

平成5年3月31日

専攻	材料工学	学籍番号	907850	指導教官氏名	Shahia S. Siddiqi シディア スィディキ
申請者氏名	MUHAMMED AFAF SHAKIE				鈴木 慈郎 寺澤 猛

論文要旨

論文題目	Molecular and Genetic Studies of Chemosensory Behavior in the Nematode <i>C. elegans</i> (線虫 <i>C. エレガンス</i> における化学知覚行動の分子遺伝学的研究)
------	--

(要旨 1,200字以内)

ヒトを含めた動物の多くは、環境の変化に対して素早く反応してある種の行動を起こす能力を備えている。これらの行動は、脳神経系および筋肉を介して行なわれるが、ほとんどの動物の神経系は複雑に発達しており、行動パターンと特定の神経系との関わりを明らかにするのは非常に困難である。体長約1mmの自活土壌線虫 *C. エレガンス* は、わずか302個の神経細胞で全神経系が構成されており、それらすべての所在および接続が明らかにされているため個々の神経細胞の解析が可能である (Sulstonら、1983; Whiteら、1986)。また、化学物質、温度、機械的刺激等に対する反応に異常がみられる突然変異(行動異常突然変異)も数多く分離されており、行動に関わる遺伝子を解析することも可能である。私はこれらの実験動物としての有利性を備えた線虫 *C. エレガンス* を用い、化学物質に対する知覚行動の解析を、分子、遺伝子、細胞それぞれのレベルで試みた。

今回解析した *C. エレガンス* の *osm-3* 変異は、高浸透圧回避不能変異 (osmotic avoidance mutations) の一つであり、特定の化学物質に対する走化性に異常が認められている。また、栄養環境が悪化した場合それを認知できず、野性株でみられる dauer と呼ばれる耐久型幼虫への変態が行なえない。形態学的には、*osm-3* 変異は頭部感覚受容神経細胞の sensory cilia が収縮して外界との接触が遮断されており、FITCを含む培地で飼育することにより、野生株では認められる6対の amphid ニューロンと2対の phasmid

ニューロンの蛍光染色が起こらなくなること、sheath cell内のある種の vesicleの輸送が行なわれないうこと等が判っている (Perkinsら、1986)。私は *osm-3* の 8 つの allele (突然変異部位の異なる対立遺伝子株) に対し、FITCによる染色と dauer形成能との関連を詳しく調べた。その結果、6 つの allele では dauer形成能が残っており、その場合必ず 1 対の ADF amphidニューロンが染色された。この結果は、ADFニューロンが dauer形成においてきわめて重要な働きをしていることを示唆している。

野性型の *osm-3* 遺伝子を *osm-3* 変異株に導入すれば、FITCによる amphidニューロンの蛍光染色が野性株同様に回復することが予想され、これを利用して遺伝子クローニングを行なった。すなわち *osm-3* 遺伝子座近傍のゲノム DNA コスミッドクローンのいくつかを *osm-3* 変異株の卵巣に微小注入し、形質転換能を持つクローンを 1 個同定した。このクローンから得た制限断片による形質転換を同様に行ない、最終的に 4.3 kb の Sac I フラグメントに *osm-3* の形質転換能があることを明らかにした。このフラグメントをプローブとして野性株より抽出した mRNA のノザンプロット解析を行ない、3 kb の転写物を確認した。4.3 kb Sac I フラグメントの塩基配列を解読した結果、開始コドンを含むオープンリーディングフレームが存在した。コンピューターによるホモロジー検索の結果、最も高い相同性を示したものはキネシン重鎖であった。両者の相同性は ATP アーゼ部位や微小管結合ドメイン等機能的に重要と思われる部位において最も高く、*osm-3* 遺伝子産物はキネシンスーパーファミリーに属する新規なタンパク質であると結論された。キネシンは微小管関連モータータンパク質として軸索輸送に関与していることが知られており、*osm-3* 変

異株で観察されたある種の軸索輸送の欠損は、*osm-3*産物がキネシン様タンパク質であると考えらることでうまく説明できる。*C. elegans*においては運動異常突然変異 *unc-104* の遺伝子産物もキネシンスーパーファミリーに属するタンパク質であることが示され (Otsukaら、1991)、変異株では運動神経におけるシナプス小胞の軸索輸送に欠陥が認められた (Hallら、1991)。軸索輸送に関わる異なるキネシン様タンパク質が、感覚神経と運動神経で個別に存在していることは神経系の発生を考える上においても興味深い。今後このような解析が、高等動物においても行なわれることが望まれる。

5

10

15

20

26

5

10

15

20

25