

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 大 林 富 美

本論文「ショウジョウバエの性決定遺伝子 *doublesex* および *fruitless* に相同なカイコの遺伝子の構造と発現」にまとめられた研究は、ショウジョウバエとは異なる性決定システムを持つカイコから、ショウジョウバエの性決定遺伝子 *dsx* や *fru* に相同な遺伝子を単離し、それら相同遺伝子の構造解析と発現解析によって、カイコの性決定機構の一端を解明しようとしたものである。論文は2章からなり、骨子は以下の4項目である。

## 1. ショウジョウバエの *dsx* に相同なカイコの遺伝子 *Bmdsx* の cDNA の構造と雌雄差

ショウジョウバエの性決定遺伝子 *dsx* は、遺伝子の性特異的転写を制御する転写因子をコードする。カイコのESTを探索した結果、*dsx* に相同な配列を2個発見した。これに対応する遺伝子はカイコの第25染色体に1コピー存在しており、遺伝子名を *Bmdsx* とした。cDNAのクローン化や、様々な発育段階の諸組織を用いたRT-PCRにより、雄の *Bmdsx* cDNAの塩基配列には、雌cDNAの配列の一部249塩基に相当する部分が無いことが判った。雌雄で異なる *Bmdsx* mRNAは、同一のpre-mRNAから選択的スプライシングによって生じると考えられた。予想されるBmDSXのアミノ酸配列を雌雄で比較したところ、N末端側は雌雄共通で、ハエDSXのDMドメインに80%の相同性を示すDNA結合領域が存在した。C末端側は雌雄で異なっていた。

## 2. *Bmdsx* mRNA および BmDSX タンパク質の発現時期、発現組織、およびその雌雄差

ノーザン解析により、*Bmdsx* mRNAは、雌で10.6kb、雄で10.4kbの長さであり、生殖巣、脂肪体、フェロモン腺などで強く発現していた。脂肪体での *Bmdsx* mRNAの量は変態に伴って変動した。BmDSXの雌雄共通領域のアミノ酸配列に基づいて抗体を作製し、脂肪体におけるBmDSXタンパク質の発現をウェスタン法で解析した結果、BmDSXは終齢幼虫では雌雄ともに発現するが、蛹期では雌特異的に発現していた。精巣と卵巣における *Bmdsx* mRNAとBmDSXタンパク質の局在を組織学的に観察したところ、生殖細胞よりも体細胞において顕著であった。また限性黒卵系統を利用し、胚子における *Bmdsx* mRNAの雌雄差を解析した結果、*Bmdsx* mRNAの雌雄差は産下後90時間以降に見られた。一方、倍数体の利用により、*Bmdsx*の性特異的な発現がW染色体の存否に強く支配されることが示された。以上の結果から、カイコは、性決定機構がショウジョウバエと異なるにもかかわらず、*doublesex* 相同遺伝子を性のスイッチとして使っているものと考察した。

### 3. キイロショウジョウバエの *fru* に相同なカイコの遺伝子 *Bmfru* cDNA の構造とその多様性

*fru* はキイロショウジョウバエの神経系の性決定遺伝子である。カイコの EST データベースを探索した結果、*fru* に相同な塩基配列を持つ cDNA クローンを 2 つ発見した。その遺伝子はカイコの第 6 染色体に 1 コピー存在すると推定され、*Bmfru* と命名された。cDNA ライブラリーをスクリーニングし、新たに 3 種類の cDNA クローンを得た。これら 5 つの *Bmfru* cDNA クローンは 5' 寄りの 931bp にほぼ完全に一致する塩基配列を共有していた。しかし、5'-UTR の一部、ORF の 3' 側、および 3'-UTR の塩基配列は、各クローンごとにまったく異なっていた。cDNA の塩基配列より予想されるアミノ酸配列は、N 末端側 301 残基が全 5 クローンで完全に一致していた。C 末端側には 3 タイプの異なるジンクフィンガーモチーフが存在しており、そのうち一つのタイプは、キイロショウジョウバエの性決定に関与する「タイプ B」の FRU のジンクフィンガーと 91 % の相同性を示した。*Bmfru* mRNA には構造上の雌雄差が見られなかった。

### 4. *Bmfru* mRNA の発現に関する解析

ノーザンブロットングの結果、*Bmfru* mRNA は生殖巣と頭部で発現しており、4 種類の mRNA が検出された。しかし、mRNA 発現量の雌雄差は認められなかった。ショウジョウバエ *fru* においては、性特異的な翻訳抑制が知られているので、*Bmfru* がカイコの性分化に関与するか否かを結論するには、さらにタンパク質レベルでの解析が必要である。

以上のように、本論文で述べられた研究結果は、カイコおよび昆虫の性の理解に大きな前進をもたらすものであり、基礎生物学・農業生物学の両面に貢献する内容である。よって、審査委員一同は本論文を博士（農学）の学位論文としての価値があるものと判断した。