2014年度 修士論文要旨

キイロショウジョウバエの精子運動の活性因子に関する研究

Study of the sperm activating factor of *Drosophila melanogaster*

中央大学大学院 理工学研究科 生命科学専攻

上村研究室 新谷 賢一

キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)は節足動物門、昆虫綱、ハエ目(双翅目)に属しており、生命科学の分野では遺伝学、分子生物学、発生生物学などの実験材料として広く用いられているモデル生物である。しかし、生理学的アプローチを用いた研究の多くは行われておらず、特に生殖の機構に関する研究は乏しいと言わざるを得ない。メスのショウジョウバエは2種の貯精嚢をもち、交尾時にオスから放出された精子はこの貯精嚢に貯められ、この貯精嚢に格納された精子が卵の授精に用いられていることが知られている。過去の研究ではオスの精巣内から採取した精子とメスの子宮に放出された精子の鞭毛打周波数を比較し、子宮内に放出された精子の鞭毛打周波数の方が高いと示されている(Köttgen M, *et al.* 2011)。ここから、ショウジョウバエの精子が、哺乳類での精子活性化プロセスと類似したプロセス、つまり、メス体内で活性化のスイッチが入ることが授精の効率をあげる上で重要な機構になっている可能性を示唆している。また、交尾時にオスからメスの子宮に放出された精子はまずアーク線波形を持ち円弧上に沿って鞭毛打を行い、子宮から貯精嚢に精子が移動する際には円弧上に沿うような波形を持ち尾部先導の遊泳を行い、卵授精時に貯精嚢から精子が放出される際には螺旋状波形で頭部先導の遊泳様式を取ることが示されている(Yong Yang and Xiangyi Lu, 2011)。つまり、鞭毛打波形が変化しない場合には貯精嚢への精子の移動や卵授精が行われな可能性はある。しかしながら、これら精子鞭毛打周波数を上昇させる因子や、鞭毛打波形を変化させる因子の特定には至っていない。

カイコガを用いた以前の研究では、オスの前立腺よりInitiatorinと呼ばれるセリンプロテアーゼ様の物質が生成されていることが判明しており、射精時の精子活性化に関与しているということが考えられている(Nagaoka S, *et al.* 2012)。また、オスのショウジョウバエの附属腺からは射精時に精液タンパク質(Seminal Fluid Protein)が分泌され、ここには種々の性ペプチド(Sex Peptide)を含むことが判明している(Aigaki T, *et al.* 1991)。この性ペプチドにはセリンプロテアーゼ様の物質なども含まれ交尾時に精子とともにメスの体内に輸送され(Ravi Ram and Wolfner, 2009)、例えばメスの交尾後の産卵数の維持やメス再交尾の感受性の低下などを引き起こすことが知られているが依然として不明な点も多い。Brokawはいくつかの無脊椎動物の精子が粘度を上昇させた溶液中に晒されたときに、螺旋状波形とアーク線波形と名付けられた2つの波形を発見したが(Brokaw CJ, 1966)、この発

見はその後ウニの精子(Woolley DM,Vernon GG,2001)とウズラの精子(Woolley DM,2007)においても拡張された。ウズラの精子は、ショウジョウバエの精子のように複雑な鞭毛打波形を作りながら運動する点で類似している[10]。これらの結果から、ショウジョウバエにおいても何らかの活性化因子、おそらく分泌性のプロテアーゼ様物質や溶液粘度等が精子活性化因子として働くのではないかと期待される。

したがって、本研究では過去の研究から、オスから放出された精子鞭毛打周波数がプロテアーゼ様の物質に引き起こされるという仮説を立て、それを検証する目的。また、貯精囊に貯められ卵授精をするまで精子鞭毛打波形の変化は、貯精囊への精子の格納や卵授精に必要な可能性があり、この鞭毛打波形の変化は過去の研究のように溶液の粘度によって起こるかどうかの検証をする目的。これらの因子の特定によってショウジョウバエの精子が貯精囊に貯められ卵授精するまでの一連のプロセスの理解をすることを目的として実験を進めた。

本研究では、まず、オスの精巣内から精子を採取し、トリプシンを滴下して運動活性の変化を観察する実験を行った。その結果、トリプシンによる精子鞭毛打周波数の上昇が確認された。このことからショウジョウバエの精子はトリプシン様のプロテアーゼが運動活性の因子として関与している可能性が示された。さらに、メスのseminal receptacleから解剖により採取した精子に、メチルセルロースを用いて粘度を高めた生理食塩水を滴下し鞭毛打の観察を行った。通常、生理食塩水を滴下した場合には、鞭毛打は円弧上に沿うような鞭毛打を行うが、これと比較し粘度を高めた生理食塩水を用いた場合には直線的な鞭毛打を行う部位が確認できた。以上より、ショウジョウバエの精子において、鞭毛打周波数の運動活性にはトリプシン様のプロテアーゼが関与し、鞭毛打波形の変化には精子の周囲の粘度が関与している可能性が示唆された。