



84

ショウジョウバエ配偶行動の基盤をなす神経構築
に関する分子遺伝学的研究

(課題番号 03833028)

平成4年度科学研究費補助金(一般研究C)
研究成果報告書



平成5年3月

研究代表者 小 松 明
(東京女子医科大学講師)

ショウジョウバエ配偶行動の基盤をなす神経構築
に関する分子遺伝学的研究

(課題番号 03833028)

平成4年度科学研究費補助金(一般研究C)
研究成果報告書

平成5年3月

研究代表者 小 松 明
(東京女子医科大学講師)

は し が き

本研究の目的は、ショウジョウバエの示す多彩な行動のうち、もっとも複雑なもののひとつである配偶行動に着目し、その基盤となっている神経回路の構造、機能および発生にかかわるメカニズムを、分子生物学的手法を用いて解明することである。配偶行動は、性選択圧の下で種特異的で多様な行動パターンに進化したものであり、遺伝子支配の下に特異的な神経回路と細胞メカニズムが働いていると考えられる。本研究では、分子生物学的手法を取り入れることにより、遺伝子から配偶行動発現までを分子-細胞-個体の各レベルを通し、トータルに理解することをめざした。2年の研究期間において得られた研究成果の要約を以下に記す。

キイロショウジョウバエの配偶行動は極めて定型的で、雄は雌を発見すると定位、追跡の後、片翅の振動によって求愛歌を発する。雌はこの求愛歌によってその雄が同種か否かを判別し、交尾を受け入れるか、拒絶するかを決める。Jumpstart と呼ばれる方法で動く遺伝子、P 因子をゲノムに1個挿入し、突然変異を誘発、スクリーニングによって配偶行動に異常を来たした数系統を分離した。このうちのひとつは、雄が雌にまったく求愛しないもので *satori* と命名したが、その後の遺伝解析により、これが第3染色体上の *fruitless* の対立遺伝子であり、雄が雄に向かって求愛する同性愛系統であることが判明した。大腸菌の β -galactosidase 遺伝子をレポーターとして利用することにより、*satori* 遺伝子が脳の一部の細胞に発現していることが予測された。一方、*spinster* は処女雌が異常に強い交尾拒否行動をとるために交尾が稀にしか起こらない変異体である。*spinster* のcDNAクローニングによって、この遺伝子が新規の膜蛋白質をコードしていることが分かった。

こうした成果の上になって、行動を分子の言葉で理解する道を今後模索して行きたい。

実験にあたって、町山悦子（東京女子医科大学第一生理学教室研究生）、上田 龍（三菱化成生命科学研究センター主任研究員）、佐野弓子（同研究員）の諸氏の協力を得た。研究の実施にあたって、橋本葉子教授（東京女子医科大学第一生理学教室）と三宅 端博士（三菱化成生命科学研究センター分子生物学研究部長）のご配慮と支援を戴いた。ここに、これらの協力・支援に対し感謝の意を表したい。

本研究を遂行するにあたっては、以下の2つの研究プロジェクトからの援助も戴いた。山元大輔を研究代表者とする三菱化成生命科学研究センター内の研究プロジェクト、「脳神経系の分子遺伝学的研究」、および井濃内 順（蚕糸・昆虫農業技術研究所）を研究代表者とする省際基礎研究「無脊椎動物の脳・神経系の構造および情報処理機構の解明に関する研

究』（研究分担者：小松 明、分担研究課題：「ショウジョウバエの行動の基盤をなす神経構築に関する分子遺伝学的研究」）。

このような研究体制をとっているため、研究成果では一部重複する面が出てきた。そこで論文発表等では重複を考慮して謝辞を記すことにした。

研究組織

研究代表者：小松 明（東京女子医科大学講師）

研究分担者：山元大輔（三菱化成生命科学研究所主任研究員・グループリーダー）

研究経費

平成3年度	1,400	千円
平成4年度	300	千円
<hr/>		
計	1,700	千円

研究発表

小松 明

(1) 学会誌等

- 1) 小松 明、町山悦子、佐野弓子、上田 龍、山元大輔：*Drosophila* 致死突然変異体の中枢神経系におけるエンハンサートラップ法による遺伝子発現、東京女子医科大学総合科学研究所紀要、11：1（1990）。
- 2) 小松明：イオンチャネルの分子生物学、*Cell Science*、7(12): 988-996 (1991)。
- 3) 小松 明、町山悦子、佐野弓子、上田 龍、山元大輔：エンハンサートラップ法を用いた*Drosophila* 妊性系統の中枢神経系における遺伝子発現、東京女子医科大学総合科学研究所紀要、12：8-9（1991）。
- 4) 小松 明：脳・神経活動と細胞内pHとの相互作用、*日本臨床*、50(9): 2094-2099 (1992)。

(2) 口頭発表

- 1) Komatsu, A., Machiyama, E., Sano, Y., Ueda, R. and Yamamoto, D.: Expression of a reporter gene in the CNS of *Drosophila* lethal mutants induced by P-element insertional mutagenesis, *Zool. Sci.*, 7(6): 1027 (1990)、(日本動物学会台61回大会、新潟、1990年10月3-5日)。
- 2) 町山悦子・小松 明:エンハンサートラップ法を用いた中枢神経系に発現する遺伝子の組織学的検索、東京女子医科大学雑誌、61(7): 598-599 (1991)、(東京女子医科大学学会第287回例会、東京、1991年6月13日)。
- 3) Komatsu, A., Machiyama, E., Tseng, S.-R., Tsujimura, H., Sano, Y., Ueda, R. and Yamamoto, D.: Expression of a reporter gene in the CNS of *Drosophila* fertile strains induced by P-element insertional mutagenesis, *Zool. Sci.*, 8(6): 1038 (1991)、(日本動物学会第62回大会、岡山、1991年10月13-15日)。
- 4) Machiyama, E., Komatsu, A., Sano, Y., Ueda, R. and Yamamoto, D.: Gene expression in different organs of *Drosophila* enhancer trap lines, *Zool. Sci.*, 8(6): 1109 (1991)、(日本動物学会第62回大会、岡山、1991年10月13-15日)。
- 5) 西川慶子・田中省二・小松 明・上田 龍・佐藤華奈子・山元大輔：キイロショウジョウバエ配偶行動突然変異体 *satori* の解析、日本発生生物学会第25回大会、横浜、1992年5

月28-30日。

- 6) Isono, K., Hariyama, T., Arikawa, K., Komatsu, A., Yamamoto, Y., Ueda, R., and Sano, Y.: Mutation that disrupts rhabdomeres of retinal cells nonspecifically in the compound eyes of *Drosophila*, *Zool. Sci.*, 9(6): 1233 (1992)、(日本動物学会第63回大会、仙台、1992年10月7-9日)。

(3) 出版物

- 1) 小松 明：膜電位依存性K⁺チャンネル、【イオンチャンネル】、東田陽博（編）、メジカルレビュー社、東京、1993年、印刷中。

山元大輔

(1) 学会誌等

- 1) 山元大輔：ショウジョウバエの記憶・学習ミュータント、*Brain Medical*、3: 69-74 (1991)
- 2) Yamamoto, D. and Ishikawa, S.: The neuromodulator octopamine attenuates extrajunctional glutamate sensitivity in insect muscle, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 18: 265-272 (1991).
- 3) 山元大輔：ニューロンは分裂するか、*医学のあゆみ*、157: 129 (1991)。
- 4) 山元大輔：配偶行動異常突然変異体、*Cell Science*、8: 33-42 (1992)。
- 5) 山元大輔：ホモ学事始め、*文芸春秋*、70: 87-88 (1992)。
- 6) 山元大輔：ショウジョウバエにおけるアポトーシス研究の現状、*実験医学*、10: 2096-2098 (1992)。
- 7) Tei, H., Nihonmatsu, I., Yokokura, T., Ueda, R., Sano, Y., Okuda, T., Sato, K., Hirata, K., Fujita, S. and Yamamoto, D.: *pokkuri*, a *Drosophila* gene encoding an E-26-specific (Ets) domain protein, prevents overproduction of the R7 photoreceptor, *Proc., Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 6856-6860 (1992).
- 8) Yamamoto, D.: Positive and negative signaling mechanisms regulating photoreceptor induction in the developing *Drosophila* retina, *Genetica* (in press).
- 9) 山元大輔：性行動の分子遺伝学、*遺伝*、1993年（印刷中）。
- 10) 山元大輔：ショウジョウバエの光受容ニューロン分化に関わる遺伝子群、蛋白質・核酸・酵素、1993年（印刷中）。

(2) 口頭発表

- 1) Yamamoto, D., Sano, Y., Ueda, R., Togashi, S. Tsurumura, S. and Sato, K.: Newly isolated mutants of *Drosophila melanogaster* defective in mating behavior, Abstract for the 3rd European Symposium on *Drosophila* Neurogenetics, Abst. p.80 (1990).
- 2) Yamamoto, D., Sano, Y., Ueda, R., Nihonmatsu, I., Tsurumura, S. and Sato, K.: New mutants of *Drosophila melanogaster* with defects in mating behavior, *Neurosci. Res. Suppl.* 14: S17 (1991) (第14回日本神経科学学会大会、1990年12月)。
- 3) 山元大輔：ショウジョウバエの配偶行動を支える遺伝子の働き、21世紀—あたらしいライフサイエンスの展開、三菱化成生命科学研究所20周年記念シンポジウム記録集、p.83-91 (1991)。
- 4) Yamamoto, D.: *pokkuri*, a *Drosophila* gene encoding an Ets domain protein, prevents overproduction of the R7 photoreceptor, The 29th NIBB Conference: The Visual System of *Drosophila*, Abstract p.69-71, Okazaki, March (1992).
- 5) 山元大輔：配偶行動は遺伝子によって決まる、神奈川県予防医学協会主催マスコミ支局長会、横浜、1992年4月。
- 6) 横倉隆和、程 肇、山元大輔：キイロショウジョウバエのリボゾームタンパク質S4遺伝子の構造と発生段階における発現パターンの解析、日本発生生物学会第25会大会抄録集、p.161、1992年5月
- 7) 山元大輔、程 肇、二本松伊都子、横倉隆和、上田 龍、佐野弓子、富樫 伸、平田加奈子、佐藤華奈子：キイロショウジョウバエR7光受容細胞の過剰誘導を抑制する *pokkuri* 遺伝子の構造と機能、日本発生生物学会第25会大会抄録集、p.171、1992年5月。
- 8) 西川慶子、田中省二、小松 明、上田 龍、佐藤華奈子、山元大輔：キイロショウジョウバエ配偶行動突然変異体 *satori* の解析、日本発生生物学会第25会大会抄録集、p.177、1992年5月。
- 9) Yamamoto, D.: Analysis of *satori*, a *Drosophila* mutant with defects in mating behavior, International Symposium "Recent Advances in Molecular and Developmental Genetics of Insects", Kashikojima, 1992 July.
- 10) 山元大輔：複眼における細胞運命決定の遺伝子機構、第6回GIBCO-BRLシンポジウム「遺伝学を支える生物達:ショウジョウバエ、メダカ/ゼブラフィッシュ、ネマトーダ」1992年6月。

- 11) 山元大輔：「永遠の処女」と「同性愛」突然変異、第36回日本応用動物昆虫学会大会シンポジウム、抄録集、p.323、1992年9月。
- 12) Isono, K., Hariyama, T., Arikawa, K., Komatsu, A., Yamamoto, Y., Ueda, R., and Sano, Y.: Mutation that disrupts rhabdomeres of retinular cells nonspecifically in the compound eyes of *Drosophila*, *Zool. Sci.*, 9(6): 1233 (1992)、(日本動物学会台63回大会、仙台、1992年10月7-9日)。
- 13) 横倉隆和、上田 龍、山元大輔：ショウジョウバエ配偶行動突然変異体 *croaker* の解析、日本遺伝学会第64回大会、抄録集、p.61、1992年10月。
- 14) 高木直子、田中良晴、上田 龍、山元大輔、蒲生寿美子：ショウジョウバエの麻酔抵抗性および感受性突然変異、日本遺伝学会第64回大会、抄録集、p.61、1992年10月。
- 15) 山元大輔：ショウジョウバエの複眼形成における *pokkuri* 遺伝子の役割、日本遺伝学会第64回大会シンポジウム、抄録集、p.39、1992年10月。
- 16) 山元大輔：複眼形成における細胞運命決定の遺伝子メカニズム、重点領域研究「ショウジョウバエを用いた遺伝子機能解析」第1回公開班会議、名古屋、1992年11月20-21日。
- 17) Nihonmatsu, I., Hirata, K., Ueda, R. and Yamamoto, D.: Expression of the *pokkuri* protein, a possible transcription regulator involved in the photoreceptor fate determination in *Drosophila*, *Neurosci. Res. Suppl.* 17: S139 (1992) (第16回日本神経科学学会大会、大阪、1992年12月)。
- 18) 馬嶋 景、佐藤華奈子、上田 龍、山元大輔：ショウジョウバエの配偶行動異常を引き起こす *fickle* 遺伝子変異の解析、第15回日本分子生物学会年会、抄録集、p.141、京都、1992年12月。
- 19) 宮本裕史、佐藤華奈子、平田加奈子、上田 龍、富樫 伸、二本松伊都子、山元大輔：ショウジョウバエ光受容細胞の分化異常を起こす突然変異体 *misty* の解析、第15回日本分子生物学会年会、抄録集、p.141、京都、1992年12月。

研 究 成 果

はじめに

生物にとって生殖は、種の存続を実現する上で最も重要な営為である。事実、個体の生存そのものが種の存続に従属するかに見えることもしばしばある。カマキリの雄が交尾の最中に相手の雌の餌となるのは、その象徴的な一例である¹⁾。フユシャクガの雌は翔も口器もなく、移動することも餌をとることもできないが、雄に見い出されて交尾をし、産卵するまでは何とか生き延びることができる²⁾。まるで生殖のために必要最低限の「生命」だけが与えられているかのようなのである。そして実際、個体の生存上の利害とは無関係に、生殖過程での有利さゆえに進化を遂げたと考えられる形質が、さまざまな動物、特にその雄に認められる。クジャクの雄の尾羽や牡鹿の角がその典型であろう。これが性選択と呼ばれるものである。性選択は形態ばかりか、性行動それ自体にも作用し、数多くの儀式化された行動パターンを産み出してきた³⁾。

ショウジョウバエの求愛も、多くの「しきたり」にのっとって遂行される極めて複雑な行動である⁴⁾。雄による求愛パフォーマンスが不十分なときには、雌は交尾に応じない。

「雌による雄の選択」という性選択の一般的構図が、ここにも当てはまるように見える。一方、配偶行動パターンは種特異的であり、雄の行動のある局面をとらえて、雌は相手と同種の雄であるか否かを識別する。つまり、種の存続にとって性行動は世代を越えて安定に保たなければならない反面、性選択の矢面に立たされ、より雌に好まれるものへと変化しよう常に求められていることになる。このように、現在我々が観察している配偶行動は進化の最も先鋭な断面である。その分子基盤の分析によって、行動の変容を契機とした進化のメカニズムを解明しうるかもしれない。こうした観点に立って、私たちはキイロショウジョウバエを材料に、配偶行動の分子遺伝学的研究を開始した。

1. 配偶行動の概要

ショウジョウバエの配偶行動の第一歩は、他個体の追跡に始まる(図1)。追跡は、動く対象に対する一般的な反応のようで、雄個体は対象が雄であっても追跡行動をとることがある。しかし、配偶行動の次のステップへと進むのは、相手が雌の場合だけである。雌に対しては雄はその脇へと走り寄り、突然片方の翅を真横に持ち上げて高頻度に震わせる。その数秒後には雌の体の反対側に回り込み、翅も先ほどとは反対側のものを使って再び振動させる。雄はこの行動をせわしなく繰り返しながら雌の周囲を動き回る。当初、雄の跡をかわそうとするかのように見えた雌も、雄がこの行動を反復するうちに次第におとなし

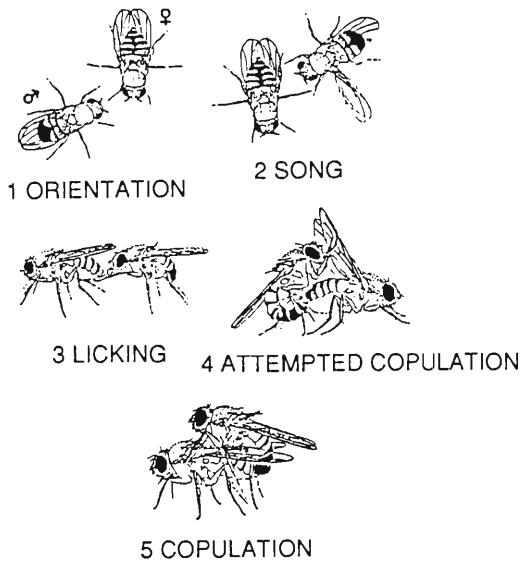


図1. キロショウジョウバエの配偶行動パターン⁹⁾。

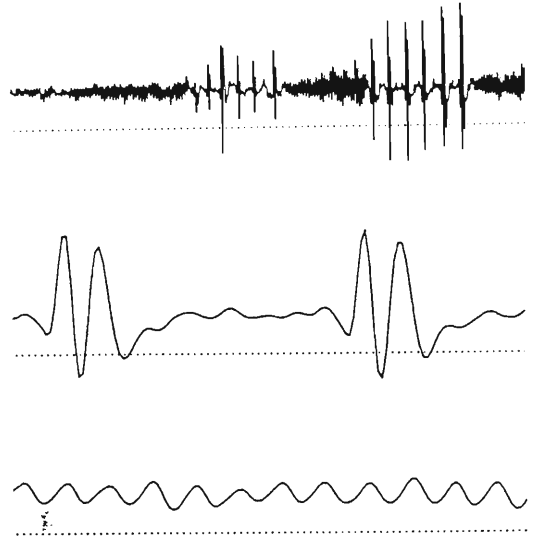


図2. キイロショウジョウバエの求愛歌
野生型のバルスソングとサインソング。下2段に時間軸を引き伸ばしてそれぞれを示す。トレース全体で1秒(上)または100ミリ秒(下2段)。

くなっていく。

雄の翔の振動によって、特殊な音が発生するが、これが求愛歌 (love song) である (図2)。小型マイクロフォンを使って録音し、オシロスコープ上で波形を観察してみると、求愛歌は2種類の成分から成り立っていることが分かる。1つは時間経過の速いスパイク状のもので、バルスソングと呼ばれる。これは、通常2、3個から10数個のバルスがバーストとなって現われる。もう1つはサインソングと呼ばれるもので、100 Hz 程度の正弦波からなっている。求愛歌の役割は、人工の歌や録音した歌を雌に聞かせて、その交尾行動がどのように変化するかを調べることによって知ることができる。雄の翔を切り取って歌を歌えなくしてしまうと、雌との交尾に手間取るようになる⁹⁾。しかしそのとき、録音しておいた正常な歌を流しておくで交尾成功率に有意な回復がみられる⁹⁾。またあらかじめ歌を雌に聞かせておき、その後雄と一緒にするという方法でも交尾の促進がみられる⁹⁾。その効果はサインソングだけで十分に認められる⁹⁾。一方、人工のバルスソングを同様に聞かせても、交尾の促進は起こらないと当初報告された⁹⁾。バルスソングは種によって音スパイクの間隔が異なっている (例えば *D. melanogaster* では平均35 msec、*D. simulans* では50 msec である) ことから、種認知のシグナルとなる可能性が示唆された⁹⁾。しかしその後の詳しい研究で、バルス間隔は平均値をはさんで短くなったり長くなったり変動するこ

と、その短縮・延長の変動は周期的で、かつその変動周期にも種特異性がある (*D. melanogaster* で55 sec、*D. simulans* で35 sec) ことが分かってきた⁹⁾。そして実はこの変動周期が重要で、パルス間隔をその種の歌の平均値に固定した場合には、確かに何の交尾促進効果もないが、種固有の周期で変動させると、交尾が著明に増大したのである⁹⁾。このような実験から求愛歌には、雌の性的受容性を一般的に上昇させる催淫作用と、種認知信号としての機能とがあると考えられるに至った。

さて、求愛の甲斐あって雌の動きが鈍ってくると、雄はすかさず雌に走り寄り、口吻で雌生殖器を舐める (licking)。続いて雌の翹をつかんで交尾を試み (attempted copulation)、うまくいくと約20分間雌の背中に乗る形で交尾が継続する。もし雌に拒否されて交尾が成立しないと、雄は求愛歌を歌うところからやり直す。交尾をした雌はその後再び求愛を受けても、産卵管を突き出して交尾拒否姿勢をとり、少なくとも1日、通常は2~3日は雄を受け入れない。このように多くのステップからなる配偶行動を、突然変異によって要素に分解して解析するというのが私たちの戦略である。

2. P因子挿入による突然変異誘発

突然変異の誘発法としては、X線や γ 線の照射、EMS等化学物質の投与、トランスポゾン挿入の3つが代表的である。このうちトランスポゾンを利用する方法は、突然変異誘発効率が十分高い上にトランスポゾンを目印として染色体上の遺伝子の位置を決定できるといふ長所がある。また挿入点近傍のゲノムDNAをプラスミッドレスキュー法によってただちに得ることが可能なので、遺伝子クローニングが容易であることも大きな利点である。さらにトランスポゾン内に大腸菌の*lacZ* 遺伝子を組み込んでおくと、その産物である β -galactosidaseの活性染色により、変異を起こした遺伝子の発現パターンを、かなり正確に予測することが可能となる⁹⁾。キイロショウジョウバエにおいては、2つの異なる系統の雄と雌を単に掛け合わせるだけで、ゲノムにP因子(トランスポゾン)を1コピー挿入することができる⁷⁾。mutatorと呼ばれる系統のX染色体にはP因子 (mutator element) が乗っているが、これは転移に必要なtransposaseという酵素を自ら合成できないよう細工されている。もう一方のjumpstarter系統も第3染色体上に別のP因子 (jumpstarter element) が乗っているが、こちらはtransposaseを生産するにもかかわらず、転移不能となったものである。この2系統を交配すると、mutator elementはjumpstarter elementからtransposaseの供給を受け、ゲノムの新しい場所へ転移しうようになる。転移した部位に遺伝子が存在していれば、その遺伝子の発現に異常を来たしたり、遺伝子そのものが破壊されて機能が失われる

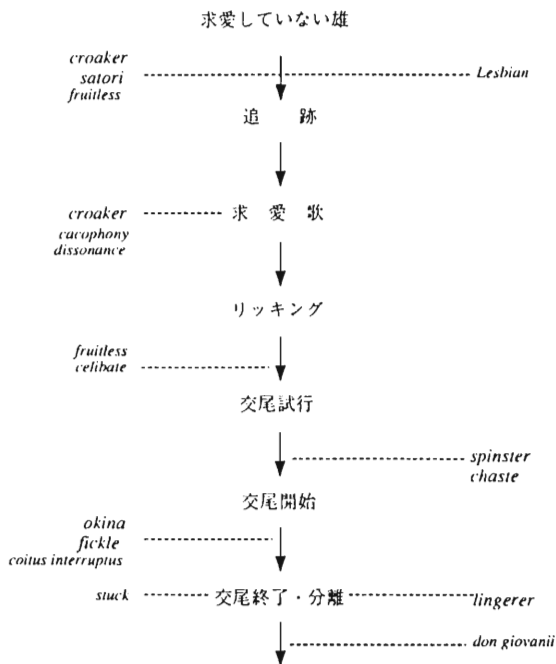


図3. 配偶行動異常突然変異体

中央に行動の各ステップを描き、雄に異常の生じる変異（左）と雌側の変異（右）のそれぞれが、どのステップに作用するかを示した。大きな文字で記載したものは、我々が分離した新しい変異体である。

ことになる。mutator element には目の色を支配する *white^w* 遺伝子や、ネオマイシン耐性遺伝子 (*neo^r*) を入れておき、これらをマーカーとして転移の生じた個体を選択して系統を樹立するのである。我々はこの「jumpstart 法」を用いて約2000のP因子挿入系統を作出し、肉眼による行動観察と求愛歌の記録とを行って、行動異常個体をスクリーニングした。

3. 突然変異体の分離

その結果、配偶行動の異なる部に異常の現われるP因子挿入変異体7系統の分離に成功した⁹⁾ (図3)。*satori* は雄が雌に対して求愛しない変異体、*croaker* は求愛行動の開始に著しく時間がかかり、求愛歌パターンにも異常の生じた変異体、*spinster*、*chaste* は処女雌が交尾を嫌う変異体、*fickle*、*okina* は交尾持続時間が顕著に変動する変異体、*lingerer* は交尾終了機構に異常があり、雌雄の分離に困難の生ずる変異体である。このようにして分離した変異体のうち、*satori* と *spinster* について詳細な行動学的な解析と共に分子生物学的な解析を行ったので、以下それについて述べる。

4. *satori* 突然変異体

我々のスクリーニング法は、各系統10ペアずつ、1時間にわたって実験容器内での行動を観察し、実験開始後交尾までの遅延時間、交尾持続時間、交尾成功率を測定するとい

うというものである。*satori* 変異体はこの一次スクリーニングで、全く交尾しない系統として分離された。不妊変異は約150系統得られているが、交尾を全く行なわなかったのは*satori* だけ1つである。続く実験では、*satori* の雄と野生型の雌、*satori* の雌と野生型の雄の2通りの組み合わせで先と同じ行動観察を行なってみた。すると、*satori* の雌は野生型の雄と100%交尾をした（野生型同士のペアよりもよい成績である）が、*satori* の雄は野生型の雌と全く交尾をしなかった。この実験から、交尾が起こらないのは雄側に何らかの障害があるためであると結論される。次に、*satori* の雄がどのくらい雌に求愛するか、求愛インデックスを測定してみた。求愛インデックスとは、単位時間当たりの雄の求愛時間を示した指数である。通常雌雄を同じ容器に入れてから10分間観察し、雄が片翅を上げて求愛歌を歌っている時間、lickingしている時間、attempted copulationに費やした時間、この全てを加算して全観察時間に占める割合を%表示する。この求愛インデックスは、雄がどれくらい求愛に熱心かを示す指標であると同時に、雌がどれだけ魅力的か、雌のセックスアピールを測る指標ともなる。さて、野生型の雄は、野生型の雌に対しても*satori* の雌に対しても活発に求愛し、その求愛インデックスは30-40となった。これに対して*satori* の雄は、相手が野生型か*satori* 変異かにかかわらず、雌に対して全く求愛を行わず、求愛インデックスは0であった。行動観察は通常1cm³の容器内で行なっており、これを狭めると野生型同士では交尾成功率が増すのだが、*satori* では0.2cm³にまで狭めてもやはり求愛行動は認められず、小型マイクロフォンを用いて求愛歌を記録しようとする試みも完全に徒労であった。こうした実験から我々は、この変異体は性欲を失ってしまったに違いないと考えている。

この遺伝子の位置を決定するために、P因子ベクター中の配列Bluescriptをプローブとして唾腺染色体への*in situ* hybridizationを行なったところ、*satori* 変異は第3染色体91Bにマップされた。ところがこの位置には既に知られた遺伝子が一つ存在していた。それは*fruitless* と呼ばれる雄の不妊変異である。*fruitless* の雄は、雌にも雄にも求愛し、雌と交尾することはないとされている。即ち、同性愛行動を示すのである。そこで早速*satori* の雄2匹を実験容器に入れて行動観察を行なったところ、明らかに雄が雄に求愛した。野生型の成熟雄同士の間では、出会い頭に誤って求愛することはあっても、持続的な求愛は決して見られない（求愛インデックス0.18±0.15）。これに対して*satori* の雄同士では再現性よく求愛行動が観察された（求愛インデックス5.1±1.5）。

次に*fruitless* との関係をはっきりさせるために、相補性試験を行った。すると、*satori* / *fruitless* というヘテロ接合体の雄も、他の雄に対して明瞭な求愛行動を示した。つまりこの表現形に対しては、*satori* と*fruitless* は相補的でない。すなわち同じ座位の対立遺伝子で

あるということになる。ところがこのヘテロ接合体の雄は雌にも求愛し少数ながら雌と交尾するものもあった。*fruitless* の雄は雌にも求愛するとされているが、*satori* の雄が雌に求愛しないことは上述の通りである。さらに交尾にいたっては、*fruitless* についても *satori* についても、従来全く起こった例は知られていない。この結果をまとめると、*satori* 雄が雌に対して求愛するという表現型は *fruitless* により相補されないが、雌と交尾しないという表現型は *fruitless* によって相補されるということになる。Gailey と Hall⁹⁾ によると、*fruitless* 表現型を相補しない致死変異が複数存在する。我々も *satori* の染色体から P 因子を再転移させて、対立遺伝子変異系統をいくつか得たが、その一部には致死となるものがあった。このように *fruitless-satori* 遺伝子座はかなり複雑な構成をとっているらしく、雄への求愛抑制、雌への求愛、雌との交尾、生存維持といったいくつかの異なる機能要素に分解して理解する必要が出てきた。

いずれにせよ、*satori* 遺伝子が正常な機能を失うと、性的定位に異常を来し、同性愛行動を引き起こす点は疑いの余地はない。では *satori* 突然変異によって、体のどこに異常が起こり同性愛となるのであろうか？ *satori* 遺伝子の発現部位がわかれば、この問題を解く糸口が得られるかも知れない。ところで *satori* 突然変異を引き起こす際に用いた mutator element の中には、大腸菌の *lacZ* 遺伝子がレポーターとして組み込まれている。*lacZ* 遺伝子産物の β -galactosidase がどこに存在しているかを調べれば、*satori* 遺伝子の発現部位に関してヒントが得られるであろう。 β -galactosidase の活性染色を *satori* 変異体に施したところ、成虫の脳に *lacZ* 発現細胞を見出し、レーザー顕微鏡を用いた三次元再構成によって、これらの細胞が脳背側および腹側の表層に集中して存在することを確認した。これらの細胞の少なくとも一部が、性行動の制御に関わっているものと考えて、現在その同定を進めている。また性的定位にどのような物質が関与しているかを明かにすべく、*satori* 遺伝子のクローニングを行っている。

5. *spinster* 突然変異体

spinster はほとんど交尾をしない変異体として分離されたものである。異常は雌の側にあり、*spinster* 雌と野生型雄の交尾成功率はわずか 6% で、野生型雌の 10 分の 1 以下である。しかし、*spinster* の雌を相手に野生型の雄を求愛させると、求愛インデックスは 40 以上となり、*spinster* 雌のセックスアピールは野生型雌に比較して何ら遜色ないことがわかる。では何故交尾が稀にしか起こらないのであろうか？ *spinster* の雌は、普段とりたてて活発ということはないのだが、雄が近づいてくると途端に動きが盛んになり、雄から逃げるように走り去る。雄がさらに接近して交尾しようとする、腹部を高く持ち上げて抵抗

し、マウントしてくる雄を振り落とす。つまり *spinster* の雌が極端に強い交尾拒否行動をとるために交尾が成立しなくなるのである。

突然変異によってこのような行動異常を引き起こす *spinster* 遺伝子は、分子レベルあるいは細胞レベルでどのような機能を果たしているのでしょうか？この問いに答えるべく、我々は *spinster* 遺伝子をクローニングした。cDNAの構造解析の結果、*spinster* 遺伝子が複数の膜貫通ドメインを有する従来知られていない膜蛋白をコードしていることが分かった。この蛋白質には、伝達物質のモノアミン類を細胞内に取り込む働きをするトランスポーター蛋白質⁹⁾と一部類似した部分がある。*Spinster* 蛋白質は雌体内で、配偶行動制御に関わる情報物質の担体として機能するのだろうか？これは将来の研究によって明かにすべき重要な課題のひとつである。

おわりに

我々は、個体の行動から出発し、単一遺伝子突然変異を拠り所としてその行動の発生に参与しうる細胞集団を推定するとともに、遺伝子クローニングを介して鍵を握る分子（蛋白質）の正体を明らかにしつつある。こうして炙り出されてきた蛋白質が、それを発現する特定の細胞の中で如何に機能して最終的な行動に関わっていくのか、クローン化した遺伝子の培養細胞へのトランスフェクションや形質転換個体の作出を通じて今後明らかにしていかなければならない。また個々の突然変異について、その表現形質を増強または抑制する独立の突然変異を分離することにより、当該情報経路の上流および下流の要素を同定するという遺伝学的アプローチが是非とも必要である。配偶行動の異なる局面に作用する突然変異の全てについてこのような解析を進めれば、やがて行動を作り上げている分子マシナリーの全体像を把握できる日が来るであろう。

参考文献

- 1) 小原嘉明：行動の神経制御、現代の生物科学 9、運動と行動、p.1-24、岩波書店、東京、1974。
- 2) 熊倉正昭：フユシャク、日本昆虫記II、チョウの生活、p.191-217、講談社、東京、1967。
- 3) 長谷川真理子：雌は何をみて雄を選ぶか、科学、59: 645-653、1989。
- 4) Hall, J. C.: Genetic analysis of behavior in insects. *Comprehensive Insect Biochemistry and Pharmacology*, 9: 287-373, 1985.
- 5) 山元大輔：配偶行動異常突然変異体、*Cell Science*、8 : 33-42, 1992。
- 6) Wilson, C. et al.: P-element-mediated enhancer detection: an efficient method for isolation and

- characterizing developmentally regulated genes in *Drosophila*. *Genes and Development*, 3: 1301-1313, 1989.
- 7) Cooly, L. et al.: Insertional mutagenesis of the *Drosophila* genome with single P-elements, *Science*, 239: 1121-1128, 1988.
- 8) Gailey, D. A. and Hall, J. C.: Behavior and cytogenetics of *fruitless* in *Drosophila melanogaster*. Different courtship defects caused by separate, closely linked lesions. *Genetics*, 121: 773-785, 1989.
- 9) Shimada, S. et al.: Cloning and expression of a cocaine-sensitive dopamine transporter complementary DNA, *Nature*, 254: 576-578, 1991.