

氏名	南 竜之介		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	理学		
学位授与番号	博甲第4564号		
学位授与の日付	平成24年 3月23日		
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)		
学位論文の題目	Functional analysis of the <i>Drosophila dve</i> gene in male fecundity (オスの繁殖力におけるショウジョウバエ <i>dve</i> 遺伝子の機能解析)		
論文審査委員	准教授 中越英樹	教授 上田均	教授 富岡憲治

### 学位論文内容の要旨

ショウジョウバエの付属腺は、ヒトの前立腺や精囊と機能的に相同な器官として知られており、オスの精液中に 83 種類の付属腺タンパク質 (accessory gland proteins, Acps) を分泌する。交尾によってメスの生殖器内に輸送された Acps は、メスの交尾後行動を変化させることで繁殖効率を高める。また、付属腺が萎縮する *paired (prd)* 変異体のオスは不妊になることが知られている。付属腺上皮は約 1,000 個の主細胞 (main cell) と 40 個の第二細胞 (secondary cell) から構成され、これら二種類の細胞全てが二核であるという極めて特徴的な細胞形態を示す。主細胞から分泌される Acp の一つである Sex Peptide (SP) (=Acp70A) は、交尾したメスの産卵を促進するとともに、他のオスとの再交尾を抑制することで、自分の子孫がより多く残るように作用する。また、主細胞から分泌される別の Acp は、メスの子宮構造を変化させ、貯精嚢への精子の移行を促進する働きを持つことが知られている。このように、主細胞から分泌される Acps に関しては多くの報告がなされているものの、第二細胞から分泌される因子の生理学的意義は明らかにされていない。

本研究では、付属腺分化におけるホメオドメイン型転写制御因子 Defective proventriculus (*Dve*) の機能解析を行った。*Dve* には二種類のアイソフォーム (*Dve-A*, *Dve-B*) が存在し、さまざまな器官や組織において形態形成や細胞の機能分化を制御している。付属腺細胞における *Dve* の発現は蛹期初期から開始し、成虫期においては第二細胞特異的に発現が維持されることを見出した。一方、主細胞における *Dve* 発現は蛹期後期から成虫期にかけて抑制され、この発現抑制には転写制御因子 *Prd* およびユビキチン・プロテアソームシステムの活性が必要であることが明らかになった。第1エクソンからの転写産物 *dve-A* mRNA は、第1エクソン欠失変異体 (*dve<sup>E181</sup>*) において完全に消失する。この *dve* 変異体では、(1) 付属腺の萎縮、(2) 第二細胞の消失、(3) 主細胞の二核化阻害などの異常が観察された。さらに、*dve* 変異体のオスと交尾した野生型メスでは、子孫数の減少が認められた。この時、*dve* 変異体の精子はメスの貯精嚢に正しく貯精されていたため、メスの交尾後行動について詳細に調べたところ、産卵数の減少、他のオスとの再交尾率の上昇が観察された。これらの表現型は *SP* 変異体オスと交尾したメスの表現型と同じであることから、繁殖力の低下は付属腺 *SP* 発現の低下が原因であると予想された。しかし、*dve* 変異体オスでは正常に *SP* が合成され、*SP-GFP* 融合タンパク質は交尾によってメスの子宮内に正しく輸送されていた。RNAi 法を用いて *dve* 発現を低下させた *dve* ノックダウン個体の *SP* 輸送も正常であり、このオスと交尾したメスにおいても産卵数の減少、他のオスとの再交尾率の上昇が認められた。*dve* ノックダウン個体では、*SP* を分泌する主細胞の二核化はほぼ正常であったが、*dve* 変異体と同様に第二細胞が消失していた。つまり、*dve* 変異体オスの繁殖力低下の主要因は第二細胞の消失であり、第二細胞から分泌される未知因子が *SP* 活性に重要である可能性が強く示唆された。*dve* 変異体や *dve* ノックダウン個体の成虫付属腺では、第二細胞が萎縮したと思われる細胞が認められ、第二細胞の特徴を示す前駆体細胞が蛹期に存在していたことから、*Dve* は第二細胞の運命決定ではなく、その生存・維持に必要であると結論した。

本研究は、付属腺第二細胞の生存・維持を担う因子として *Dve* を同定し、第二細胞の生理学的意義を初めて明らかにしたものである。

## 論文審査結果の要旨

ショウジョウバエの附属腺は、ヒトの前立腺や精嚢と機能的に相同な器官として知られており、オスの精液中に83種類の附属腺タンパク質 (accessory gland proteins, Acps) を分泌する。交尾によってメスの生殖器内に輸送されたAcps は、メスの交尾後行動を変化させることで繁殖効率を高める。また、附属腺が萎縮する *paired (prd)* 変異体のオスは不妊になることが知られている。附属腺上皮は約 1,000 個の主細胞 (main cell) と 40 個の第二細胞 (secondary cell) から構成され、これら二種類の細胞全てが二核であるという極めて特徴的な細胞形態を示す。主細胞から分泌される Acp の一つであるSex Peptide (SP) (=Acp70A) は、交尾したメスの産卵を促進するとともに、他のオスとの再交尾を抑制することで、自分の子孫がより多く残るように作用する。

本論文では、附属腺分化におけるホメオドメイン型転写制御因子 Defective proventriculus (*Dve*) の機能解析を行っている。附属腺細胞における *Dve* の発現は蛹期初期から開始し、成虫期においては第二細胞特異的に発現が維持されることを見出した。一方、主細胞における *Dve* 発現は蛹期後期から成虫期にかけて抑制され、この発現抑制には転写制御因子 *Prd* およびユビキチン・プロテアソームシステムの活性が必要であることを明らかにした。*dve* 変異体では、(1) 附属腺の萎縮、(2) 第二細胞の消失、(3) 主細胞の二核化阻害などの異常が観察され、*dve* 変異体オスと交尾したメスは、産卵数の低下、再交尾率の上昇を示した。この表現型は *SP* 変異体オスと交尾したメスと同じであるが、*dve* 変異体では *SP* の発現やメス生殖器への *SP* 輸送はともに正常であった。RNAi 法を用いた *dve* ノックダウン個体と交尾したメスも同様の表現型を示したことから、繁殖力低下の主要因は附属腺第二細胞の消失であり、第二細胞から分泌される未知因子が *SP* の安定化・活性化に関わることを示した。本研究は、附属腺第二細胞の生存・維持を担う因子として *Dve* を同定し、第二細胞の生理学的意義を初めて明らかにしたものであり、博士の学位に値すると判断した。