

ショウジョウバエ成虫におけるステロイドホルモンの役割の解明

天久 朝恒 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 丹羽 隆介 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

ステロイドホルモンは、哺乳類を含む幅広い生物の生理機能を調節する生理活性物質であり、ヒトの性成熟や、昆虫の脱皮変態、植物体の伸長などの制御において重要な役割をもっている。よって、ステロイドホルモンの生体内での機能的意義の詳細を明らかにすることは、個体の発生や生理機能を分子レベルで理解する上で重要な課題であると古くから考えられてきた。

私の所属する研究室では、個体レベルで遺伝子の機能の解析に極めて優れたモデル生物であるキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* (以下、ショウジョウバエ) を用いたステロイドホルモン研究を行っている。昆虫における主要なステロイドホルモンであるエクジステロイドは、発生過程における脱皮と変態の誘導に必須の役割を持つ [1]。その一方で、エクジステロイドは変態後の成虫においても生合成され、卵形成や学習記憶の制御、さらには睡眠の制御などの様々な生理機能の制御を担う [2,3]。この 10 年間に、エクジステロイド生合成に関わる主要な酵素が多く同定され、その発生過程における意義が詳しく解明された [4]。しかし、成虫においては未だにエクジステロイド生合成の部位すら包括的には把握されておらず、またエクジステロイド生合成酵素の成虫における機能解析も未だほとんど進んでいない。

そこで私は、ショウジョウバエ成虫を研究対象として、エクジステロイド生合成酵素群の発現および機能の解析を目的として研究を行った。

材料と方法

・発現解析

エクジステロイド生合成遺伝子群の時空間的発現パターンを調べるために、成虫の卵巣を用いて逆転写定量 PCR および *in situ* ハイブリダイゼーションを行った。

・遺伝子発現阻害および中間基質による致死性のレスキュー

エクジステロイド生合成酵素の 1 つ *neverland* の機能 (図 1) をトランスジェニック RNAi 法を用いて低下させた。*neverland* 機能低下個体の幼虫期における致死性を避けるために、幼虫期においてエクジステロイド生合成の中間基質である 7-デヒドロコレステロールを摂取させることにより成虫まで生育させた [5]。

・*neverland* 機能低下成虫の表現型解析

上述の *neverland* 機能低下成虫を用いて、成虫雌の産卵数および寿命の測定を行った。

結果

定量的逆転写 PCR および *in situ* ハイブリダイゼーションによって、成虫卵巣におけるエクジステロイド生合成遺伝子群の時空間的発現の変化を明らかにした。多くのエクジステロイド生

合成遺伝子は、卵巣の濾胞細胞において発現し、羽化後初期に発現のピークを迎えていた。さらに、成虫におけるエクジステロイド生合成の役割を調べるために、エクジステロイド生合成酵素の 1 つである *neverland* の機能を低下させた成虫個体を作成する方法を確立した。この *neverland* 機能低下成虫を用いて解析を行なったところ、雌個体において、産卵数 (図 2) および寿命の減少が観測された。産卵数については、機能低下成虫への 7-デヒドロコレステロールの投与により表現型の回復がした。

考察

発現解析の結果から、成虫卵巣において、羽化後初期の濾胞細胞においてエクジステロイドが生合成されていることが示唆された。卵巣において合成されたエクジステロイドが、どの組織に働きかけ機能しているかは、今後調べていく必要がある。

neverland 機能低下個体の機能解析から、成虫のエクジステロイドの生合成が産卵数および寿命を制御していることが示唆された。さらに、エクジステロイド生合成不全の成虫の寿命および産卵数の低下が、どのような分子メカニズムでおこっているかを調べるために、細胞レベルの詳細な表現型解析に移行していく。このような解析によりショウジョウバエ成虫におけるエクジステロイド生合成の役割を明らかにしていくことができれば、昆虫のみならず、幅広い生物に進化的に保存されてきたステロイドホルモンによる生理機能の制御機構の解明につながるであろう。

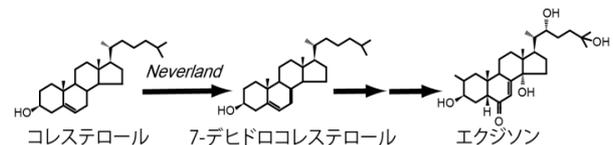


図 1. *Neverland* の機能: *Neverland* は、コレステロールから 7-デヒドロコレステロールへの変換に機能している。

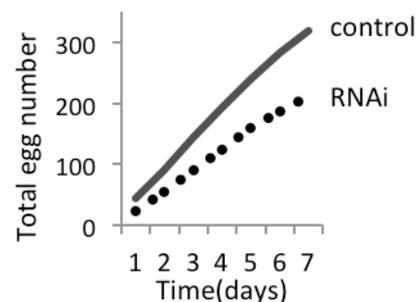


図 2. *neverland* 機能低下成虫における産卵数: *neverland* の機能を低下させた雌の成虫では、産卵数の減少がみられた。

文献

1. Spindler *et al.* (2009) *Cell Mol Life Sci* 66: 3837-3850.
2. Morris and Spradling (2012) *PLoS One* 7: e46109
3. Ishimoto and Kitamoto (2011) *Fly* 5: 1-6
4. Huang and Gilbert (2008) *J. Genet. Genomics* 35: 1-10
5. Yoshiyama *et al.* (2006) *Development* 133: 2565-2574