

研究課題別研究評価

1. 研究課題名： 線虫の化学走性行動の分子遺伝学：神経回路の形とはたらき

2. 研究者名： 古賀 誠人

3. 研究のねらい：

NaCl やアミノ酸、cAMP 等の水溶性物質に対する化学走性行動は線虫にとって餌を探し当てるといふ生死に関わる最重要な行動だと考えられる。この化学走性行動に異常を示す突然変異体を徹底的に分離し、その原因遺伝子をクローニング、その発現場所、機能について主に分子遺伝学的方法で解析する。これにより、化学走性行動を産み出す機構を神経回路の形と働きの両面から明らかにすることがねらいである。

4. 研究結果及び自己評価：

研究結果

1) Na⁺イオンに対する化学走性変異体の分離

エチルメタンスルホン酸で変異誘発した約15万ゲノム相当の集団をスクリーニングし、Na⁺イオンに対する化学走性に異常のある (chemotaxis defective, Che 表現形) ミュータントを126株分離した。その内、蛍光色素の感覚神経への取り込みに異常を示す (dye filling defective, Dyf 表現形) ことから感覚器の構造異常を伴うと考えられるものが47株あった。他の79株は non-Dyf であることから神経機能の異常であることが期待される。SNP (single nucleotide polymorphism) を利用した遺伝的マッピングを行った結果、Dyf なもの、non-Dyf なものともに、それぞれ10個程度の新しい遺伝子の変異が取れたと考えられる。ただし、目標の「飽和するまで」には至らなかった。今後、この数倍のスクリーニングをする必要があると考えている。

2) 新規化学走性遺伝子、ceh-36 遺伝子のクローニング

上記の non-Dyf なものの1つである 684 番変異は哺乳類の視細胞の分化、維持等に関わるホメオドメイン蛋白質 CRX とよく似たタンパク質をコードする ceh-36 遺伝子の変異であることがわかった。ceh-36 遺伝子にはまだ突然変異体が知られておらず、今回私達の分離した 684 番変異体が初めてのものである。ceh-36 遺伝子は2つの化学感覚神経 ASE と AWC で発現し、684 番変異体では ASE と AWC の位置、形態ともに正常であるが、化学受容に関わると考えられる cGMP 依存性チャネルや膜貫通型グアニレートサイクレーズの発現が低下していた。また、ヒートショックプロモーターで ceh-36cDNA を成虫になった後の変異体に発現させると化学走性が回復することがわかった。以上のことから、CEH-36 は ASE と AWC の「発生」ではなく「活性(感覚受容の感度など)」を信号伝達分子の転写制御を通して制御する興味深い転写因子である可能性が高いと考えられる。今後そうした観点から実験を進めて行きたいと考えている。

3) 餌(大腸菌)に対する行動異常変異体の分離と解析

大腸菌の所から離れてしまう突然変異体をスクリーニングし、計14株の変異体を分離した。1つは che-2 遺伝子(感覚繊毛の形成に必要な新規 WD40 タンパク質)、2つは eat-4 遺伝子(Na⁺依存性 inorganic phosphate cotransporter)、1つは egl-19 遺伝子(電位依存性 Ca²⁺ channel)の変異であった。また、1つは新規な遺伝子で、YAC クローン Y74E4 によってレスキューする所まで行っている。egl-19 と eat-4 はこれまで主に咽頭筋の活動について研究され、化学走性の観点からは研究されていない。egl-19 と eat-4 変異体の化学走性異常の原因はどの神経細胞に求められるかを明らかにすることによって神経回路のはたらきに迫っていけるのではないかと考えている。

4) che-1 のクローニングと解析

1970年代に分離され、その後は手つかずであった che-1 という化学走性変異体の原因遺伝子のク

ローニングに成功した。che-1はZincフィンガーを持つ転写因子をコードし、水溶性物質に対する化学走性行動に重要なASE化学感覚神経で発現していた。che-1変異体においてはASEの形態は正常であるが、ASEでの2つの7回膜貫通型レセプター及び3つの膜貫通型guanylyl cyclaseの発現が消失していた。以上の結果から、CHE-1タンパク質はASE感覚神経での化学受容の信号伝達の実働部隊をコードする遺伝子の発現に直接あるいは間接的に必要な転写因子であると考えられる。

5) 餌の信号を仲介するグアニレートサイクレーズ DAF-11

餌が豊富だと高く、少ないと低く制御されるdaf-7/TGF-遺伝子の発現が構成的に低下する突然変異体を3株分離した。その内の1つはDAF-11膜貫通型グアニレートサイクレーズの変異であり、DAF-11はASI化学感覚神経で細胞自立的にdaf-7遺伝子発現に必要であることを明らかにした。このことは餌の感知からdaf-7遺伝子発現に至る信号伝達を、cGMPをセカンドメッセンジャーとする信号伝達系が行っていることを示している。

自己評価

遺伝子の同定に至ったものが6つ、その内新規だったものが2つ(ceh-36、che-1)、他の4つ(che-2、eat-4、egl-19、daf-11)は異なった観点からではあるが、既存のものであった。ceh-36、che-1、daf-11は機能解析ができたが、いずれも感覚神経で働くものであり、目標とした「神経回路のはたらき」には遠く及ばなかった。今後、まだ少なくとも10個程度はある未同定の新規遺伝子の中に回路に迫れるものが出てくることを信じてそのクローニングを目指したい。また、もう少し焦点を絞った変異体のスクリーニングをいくつか工夫すればよかったのかもしれない。

5. 領域総括の見解

ゲノムが全部明らかになっている線虫(C.elegans)を用い、化学走性行動にあずかる神経系遺伝子を見出す試みで新発見が期待された。ところが、同定された6つの遺伝子のうち、新しいものが2つにすぎなかった。その2つの遺伝子の作用は感覚神経系レベルで、目指す神経回路におけるものではなかった。その意味ではやや期待はずれであった。やむをえないところであるが、それでもひとつの新しいアプローチを示すものである。

6. 論文1件

Mayumi Murakami, Makoto Koga and Yasumi Ohshima. DAF-7/TGF- expression required for larval development in C. elegans is controlled by presumed guanylyl cyclase DAF-11. Mechanisms of Development, 109, 27-35, 2001.