

Genetic network for the sex determination in insects

昆虫の性決定の遺伝子ネットワーク

プロジェクトリーダー 嶋田 透

東京大学

大学院農学生命科学研究科 助教授

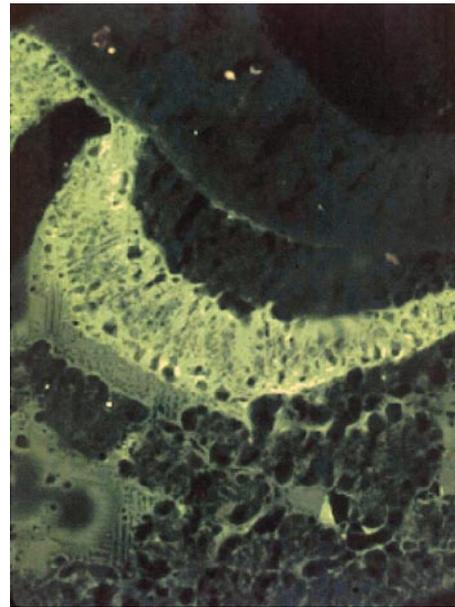


図 1: (左) カイコの雌雄モザイク個体。体色の白い部分が雄、黒い部分が雌の細胞からなる。
 (右) 雌雄モザイク個体の脂肪体の切片を雌特異的タンパク質 SPI の抗体で染色したものを光っているのが雌の細胞。

1. 研究の目的

性決定の戦略は生物種によって全く異なり、多様に分化している。例えば脊椎動物の場合、性腺の分化には性ホルモンの関与が不可欠であるが、昆虫は性ホルモンをもたず、細胞ごとに性の決定がなされている。このため、昆虫では時折雄と雌の細胞をモザイク状にもつ雌雄モザイク個体が野外でも観察される(図1)。ところが、近年ショウジョウバエの性決定遺伝子の一つ、*doublesex (dsx)* 遺伝子(図2)のホモログが他の生物でも相次いで見つかり、それらのいくつかはショウジョウバエの場合と同様、性特異的な発現を示すことが明らかにされ、性決定機構の一部は種間で保存されている可能性があるのではないかと期待が高まっている。我々も最近カイコの*dsx*ホモログを発見し、そのmRNAが性特異的なスプライシングを受けていることを突き止めた(図3)。

多くの生物の性決定機構に種を超えて保存されたメカニズムが存在することが明らかとなれば、性決定の進化過程を理解する糸口がみつかるかもしれない。また、多くの昆虫の性決定機構に共有されている分子機構を解明することができれば、多種多様な農業害虫の生殖を、人為的に制御する遺伝的防除法の開発も可能となる。

そこで本研究は、カイコの性決定に関与する遺伝子を同定し、それらの間のネットワークを明らかにすることを第一の目的とし、それを切り口としてあらゆる種類の鱗翅目昆虫における性決定機構を解明することによって、農業害虫や有用昆虫を多く含む鱗翅目昆虫の性を人為的に制御する技術の開発を究極的な目的とした。

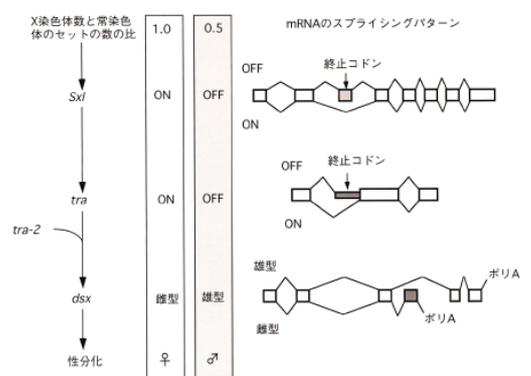


図2: ショウジョウバエの体細胞の性決定カスケード。各遺伝子で性特異的なスプライシングが起こっており、上側に雄型の、下側に雌型のパターンを示す。エキソンを四角で表した。

2. 研究の内容

(1) ショウジョウバエの性決定関連遺伝子のカイコホモログの構造と機能解析

我々はこれまでカイコのcDNAの塩基配列を大量に決定し、ESTデータベース化してきた(図4)。そのESTデータベースからショウジョウバエの性決定に関する遺伝子である *doublesex* (*dsx*), *fruitless* (*fru*), *transformer-2* (*tra-2*), *Sans fille* (*Snf*), *ovarian tumor* (*otu*), *benign gonial cell neoplasm* (*bgcn*) のホモログと予想される遺伝子を発見した。これらの遺伝子について、一次構造を決定し、それらの発現パターンを組織別、発育段階別に雌雄間で比較する。また、カイコで既に実用化されているトランスポゾンを用いた形質転換技術を導入してこれらの遺伝子の形質転換個体を作成し(図5)、表現型の変化を確認する。以上の解析結果をもとに、これらの遺伝子がカイコでも性決定に関与するか否かを判断した後、標的遺伝子の同定ならびに他の転写因子やスプライシング因子との相互作用の解析など詳細な研究を進める。

(2) 性染色体の構造解析と最上位の性決定遺伝子の同定

カイコの性はW染色体上の仮想的性決定遺伝子 *Fem* によってエピスタティックに決定されていることが古くから知られている。そこで我々は、1) 既に作成済みのBACライブラリーを活用し、カイコW染色体のBACクローンの塩基配列をショットガン法によって決定する、2) 雌雄のサブトラクションを行って雌で特異的に発現する遺伝子を探索する、という2つのアプローチを同時に進めることにより *Fem* の同定を目指す。

(3) 発現に性差がみられるスプライシング因子の網羅的探索

ショウジョウバエの性決定には多数のスプライシング因子が関与し、性特異的なスプライシングを制御することによって性の分化が引き起こされることが知られている。カイコでも同様に、性特異的な発現パターンを示すスプライシング因子が、性決定に関与しているかもしれない。そこで我々は性特異的な発現を示すスプライシング因子を網羅的に探索するため、ESTデータベースの中からみつかったスプライシング因子をコードすると予測された全てのクローンについて Northern 解析を実施し、mRNAの発現パターンに性差がみられるか否かを調べ、新たな性決定遺伝子の発見を目指す。

(4) DNAチップを駆使した性決定遺伝子の同定と性決定遺伝子の制御化にある遺伝子ネットワークの解明

カイコには性や生殖に関わる突然変異系統がいくつかある。我々はこれらの突然変異個体において特異的に発現が変化している遺伝子を特定するために、大量のcDNAをチップ化し、突然変異体における遺伝子発現の変化を網羅的に解析することにより、性決定に関わる遺伝子の発見を目指す(図6)。また、性決定遺伝子の形質転換体における遺伝子発現の変化をDNAチップを用いて組織別、発育段階別にモニターし、性決定遺伝子の制御下にある遺伝子間のネットワークの解明を目指す。

(5) カイコ以外の鱗翅目昆虫の性決定機構の解明と新たな害虫防除法の開発への応用

カイコの性決定機構に関する情報の蓄積をもとに、他の鱗翅目昆虫の性決定機構を解明し、改変した性決定遺伝子を遺伝子導入して形質転換システムを作出することによって野外昆虫の不妊化または性的攪乱による害虫防除法を開発する。また、害虫特異的な性や生殖に関わる分子機構を標的とした新しい薬剤の開発を試み、害虫発生の人為的制御を目指す。

3. 研究の体制

期 間：1999年8月～2004年3月

構 成：プロジェクトリーダー：嶋田 透(東京大学大学院農学生命科学研究科・助教授)

研究協力者：三田和英(科学技術庁放射線医学総合研究所・第2研究グループサブグループリーダー)・黄色俊一(東京農工大学農学部・教授)・鈴木雅京(日本学術振興会研究員)

実施場所：東京大学大学院農学生命科学研究科

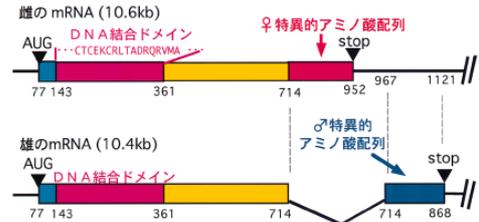


図3：カイコの *dsx* ホモログ「*Bmdsx*」のORFの構造。選択的スプライシングによって生じた塩基配列の性差がみられる。

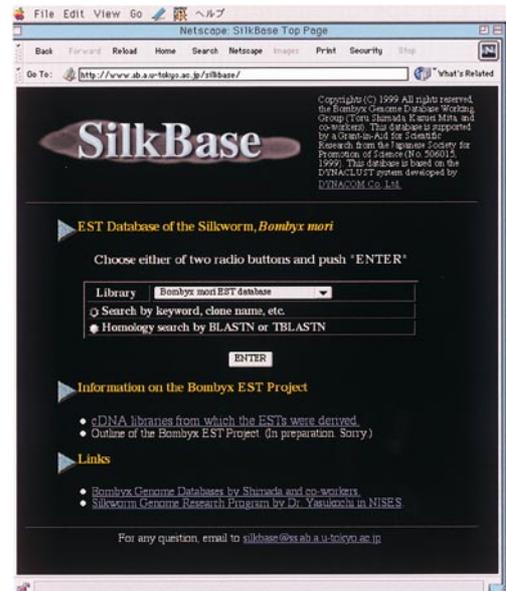


図4：カイコのESTデータベース「SilkBase」のトップページ。データベース化では科学研究費補助金研究成果公開促進費の援助を受けている。

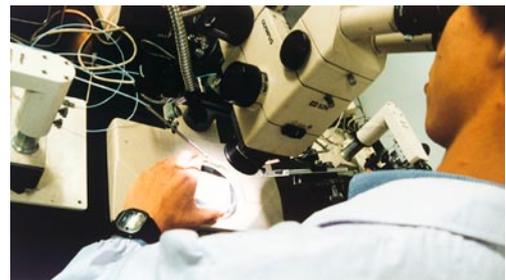


図5：カイコの卵に遺伝子を導入するマイクロインジェクション装置。



図6：Genetic MycroSystems社製のDNAチップスキャナーを操作し、遺伝子発現量の比較を行っている。