺の限られた連合野の領域に投射しており、運動中枢へは投射していなかった。従って従来のモデルは実際の脳回路を反映しているとは言えず、高次脳機能をきちんと解析するためには、キノコ体周辺領域の神経回路網が果たす役割を無視できないことがクローズアップされた (図1)。

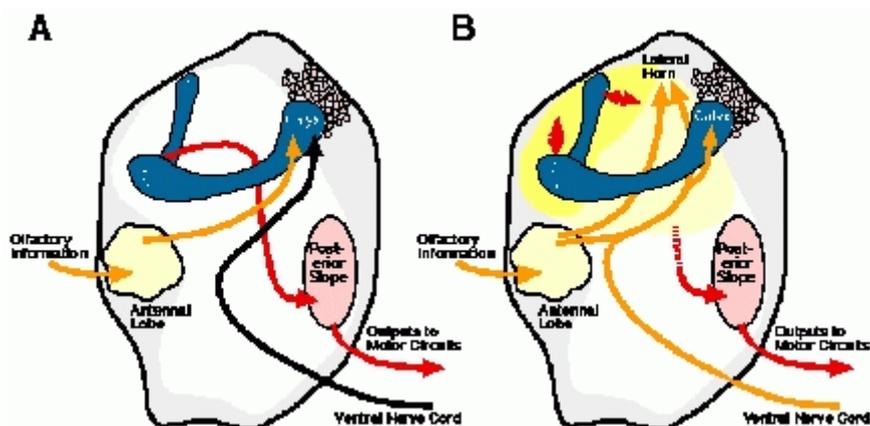


図1 キノコ体における学習回路のモデル

A: Davis モデル. B: 新しいモデル.

成果展開可能なシーズ、用途等 行動制御や臭覚学習などの脳の高次機能解析

特許出願 なし

報告書他

- 1) Ito, K.; Suzuki, K.; Estes, P.; Ramswami, M.; Yamamoto, D. The organization of extrinsic neurons and their implications in the functional roles of mushroom bodies in *Drosophila melanogaster* Meigen. *Learning and Memory* 5, 1998, p. 52-77.

〔研究者〕 伊藤啓

6. キイロショウジョウバエの雌の配偶行動に関与する *spinster* 遺伝子の機能と進化 *spinster* 遺伝子の機能と進化

研究成果の概要

キイロショウジョウバエの *spinster* (*spin*)変異の雌は雄の求愛に対して強い交尾拒否行動を示す。原因となる *spin* 遺伝子は新規の膜タンパク質をコードし、神経系を含めた様々な組織で発現していた。*spin* 相同遺伝子は脊椎動物にも少なくとも2種類存在し、線虫からヒトに至るまで進化上保存されていた(図1)。変異体の解析から *spin* は細胞死のメカニズムに関与している可能性を見いだした。

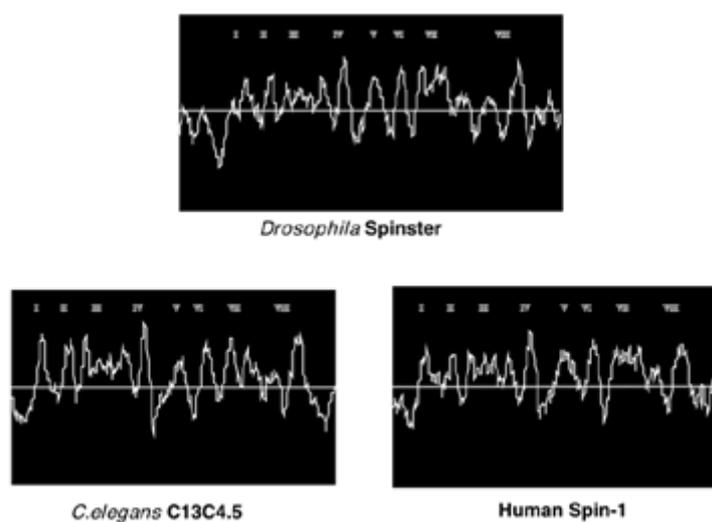


図1 Spin タンパク質の比較

キイロショウジョウバエ (中央上)、線虫 (左)、 人間 (右)

成果展開可能なシーズ、用途等 哺乳類での *spinster* 相同遺伝子の機能解析

特許出願 なし

報告書他 なし

〔研究者〕 中野芳朗

7. fru BTB ドメイン配列を用いたショウジョウバエの系統樹

ショウジョウバエの系統樹

研究成果の概要

fru 遺伝子の BTB ドメインをコードした DNA 配列を Diptera の 21 種からクローン化した。BTB エクソン配列を用いて作った系統樹は他の分子生物学的研究で得られた結果とよく一致しており、ハワイのショウジョウバエがアメリカ本土の生息する *robusta* 種グループの *D. moriwakii* に非常に近い関係にあることが示唆された (図 1)。系統樹はまた *Scaptomyza* がハワイの *Drosophila* に非常に近く、ハワイのショウジョウバエから進化したことが示唆された。*Zaprionus* 属は *Drosophila* の亜属に位置し、*Samoaia* と *Liodrosophila* 属と同列の *D. immigrans* に近いことがわかった。

An insect phylogeny using the fru BTB domain

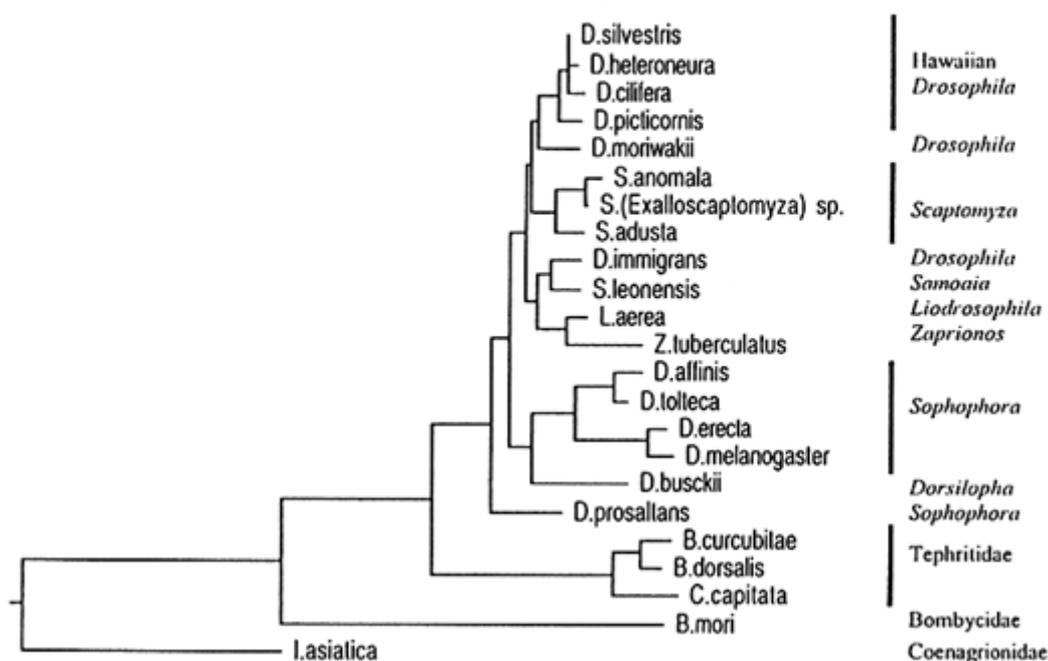


図 1 fru BTB ドメイン配列を用いて作成した Diptera の系統樹

成果展開可能なシーズ、用途等 ショウジョウバエの分類学

特許出願 なし

報告書他 なし

〔研究者〕 Terence Davis

8. ハワイのショウジョウバエにみる脳の性的二型とその進化

脳の性的二型とその進化

研究成果の概要

antopocerus グループと adiaastola サブグループから、特定の糸球体 DA1 と DL3 に顕著な性差を見いだした。鱗翅目昆虫の触角葉と同様、性差を示した糸球体はオス特異的で、側方背側部に位置し、複合糸球体に匹敵するほどその体積を増している。この2グループは、系統樹の上では遠く離れている。一方、その近縁種は、相同な糸球体に性差が見られない。したがって、オス特異的糸球体の獲得はそれぞれ独立に起こり、固定されたと考えられる。「進化的収れん」である。さらに、脳が性差を獲得していく進化の過程が、初めて明らかになった。(図1)

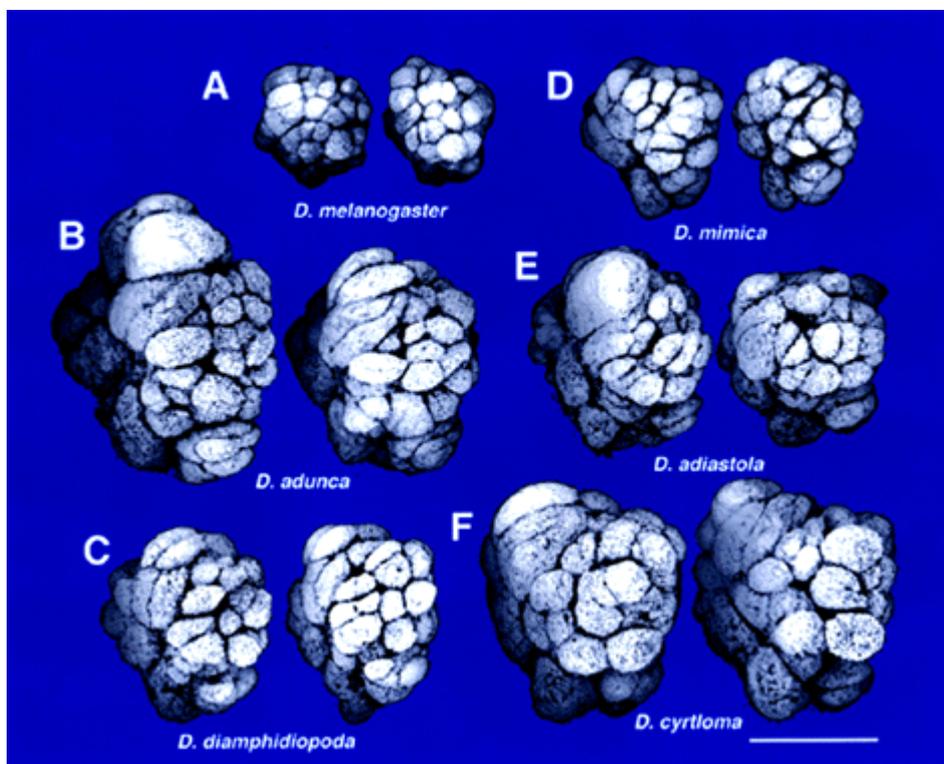


図1 ハワイのショウジョウバエにみる脳の性的二型

成果展開可能なシーズ、用途等 ショウジョウバエの分類と進化

特許出願 なし

報告書他 なし

〔研究者〕 近藤 康弘