

氏 名 Deng, Xiangmei(鄧香梅)

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 2464 号

学位授与の日付 2023 年 9 月 28 日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 Functional coupling of thermo-receptors and fatty acid-related enzymes in regulation of thermal preference in *Drosophila*

論文審査委員 主 査 西田 基宏
生理科学コース 教授
曾我部 隆彰
生理科学コース 准教授
泉 裕士
生理科学コース 准教授
上川内 あづさ
名古屋大学 大学院理学研究科 教授

Summary of Doctoral Thesis

Name in Full : Deng, Xiangmei (鄧 香梅)

Title : Functional coupling of thermo-receptors and fatty acid-related enzymes in regulation of thermal preference in *Drosophila*

Elucidating the mechanism underlying temperature sensation of animals is one of the keys to coping with recent extreme climate changes. Especially for insects, whose body temperature relies on ambient temperatures, sensing and responding to temperature changes are critical for their survival. Insects such as *Drosophila* have developed abilities to precisely discriminate milli-degree per second and this requires a delicate and accurate temperature sensing system.

Thermal sensation in *Drosophila* relies on receptors including Transient receptor potential (TRP) channels, a gustatory receptor (GR), and ionotropic receptors (IRs). TRPA1 and GR28b(D) are activated by temperature increase over 25°C and involved in warm avoidance, while TRPC (TRPL) and TRPV (*Iav*) contribute to cool avoidance. IRs are structurally related to mammalian glutamate receptors (GluRs) and *Ir25a*, *Ir93a* and *Ir21a* are involved in cool avoidance while *Ir25a*, *Ir93a* and *Ir68a* are involved in warm avoidance.

Fatty acids and the conjugates are known to associate with thermos-sensory systems. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) are involved in the regulation of TRP channels and triacylglycerol (TAG) contributes to protection of TRP channel sensitization under oxidative stress. At animal level, fatty acid saturation level affects temperature preference of *Drosophila* larvae and they preferentially consume PUFA containing food under cold environment. However, identity of enzymes involved in this process remains unknown.

Our research aim is to investigate the functional correlation between temperature

sensation and fatty acid metabolisms. In this aspect, I sought candidate enzymes that are related to fatty acid metabolism and found multiple genes involved in larval thermotaxis. Those include *CG8839* and *CG5112*, which are putative fatty acid amide hydrolase (FAAH) coding genes catalyzing fatty acid release from anandamide, and inactivation no afterpotential E (*inaE*), a diacylglycerol lipase (DAGL) coding gene hydrolyzing diacylglycerol (DAG) to release PUFA.

I also identified a cluster of genes encoding putative monoacylglycerol acyl transferases (MGATs) and named them *MGAT-1/-2/-3*. These genes are predicted to function in TAG synthesis based on their molecular functions. I observed that *MGAT-2* and *MGAT-3* knockout larvae accumulated in cooler regions in a thermal gradient plate. In a two-way temperature choice assay, *MGAT-2* and *MGAT-3* knockout larvae showed defect in discriminating between optimal 24°C to cooler temperatures. Less preference for 24°C was also observed when knocking down these two genes in neurons, suggesting the roles of *MGAT-2/3* in cool avoidance in the nervous system.

I sought responsible thermos-sensitive neurons and observed less preference for 24°C versus 20°C when knocking down *MGAT-2* or *MGAT-3* in *iav-expressing* chordotonal organs. Meanwhile, a shift in temperature preference towards warmer regions was observed when *MGAT-3* was knocked down in neurons expressing *trpA1-AB* isoforms, suggesting a role of *MGAT-3* in warm avoidance. I also observed that knocking down *MGAT-2* in dorsal organ cool cells (DOCCs) resulted in defect in discrimination between 24°C and 20°C, where *ir25a*, *ir21a*, and *ir93a* function for cool avoidance. The defect in cool avoidance in *MGAT-2* KO was compensated by overexpressing *MGAT-2* or human MOGAT2 in DOCCs, suggesting the primary role of *MGAT-2* in DOCCs.

Using *in vivo* GCaMP imaging, I observed that both the cooling-induced responses in the DOCCs and the warming-induced responses of dorsal organ warm cells (DOWCs) were reduced in the absence of *MGAT-2*, and this reduction could be partially

rescued by overexpressing *MGAT-2* in the DOCCs. One of the mechanisms of the decreased cool responses was downregulation in the expression level of *Ir25a* and *Ir21a* in DOCCs. After searching database and quantifying expression levels by qPCR, I identified a transcription factor *broad* for *Ir25a* as a candidate for the regulation of the expression level of *Ir25a* and *Ir21a*.

Taken together, I conclude that *MGATs*, which are well known as an energy storage enzyme, contribute to cool temperature sensing processes by maintaining the transcriptional level of *Irs*. Proper expression of *Irs* may stabilize the temperature responses of DOCCs and DOWCs, thereby contributing to optimal temperature preference in *Drosophila* larvae.

博士論文審査結果

Name in Full
氏名 Deng, Xiangmei (鄧香梅)

Title
論文題目 Functional coupling of thermo-receptors and fatty acid-related enzymes in regulation of thermal preference in *Drosophila*

本研究は、ショウジョウバエの冷温忌避反応に、冷感細胞 (DOCCs) のトリアシルグリセロール生成や脂質エネルギーの蓄積に働く Monoacylglycerol acyl transferases (MGATs)が関与することを明らかにした論文である。

ハエなどの変温動物は、体温が環境温度に依存するため、外温変化をいち早く感知し、好ましくない場合には忌避してより良い温度環境を探すシステムを備えている。ショウジョウバエの温度センサーとして、TRP チャネルや、哺乳類のグルタミン酸受容体と構造が類似している Ionotropic receptors (Irs)が知られているが、これらの温度感知機構は細胞膜脂質や脂質代謝物によっても制御される可能性が指摘されてきた。

出願者は、ショウジョウバエの温度走性が 3 種の脂肪酸代謝酵素の機能欠損によって影響を受けることを見出した。その中でも、ジアシルグリセロール生成を担う MGATs の 3 つのアイソフォームのうち、MGAT-2 と MGAT-3 それぞれの全身欠損株および GAL4/UAS システムを用いた神経細胞特異的 MGAT-2/3 ノックダウン株において、冷温忌避反応の強い消失が観察された。また、冷温忌避反応に Inactive (Iav, TRPV)が働く体節部の Chordotonal organ、あるいは Irs が働く頭部の Dorsal organ の DOCCs で特異的に MGAT-2 をノックダウンさせた株において、冷却忌避反応の消失が観察された。この機能欠損は、MGAT-2 及びヒト相同タンパク質 MOGAT-2 の発現により代償された。さらに、Ca²⁺感受性蛍光タンパク質 GCaMP 発現株を用いた in vivo Ca²⁺ imaging の結果、MGAT-2 欠損により DOCCs の冷温 Ca²⁺応答が減弱し、この減弱が DOCCs 特異的 MGAT-2 発現によって部分的に回復されることも示した。また、MGAT-2 は Dorsal organ の温感細胞 (DOWCs) にも発現しており、MGAT-2 の欠損により DOWCs の温暖応答も減弱することがわかった。MGAT-2 欠損 DOCCs において、*Ir25a* や *Ir21a* の発現量が低下しており、その原因として、*Ir25a* の発現調節に関わる転写因子 *broad* が標的候補となることもデータベース解析から明らかにした。実際、全身および頭部の *broad* 転写産物を定量的 PCR で調べたところ、MGAT-2 の欠損により *broad* の 4 つのアイソフォームのうち Z2、Z3、Z4 が減少することを示した。さらに、MGAT-2 の全身欠損株において *Ir25a* を過剰発現させることで、正常な低温忌避が回復することを明らかにした。

本研究は、DOCCs における脂肪酸代謝が冷感受容体の発現量調節を介して、ショウジョウバエの冷温忌避反応において重要な役割を担うことを初めて明らかにした画期的な知見である。以上の結果から、審査員全員一致で本論文が博士学位論文に相応しいと結論した。