

氏名・(本籍)	たに 谷	むら 村	てい 禎	いち 一
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	理	第	667	号
学位授与年月日	昭和56年5月27日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
最終学歴	昭和53年3月 東北大学大学院理学研究科 (前期課程)生物学専攻修了			
学位論文題目	シヨウジヨウバエ糖受容機構の遺伝的解析			
論文審査委員	(主査) 教授 樋渡 宏一 教授 小西 和彦 教授 竹内 拓司			

論 文 目 次

- I 緒 論
- II 材料と方法
- III 結 果
 - 1) 行動実験
 - a) シャーレ法
 - b) カラム法
 - c) カウンター・カレント法
 - 2) 色素をマーカーとした摂食行動の解析
 - a) 色素の選定, 及び摂食行動への色素の影響
 - b) 単一糖摂食量の定量的解析
 - c) 2者選択実験
 - 3) トレハロース味覚感度における系統差

- a) 2者選択実験
 - b) トレハロース摂食量の解析
 - c) 神経応答からみたトレハロース味覚感度
- 4) 遺伝解析
- a) F_1 , F_2 解析
 - b) 組み換えテストによる遺伝子座の決定
 - c) 特殊染色体を用いた遺伝子座の決定
- 5) *Tre* 遺伝子の量的効果
- 6) トレハロース低感度突然変異体の分離

IV 考 察

- 1) 行動実験
- 2) トレハロース味覚感度における遺伝的変異
- 3) 遺伝子量効果
- 4) トレハロース低感度突然変異
- 5) トレハロース受容部位
- 6) 展 望

謝 辞

引用文献

図 表

付 表

論文内容要旨

外界の化学物質を認知する機能、化学感覚は、昆虫では、摂食、個体間のコミュニケーションなどの行動において重要な役割を担っていることが知られており、化学感覚のメカニズムを研究することは、動物行動発現機構解明への糸口になることが期待される。そこで本研究では、キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* を材料として用い、遺伝学的観点から、行動、電気生理、遺伝子作用の各レベルからの総合的な研究を味覚受容について行なった。

1) 行動実験

味覚感度における変異を検出するためには、行動レベルの簡便なスクリーニング法の開発が不可欠である。そこで、種々の行動実験を検討し、食用色素をマーカーとした摂食量の定量法を確立した。食用色素を含む糖溶液を摂食させたハエを、ホモゲナイズし遠心後、上清の色素の吸光度測定から摂食量を求めた。この方法は、微量の摂食量を簡便に、また正確に求めることができる。絶食条件による摂食量の変化、摂食の時間経過、各種糖の濃度による変化などを明らかにした。最大摂食量は、20時間絶食させたハエで、雌で $0.30\sim 0.36\mu\text{l}$ 雄で $0.25\sim 0.30\mu\text{l}$ であった。摂食の時間経過は、糖濃度によって異なるため、時間との比例関係が保たれる条件を設定した。

次に味覚感度を定量的に行動レベルで調べるために、2者選択実験の系を開発した。マイクロテストプレート上に、青、赤の2種類の食用色素でそれぞれ着色した2種類の糖寒天溶液を交互に配置し、2時間摂食させた後、ハエの腹部の青、赤の着色を実体顕微鏡下で判定、計数した。ハエは、例えば2 mM, 3 mM ショ糖間の濃度差をも識別し、より刺激強度の強い糖を選択的に摂食することが明らかとなった。また肉眼による着色の判定は、分光的な定量法で求めた実際の摂食量と一致することが確かめられた。

2) トレハロース味覚感度における遺伝的変異

1)で述べた行動実験を用いることによって、キイロショウジョウバエの系統間に、2糖類トレハロースに対する味覚感度について、高感度、低感度の2型が存在することが明らかとなった。両系統間で他の糖、グルコース、フラクトース、ショ糖に対する味覚感度には、有意な差は認められなかった。トレハロース感度を、ショ糖をコントロールとし種々のトレハロース濃度間での2者選択実験によって調べたところ、2 mM ショ糖と等しい刺激強度を有するトレハロース濃度は、高感度系統の *T-1* 雌で10.1mM、雄で10.0mM、低感度系統の *Oregon-R* 雌で57.3mM、雄で55.5mM であった。20mM トレハロース、2 mM ショ糖間の2者選択実験では、高感度系統は、トレハロースを、低感度系統は、ショ糖をそれぞれ着色率で95%以上摂食するので、青、赤の着色率の判定から、高感度、低感度を区別することができる。トレハロース感度の系統差は、トレハロース摂食量の濃度変化、時間経過においても確かめられた。さらには、電気生理的に調べた唇弁感覚毛の神経応答においても確認され、この変異は、糖受容細

胞のトレハロースに対する受容部位に生じた変異であると推測した。現在まで得られている知見から、ショウジョウバエの糖受容細胞にはグルコース、フラクトースに対して独立した受容部位が存在することが証明されている。今回、これらに加えて新たに、トレハロース受容部位の存在が明らかとなった。

3) 遺伝解析

Oregon-R, *T-1* 系統間の正逆交配の F_1 , F_2 のハエのトレハロース感度を 2 者選択実験で調べたところ、トレハロース感度の系統差は、X 染色体上に存在する単一遺伝子の支配をうけていることが明らかとなった。X 染色体の種々の遺伝マーカーを用いて、組み換えテストを行なったところ、*curler*(13.6)の近傍にこの遺伝子が存在することがわかった。高感度、低感度に関与する遺伝子座をそれぞれ *Tre*⁺, *Tre* と命名した。これはショウジョウバエにおいて、特定の糖感度を支配する遺伝子としては初めて決定された遺伝子座である。

次に、欠失、転座の特殊染色体を用いて、*Tre* 遺伝子座を唾腺染色体上のバンド上にマッピングを行なった。その結果、5A8-5C5に欠失を有する染色体は、*Tre* 遺伝子を欠き、5B1-3に切断点を有する転座染色体の左側に *Tre* 遺伝子が存在することが明らかとなり、5A8-5B 1-3に *Tre* 遺伝子が位置づけられた。

高感度系統 *Canton-S* の突然変異誘起剤エチルメタンサルフォネート処理によって、数系統のトレハロース低感度突然変異体が分離された。遺伝解析の結果、これらの変異も、*curler* の近傍にマップされた。よって、X 染色体上でトレハロース感度を支配する遺伝子は、*Tre* のみであり、*T-1*, *Oregon-R* 間の変異も、点突然変異である可能性が示唆された。

4) 遺伝子量効果

Tre, *Tre*⁺ 遺伝子の相互作用、遺伝子量効果を知るために、欠失染色体、また部分異数性 segmental aneuploidy の技法を用いて、*Tre*, *Tre*⁺ 遺伝子について種々の遺伝子組成のハエを作製し、トレハロース感度への影響を調べた。遺伝子量は、euploid を 100 とすると、雌で 100, 150, 雄では、100, 200 と変化させた。その結果両遺伝子について量的効果が証明された。*Tre*⁺ 遺伝子量が 200, 150, 100, 50, 0 と減少するにつれて感度も低下する。また、*Tre* 遺伝子についても、100, 50 では、後者の感度が低下していた。一方、雌のヘテロ接合体 *Tre/Tre*⁺, 欠失、*Tre/0*, 雄の *Tre/Tre*⁺ の重複のハエの感度は、高、低感度の中間の感度を示した。一部については、矛盾がみられるが、これらの事実から次のことが推論できた。*Tre*, *Tre*⁺ 遺伝子産物は、産生量に依存し、また両者の量比に従って味受容膜に組み込まれる。この遺伝子は、トレハロース受容体の構造遺伝子であることと矛盾しない。このように、味覚感度という神経機能において、受容体に関する遺伝子量効果が証明された。

論文審査の結果の要旨

谷村の論文はショウジョウバエのトレハロースに対する感受性を異にする突然変異のスクリーニング法を開発し、突然変異遺伝子座の決定および、その量的効果を明らかにしたものである。

先ずショウジョウバエの糖に対する味覚反応を定量化する方法を検討し、糖溶液に食用色素で着色を行うことにより、摂食量の定量ならびに選択率の定量化が、これまでの方法よりも正確に行うことができることを明らかにした。

つぎにこの方法を用いて種々の系統のショウジョウバエの糖に対する感受性の差をしらべた結果トレハロースに対して系統間に明らかな差があることが判明した。この差は唇弁感覚毛の神経応答を比較してもインパルスの発生差として認められ、この差がトレハロース受容部位の差によるものであることが明らかになった。

つぎに上記のトレハロース感受性の差がどのような遺伝子に支配されているかを知るために交雑実験を行い、これが X 染色体上の単一遺伝子に支配されていること、その遺伝子座は *cx* のごく近くに存在することを明らかにした。また新たに誘発し分離したトレハロース低感度突然変異体もすべて同じ遺伝子座の突然変異であることを知った。

最後に segmental aneuploidy を利用し遺伝子量を異にする系統を作製し遺伝子量とトレハロース感受性に比例関係が見られることを明らかにし、受容部位の構造に関する考察を行った。

以上、谷村の論文は自立して研究を行うのに十分な研究能力と学識を有することを示しており、理学博士の学位論文として合格と判定した。