

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

遺伝子進化グループ 中野芳朗

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、神経系含めた様々な組織で発現している。*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る。変異体の解析から *spin* は細胞死のメカニズムに關与している可能性をみいだした。

1、はじめに

ここ数年の内に、我々はヒトを含め多くのモデル動物の全遺伝子配列を知ることになる。ほとんどの生物においてその遺伝子構成そのものはそんなに違いはない事が解ってきている。しかしながら現実にはそれぞれの生き物は種独特の形態及び行動様式を持っている。このことは個々の遺伝子が何時、どこで働くかということが重要な意味を持っていることを示している。過去 20 年の間に発生における基本的な遺伝子間のネットワークが明らかにされ、しかも基本原則は下等といわれる線虫からヒトに至るまで保存されていることがわかってきている。子供は親と同じ形態であるのと同様に、同じ行動様式を持っている。このことは形態同様行動も遺伝子によって支配されていることを示している。しかしながら行動に關する遺伝子解析はまだ始まったばかりといえる。発生の分野でその重要性を示したキイロショウジョウバエを使った遺伝学が、行動の遺伝子レベルでの解析においてもその利点を示し始めている。そしてサーカディアンリズムの研究を代表として挙げるまでもなく、行動に關する遺伝子ネットワークも、基本原則は広く動物界に保存されていることが示され始めてきている。発生における突然変異体に較べて、行動に關する変異体の分離が著しく困難な事を考えると、病因の追及がヒトゲノムプロジェクトの推進要因であるように、行動に關する変異体の解析は今後益々その重要性が増すことは確実であろうと思われる。

総ての生物は自分の遺伝子を子孫に残すことを第一義としている。その為パートナーを獲得するための配偶行動が、重要な意味をなしている事は明らかである。配偶行動も種によって定型化されており、遺伝子によって支配されている。キイロショウジョウバエの配偶行動突然変異体として分離された *spinster* (*spin*) 変異体では、雌が雄の求愛に対して強い交尾拒否行動を示す。本研究は配偶行動における *spin* 遺伝子を中心とした分子機構の解明と、その進化における役割を探ることを目的として行われている。具体的には、1) キイロショウジョウバエの *spin* 遺伝子の解析、2) ヒトを含め様々な種における *spin* 遺伝子の役割、の解明を目指している。

2、研究の内容

a) *spin* 突然変異体の雌は強い交尾拒否行動をとる。

spin 変異体は、P 因子挿入突然変異体作製法により得られた突然変異体の一つである。野生型、*spin* 変異体、及び復帰突然変異体 (リバータント) での処女雌と野生型雄との交尾成功率を調べると、野生型の 70% に対し *spin* 変異体では 6% と低下する。しかし P 因子の抜けたリバータントでは、野

生型とほぼ同じ値に回復した。このことにより、*spin*変異体の雌は強い交尾拒否行動を示すこと、及びこの表現型がP因子挿入に起因することが示された。

b) *spin*遺伝子は新規の膜タンパク質をコードしている。

*spin*変異はP因子の挿入によって引き起こされていると考えられることから、P因子挿入部位周辺のゲノムをクローニングし転写単位を探した。その結果、約3 kbのmRNAを産する転写単位が、*spin*突然変異体では量質共に変化していることが判明した。またP因子はこの転写単位内に挿入されていることにより、この転写単位が*spin*遺伝子と考えられた。cDNAの解析により、少なくとも5種類のmRNAが*spin*遺伝子から作られていることが判明している。Type I, Type IIのcDNAは630アミノ酸を、Type III, Type IVのcDNAは605アミノ酸をコードしているが、これまで機能の知られている蛋白質とは相同性がなかった。しかしながら蛋白質の2次構造から、Spin蛋白質は、膜貫通領域を複数持つ膜蛋白質であることが判明した。同様な2次構造は、ある種の受容体やトランスポーター蛋白質も持つことが知られているが、アミノ酸レベルでのSpin蛋白質との相同性は認められなかった。

c) *spin*遺伝子は雌の強い交尾拒否行動の原因遺伝子である。

*spin*遺伝子が実際に雌の交尾拒否行動の原因遺伝子であるかどうかを、正常な*spin*遺伝子を変異体に入れて変異がもとに戻るかどうかによって調べた。その結果Type I, Type VのcDNAのみが雌の交尾拒否行動を正常に戻せることが判明した。このことは*spin*遺伝子が交尾拒否行動の原因遺伝子であることを示すとともに、Typeの異なった蛋白質はそれぞれ異なった機能を持っていることを示している。

d) *spin*遺伝子は個体発生に必須な遺伝子である。

*spin*遺伝子の発現を調べると、胚期では神経の主にsurface glia細胞で発現している。また*spin*のエンハンサートラップ株I(2)10403の幼虫での発現パターンを調べると、*spin*遺伝子は神経系以外にもtrachea, gut, follicle cellなどで発現していることが判明した。このことにより、*spin*遺伝子は神経系を含めた発生に必須な遺伝子であると考えられる。すなわち*spin*変異体は*spin*遺伝子の機能喪失によるものではなく、機能低下によるものであろうと推察される。

このように*spin*遺伝子は新規の膜タンパクをコードし、神経系を含めたさまざまな組織での発現がみられた。このことからSpinタンパク質は細胞の膜における小さな分子の受容、あるいは分泌に関与していると考えられる。あるいは細胞間の認識分子として働いている可能性も考えられる。

e) *spin*遺伝子は線虫からヒトまで保存されている。

キイロショウジョウバエから分離した*spin*遺伝子は、これまで機能の知られている遺伝子との相同性は認められていない。しかしながら、線虫において分離された機能未同定の3つの遺伝子と相同性があることがわかった。そこでこれらの相同な領域を用いて、脊椎動物から*spin*遺伝子を分離することを試みた。その結果、マウス及びヒトから*spin*遺伝子の相同遺伝子を2種分離することに成功した(それぞれ*Mspin-1*, *Hspin-1*, *Mspin-2*, *Hspin-2*と命名)。マウス及びヒトのSpin-1蛋白質は両者とも528アミノ酸からなり、ショウジョウバエSpin蛋白質とは40%以上の相同性を示した。*spin-2*遺伝子も現在解析を進めている。次にこの遺伝子がいつどこで発現しているかマウスを使って調べた。その結果マウスの*Mspin-1*遺伝子は、発生7日目という非常に早い時期から発現がみられること、成体では脳を含め多くの組織で発現がみられること、精巣では他の組織と異なるmRNAが作られていることなどが判明した。このことはマウスにおいては形態形成のかなり初期から*Mspin-1*遺伝子の働きが重要である可能性を示している。さらにヒトの病気及びマウスの突然変異体との関係を調べるためゲノムの解析及び染色体へのマッピングを行った。その結果*Hspin-1*は染色体16

番に、*Mspin-1*は染色体7番に、*Hspin-2*は染色体17番に存在することが判明した。現在病気との関連性を調べている。

f) *spin*遺伝子は細胞死に関与している。

1) *spin*にみられる卵形成の異常

*spin*の雌は行動上の異常のみならず卵形成にも異常がみられた。正常においてnurse cellはoocyteに栄養物を提供し最終的にはprogrammed cell death(PCD)によって排除される。しかしながら*spin*ではoocyteが成熟してもnurse cellの核のみが死なずに残ってしまうということをみいだした。*spin*はnurse cellではなくfollicle cellで発現していることを考えるとfollicle cellでの*spin*の機能がnurse cellのPCDに関与していると考えられる。

2) 成虫の腹部神経節にみられる異常

*spin*の成虫の神経系を調べたところ*spin*では雄雌ともに腹部神経節が正常に較べて長いということが判明した。腹部神経節はさなぎ期にPCDにより短縮するが、*spin*ではそれが不完全なため腹部神経節が長いまま残ってしまうのであろうと考えられる。このようにPCDに関する異常が見られたため細胞死が正常に起っているかどうかを、PCDに前もって発現する*EcR-A*の発現と、実際のPCDが起っている事を示すTUNEL法を用いて調べた。その結果少なくとも羽化後におけるPCDは正常に起っていることが判明した。

3) *spin*にみられる自家蛍光

さらに面白いことに羽化後の*spin*の神経系には青の励起光で自家蛍光を発する物質が存在することがわかった。これは脳の中央部および腹髄の中央部、特に腹部神経節で顕著にみられ時間とともに増加する傾向がみられた。それらはニューロン及びグリア細胞ともに細胞内にみられた。しかしながら*spin*発現細胞とは一部overlapがみられるのみであった。電顕による解析で*spin*の神経の細胞はlipid様物質を細胞内に保有していることが確認された。現在生化学的解析を進めている。

3、今後の展望

雄の求愛に対して強い交尾拒否行動を示すキイロショウジョウバエの*spinster*突然変異体の原因遺伝子*spin*の同定解析を行ない、*spin*は進化的に非常によく保存された新規膜蛋白をコードし、神経のsurface glia cell,卵巣のfollicle cellなどで発現がみられる事を明らかにした。さらに*spin*は脂質代謝に関与する可能性、あるいは細胞死のメカニズムの一旦を担っている可能性を明らかにした。しかしながらまだなぜ雌のみが強い交尾拒否の行動を取るかはまだ解っていない。配偶行動が神経系の制御のもとにあることは疑いもない事実である。その神経系では*spin*は主にsurface glial cellで発現していることから、グリア細胞と神経細胞との相互作用に*spin*が関与している可能性が強く示唆される。*spin*の変異体の示す表現系は何れも今までに報告されていないとてもユニークなものである。*spin*が広く生物界に保存されている事を考えると、キイロショウジョウバエの*spin*を中心とした*spin*ファミリー遺伝子の解析は、行動はもとより細胞死や脂質代謝といった生物界全体に係わる重要な問題の解決の糸口ともなることが期待される。