

科学研究費補助金（特別推進研究）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成 18 年度採択分

平成 21 年 4 月 7 日現在

研究課題名（和文） ショウジョウバエ *fru* 遺伝子による脳神経系と行動の性決定機構に関する研究

研究課題名（英文） Studies on the mechanism of neural and behavioral sex determination by the *Drosophila fruitless* gene

研究代表者

山元 大輔 (YAMAMOTO DAISUKE)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授



研究の概要：動物の行動には、雌雄ではっきりした違いがある。そうした行動の雌雄差の根源を探るため、雌バエの脳のニューロンを数十個ずつ遺伝的操作によって雄化し、性行動に対する影響を観察した。約 200 の性モザイク個体における行動観察と性転換細胞の同定によって、P1 と命名した 20 個の雄特異的ニューロンさえあれば、雌が雄の性行動を示すことが判明した。特定の脳細胞の存否が行動の性差の基盤にあることがこの研究で明らかとなった。

研究分野：行動遺伝学

科研費の分科・細目：1101

キーワード：性行動、性分化、性転換、ニューロン発生、*Drosophila*

1. 研究開始当初の背景

雄が同性愛行動をとる突然変異体、*satori* の変異原因遺伝子 *fru* を解析し、*fru* を発現する介在ニューロンの一つ、mAL が顕著な形態上の性的二型を示すことを発見した。*fru* 機能を失った変異体雄では mAL が完全に雌化していることから、*fru* 遺伝子が脳と行動の性差形成を支配する主因と推察された。

2. 研究の目的

上記の研究から *fru* 発現ニューロンの性差が性特異的行動を生み出す可能性の検証、ニューロンの性差形成機構の解明が焦眉の課題として浮上した。そこで、*fru* 発現ニューロンをすべて同定してクラスターごとに操作を加え、性行動に果たすその機能を決定する。また、Fru の共同因子、標的遺伝子の同定を通じて、性差形成の分子機構を解明する。

3. 研究の方法

個々のニューロンを個別に標識しつつ遺伝的に操作（性転換、強制的活性化、不活性化など）する手法として、体細胞染色体組換え誘導に基づく MARCM を活用した。被操作個体の行動観察ののち、各個体から脳を摘出して、操作された細胞を同定し、行動様式の変化と特定のニューロンとの相関を解析した。

Fru 共同因子は表現型レベルでの相互作用に基づいて探索し、標的遺伝子候補は ChIP on Chip によって得た。これらの候補遺伝子について、発現解析や変異体表現型の検討を行い、*in vivo* での *fru* との相互関係を解明して、脳と行動の性分化に果たす役割を決定する。

4. これまでの成果

雌雄の脳内で *fru* を発現している約 2000 のニューロンを 1~数十個ずつ標識し、細胞体の位置と神経突起の投射パターンに基づいて 50 のクラスターに分類、命名してマップを作成した。続いて、同様の手法により雌の脳の少数のニューロンクラスターだけを *tra* 機能喪失型変異ホモ接合体とし、その作用により当該細胞のみ雄化させた。なお、*tra* 遺伝子正常型産物は雌化因子である。

この性モザイク“雌”を正常な雌と対面させたところ、一部の個体が雄として振る舞い、求愛を行った（図 1）。つまり、行動のジェンダータイプは雄と判断された。

こうして個々のモザイク個体について行動が「雄型」か「雌型」かを判別したのち、脳を摘出して雄化されているニューロンを同定した。その結果、行動が雄型であるものに共通して雄化が起こっていたニューロンは唯一、P1 と命名したクラスターであった（図 2）。このことから、P1 が雄化されれば、



図 1 雌(左)に求愛するモザイク雌 (右)

[4. これまでの成果 (続き)]

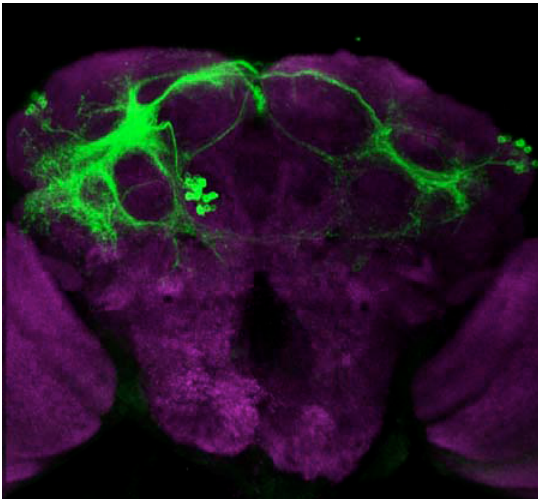


図2 雌の脳に生じた P1 ニューロン

たとえ脳や体の他の部分が全て雌であったとしても、雄の性行動を示すと結論される。

雌雄の脳の比較から、P1 は正常な雌には存在せず、雄のみが持つニューロン群であることが判明した。P1 が雄にしか存在しない原因を探ったところ、性決定因子の一つである Doublesex の雌型タンパク質、DsxF が性染色体構成 XX の個体に存在するため、その作用により細胞死が誘導されて、雌の脳から P1 ニューロンが除去されることが明らかとなった。一方、もう一つの性決定因子である Fru タンパク質は雄特異的に発現し、P1 ニューロンの神経突起の正しい場所への伸長に必要であった。このように、二つの性決定因子の作用下に P1 ニューロンは雄特異的に形成され、それを持つ個体に雄型の行動をとらせると考えられる。これらの実験から、P1 は雄の性行動を開始させる司令機能を有するニューロンであると結論した。

以上のようなニューロン回路の研究の一方で、分子レベルで Fru の機能を明らかにする実験を進めてきた。Fru は BTB と Zn-finger モチーフを持つことから転写因子と考えられるが、実験的な証拠はない。そこで、Fru の cofactor や標的遺伝子を探索することを通じて、Fru タンパク質の作用機構を追求することとした。

発生途上の複眼原基に *fru* を強制発現させると、複眼形態が異常になることを利用して、その異常を増強あるいは抑制する遺伝子を複数特定した。また、ChIP-on-Chip 解析によって、標的遺伝子候補を網羅的に探索した。

Fru と遺伝的相互作用を示す遺伝子にはクロマチン制御因子が複数含まれており、Fru がこのプロセスを介して転写制御に関与し、脳の性分化を実現する可能性が強く示唆された。

5. 今後の計画

雄の性行動を開始させるニューロン群が特定できたので、今後はそれらのニューロンとシナプスを形成している入・出力ニューロンの解剖学的同定を目指す。続いて、雌を刺激に用いて雄の中枢ニューロンから光学的手法により活動記録をとり、行動中の個体でそれらのニューロンの機能を決定する。一方で Fru パートナーと標的遺伝子を確定する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

(研究代表者は太字、研究分担者は二重下線、連携研究者は一重下線)

1. Koganezawa, M., Mastuo, T., Kimura, K-I., and **Yamamoto, D.** The shaping of *Drosophila* male courtship posture by a gustatory pheromone. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* (2009, in press)
2. Takeuchi, K., Nakano, Y., Kato, U., Kaneda, M., Awano, W., Yonemura, S., Kiyonaka, S., Mori, Y., **Yamamoto, D.** and Umeda, M. Changes in temperature preferences and energy homeostasis in Dystronglycan mutants. *Science* 323, 1740-1743, 2009.
3. Juni, N and **Yamamoto, D.** Genetic analysis of *chaste*, a new mutation of *Drosophila melanogaster* characterized by extremely low female sexual receptivity. *J. Neurogenet.* DOI: 10.1080/01677060802471601, 2009.
4. Kimura, K-I., Hachiya, T., Koganezawa, M., Tazawa, T. and **Yamamoto, D.** Fruitless and Doublesex coordinate to generate male-specific neurons that can initiate courtship. *Neuron* 59,759-769, 2008.
5. **Yamamoto, D.** Brain sex difference and function of the *fruitless* gene in *Drosophila*. *J. Neurogenet.* DOI: 10.1080/0167706082298491, 2008.
6. Hari, P., Deshpande, M., Sharma, N., Rajadhyaksha, N., Ramkumar, N., Kimura, K.-I., Rodrigues, V. and Tole, S. Chip is required for post eclosion behavior in *Drosophila*. *J. Neurosci.* 28, 9145-9150, 2008.
7. Clark, A. et al (**Yamamoto, D.**). Evolution of genes and genomes on the *Drosophila* phylogeny. *Nature* 450: 203-218. 2007
8. Endo, K., Aoki, T., Yoda, Y., Kimura, K., and Hama, C. Notch signal organizes the *Drosophila* olfactory circuitry by diversifying the sensory neuronal lineages. *Nature Neurosci.* 10, 153-160, 2007.
9. **Yamamoto, D.** The neural and genetic substrates of sexual behavior in *Drosophila*. *Adv. Genet.* 59, 39-66, 2007.

ホームページ等

http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/outline/neuro/neuroscience/microbrain_analysis.html