

# ショウジョウバエの眼の色の変化

～毎世代に熱ストレスを与えた時の影響～

## Eye color change in *Drosophila melanogaster*

-Effect of thermal stress on every generation-

### Abstract

We investigated the relationship between epigenetics and heat stress in *Drosophila melanogaster*. The experimental method is to subject mutant *Drosophila melanogaster* to heat stress in a hot water bath, which causes epigenetics. There was no difference in results between *Drosophila melanogaster* that was heat stressed only once and *Drosophila* that was heat stressed at each generation change.

### 1. はじめに

熱ストレスを与えると眼の色が変わるショウジョウバエ(Wm4)に熱ストレスを与えると白色の眼に赤い斑点が現れる。熱ストレスを与えたショウジョウバエを0世代目とした時、昨年の研究では、このショウジョウバエが後代になるにつれ眼が濃い赤色になり、面積も増えた。この結果が正しいのかもう一度試したいと思い本研究を行った。さらに世代が変わるたびに熱ストレスを与えると眼の色が濃い赤色になり、面積が大きく変化すると考え、調べることにした。

### 2. 目的

熱ストレスを与えたショウジョウバエを0世代目とすると、その後熱ストレスを与えなくても後代になるにつれ眼が濃い赤色になり、面積も増えるのか確かめる。また、後代にも熱ストレスを与える場合と与えない場合では眼の赤色の濃さ・面積がどのように変化するか調べ、熱ストレスと眼の色の関係を調べる。

### 3. 原理・仮説

野生型のショウジョウバエのX染色体に White 遺伝子という眼の色を白くしない遺伝子が存在する。この遺伝子が発現することによって赤眼になる。

このショウジョウバエに逆位の突然変異がおこったショウジョウバエ(Wm4)は White 遺伝子がヘテロクロマチン(遺伝子の不活性領域)の中に存在し、White 遺伝子が発現することができない。よって、このショウジョウバエの眼の色は白くなる。この逆位の突然変異型のショウジョウバエに熱ストレスを与えるとヘテロクロマチンが伸長し、緩むことで White 遺伝子が発現できるようになり、赤眼のショウジョウバエになる。そして赤眼は後代にも遺伝する(図1)。

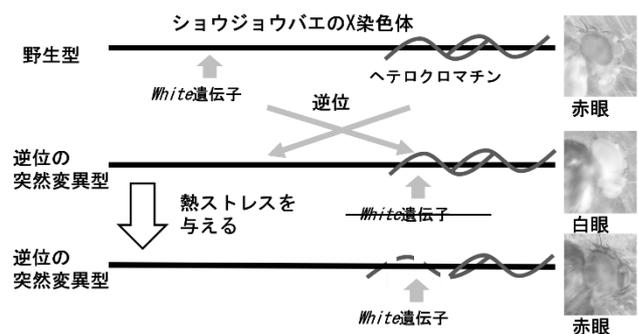


図1 眼が赤くなる原理

このように塩基配列が変化せずヘテロクロマチン構造が変化することで眼の色が変化し、後代に遺伝するエピジェネティクスな現象が生じる。本研究は熱ストレスとエピジェネティクスの関係を調べる。

昨年の研究結果より、熱ストレスを与えたショウジョウバエを0世代目とした時、後代になるにつれ眼の色が濃い赤色になり、面積が大きくなると仮説を立てた。また、後代にも熱ストレスを与えたほうが0世代目のみには熱ストレスを与えていない場合より多く熱ストレスを受けているので眼の色の変化が大きくなると仮説を立てた。

#### 4. 実験方法

ショウジョウバエ(Wm4)の一令幼虫を飼育している飼育瓶を 37.0℃で 40 分間湯煎して熱ストレスを与える。コントロールとして熱ストレスを与えても目の色が変わらないショウジョウバエ W1(白眼)と Oregon-R(赤眼)の2種類を用いた。

産卵時期とショウジョウバエの個体数をできるだけ同じにするため次の手順を行った(図2)。

- i. 飼育しているショウジョウバエに麻酔をかけオスとメスに分ける。メスが持つ卵を一度産卵させるため2~3日間隔離した。
- ii. オスとメスを15匹ずつ同じ飼育瓶に入れ交配・産卵のため約4日飼育した。
- iii. 孵化して一令幼虫に育ったものを37.0℃で40分間湯煎し熱ストレスを与えた。この時熱ストレスを与えたショウジョウバエを0世代目とした。
- iv. その後この0世代目から生まれた1世代目に熱ストレス与えるものと与えないものに分け、与えるものはiiiの操作を行い、与えないものはそのまま成虫になるまで育てた。
- v. ivの操作を2世代目まで同じように行った。
- vi. ショウジョウバエの眼の色を光学顕微鏡で撮影し、撮影した写真を、imageJを用いて画像解析を行った(図3)。

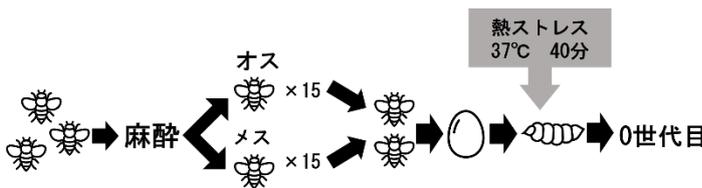


図2 熱ストレスの与え方

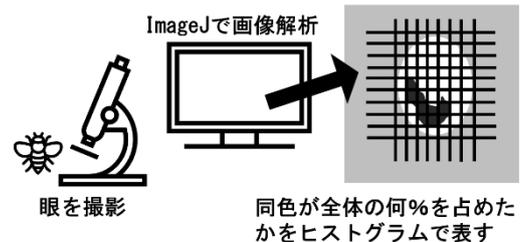


図3 眼の色素量の測定

#### 5. 実験結果

実験結果は、図5、図6に、またコントロール実験の結果は、図7に示す。

それぞれのグラフの横軸が表す彩度は、RGB値のR値(256段階)を16区分に分けたものである。またグラフの縦軸はその一つの区分のR値の割合を示したものである(図4)。ショウジョウバエの眼の画像を、imageJを用いてドット一つに含まれるR値を測定し、それぞれのR値のドット数を計測しグラフを作成した。本研究で、用いたショウジョウバエの数は実験区ごとに20匹である。

グラフのピークが右によればよほど赤眼であることを意味しており、グラフのピークが左によればよほど白眼であることを意味している。



図4 縦軸と横軸の説明

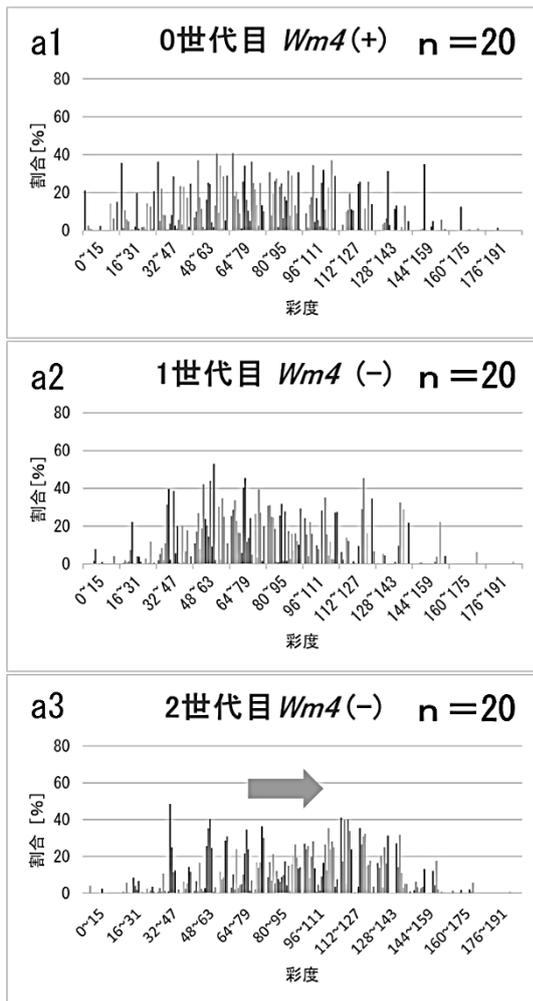


図5 0世代目のみに熱ストレスを与えた時

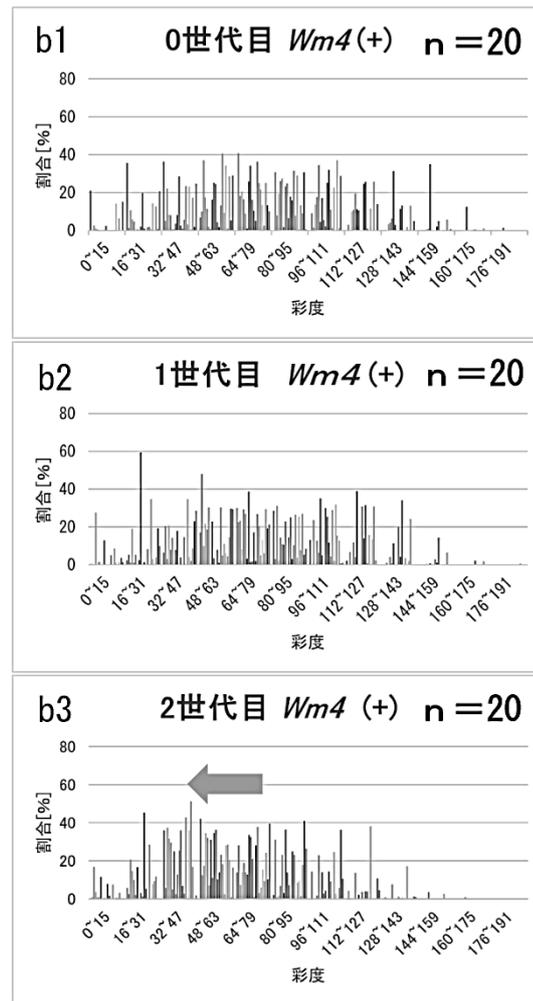


図6 毎世代に熱ストレスを与えた時

0世代目のみに熱ストレスを与えた場合(図5)、0世代目(図5a1)と1世代目(図5a2)では、ほとんど変化がなかった。1世代目(図5a2)から2世代目(図5a3)で少しグラフが右により、赤眼になったことが分かった。この結果は後代になるにつれ赤眼になると言う仮説通りの結果になった。

毎世代に熱ストレスを与えた場合(図6)、0世代目(図6b1)と1世代目(図6b2)では、0世代目のみに熱ストレスを与えた場合(図5)と同じくほとんど変化がなかった。1世代目(図6b2)から2世代目(図6b3)で少しグラフが左により、白眼になったことが分かった。この結果は後代にも熱ストレスを与えたほうが0世代目のみにしか熱ストレスを与えていないものより多く熱ストレスを受けているので眼の色の変化が大きくなるという仮説に反した結果になった。

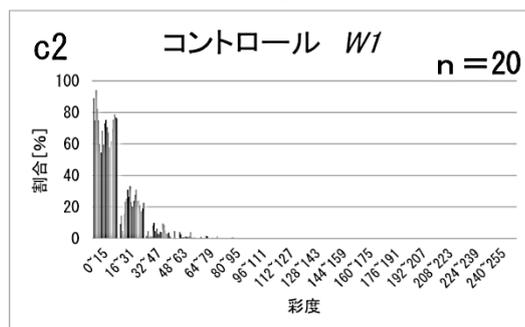
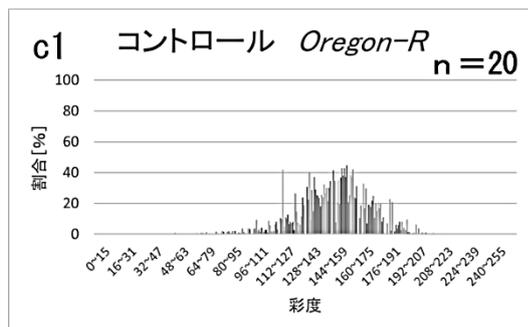


図7 コントロール

熱ストレスを与えたコントロールのショウジョウバエは眼の色が変化しなかった(図7)。このことから熱ストレスを与えたから眼の色が変化したのではなく、エピジェネティクスが起こったことによって眼の色が変化したといえる。

## 6. 考察

0世代目のみに熱ストレスを与えた場合、後代になるにつれて眼が濃い赤色になり、面積も増えたという結果は仮説通りだが、毎世代に熱ストレスを与えた場合、0世代目のみに熱ストレスを与えた時より眼の赤色が薄くなり、面積も減ったという結果は仮説に反した。

仮説に反した結果が出たことについて以下の3つの理由を考えた。

- ・熱ストレスを受けていたものは死んでしまった。

何らかの原因で熱ストレスから逃れられたショウジョウバエが成虫として生き残ったが、熱ストレスを受けたものは死んでしまった。

- ・さらに熱ストレスを与えたことで白眼に戻った。

赤眼になったショウジョウバエにさらに熱ストレスを与えたことにより遺伝子に何らかの変化が起こり白眼に戻った。

- ・たまたまこのような結果になってしまった。

データとして入手したのは20匹であったため個体数が少なく選ばれたショウジョウバエの眼の色が、白っぽいものが多かった。

個体数が少ないことから三つ目の理由が有力だと考えた。

これらの結果より、後代になるにつれ眼が濃い赤色になり、面積も増える。しかし、世代が変わるたびに熱ストレスを与えた場合眼の赤色が薄くなり、面積も減ったという結果は個体数が少なかったので信憑性が欠けており個体数を増やし実験しなおすべきだと考えた。

## 7. 今後の課題

毎世代に熱ストレスを与えた時、眼の色が白くなるのは正しいのか個体数を増やしてもう一度実験する必要があると考えた。

今回は2世代目までしか、できていないがもっと世代を追って調べていく必要があると考えた。

## 8. 謝辞

都丸雅敏先生（京都工芸繊維大学ショウジョウバエ遺伝子研究センター）からショウジョウバエのエピジェネティクスについてのご助言をいただき、また研究で使用したショウジョウバエを提供していただきました。また、鈴木剛先生（大阪教育大学）から実験方法・データの取り方についてのご助言いただきました。お二人の先生方に、感謝申し上げます。

## 9. 参考文献

Ki-Hyeon seong, etc (2011) “Inheritance of stress Induced, ATF-2-Dependent Epigenetic change”  
Cell 145, 1019-1061