

線虫 *C. elegans* における温度走性の分子遺伝学的研究

Genetic and molecular studies on thermotaxis of the nematode *Caenorhabditis elegans*

代表研究者 九州大学理学部助手

森 郁 恵

Assist. Prof., Dept. of Biology, Fac. of Sci., Kyushu Univ.
Ikue MORI

To identify genes important for the establishment of thermotaxis in *C. elegans*, many EMS-induced *ttx* (abnormal thermotaxis) mutants were isolated, and analyzed genetically and behaviorally. Isolated mutations were divided into 3 main phenotypic classes, athermotactic, cryophilic, and thermophilic classes. Five athermotactic mutations we have isolated fell into 2 complementation groups. One group (*Ks10*, *ks15*, *ks31*) on chromosome I and the other group (*ks11*, *Ks28*) on chromosome III correspond to *tax-2* and *tax-4*, respectively. Both of these *tax* mutation were isolated previously as chemotaxis-defective mutations, but later found to be athermotactic as well. Osmotic avoidance to a high concentration of NaCl, the ability to form dauer larvae, FITC-uptake by 6 pairs of chemosensory neurons in the amphid sensilla are all normal in these athermo- and achemotactic mutants. This observation is consistent with the idea that at least some of these mutations disrupt both taxis by affecting neurons shared for both chemo- and thermosensory transduction and processing. We have also isolated two clearly cryophilic mutations (*ks4* III, *ks5* X), whose phenotypes are similar to, but which complement *ttx-1* (*p767*) V. Chemotaxis, osmotic avoidance, and FITC-uptake by chemosensory neurons are normal in these cryophilic mutations, suggesting that the defects are thermosensory specific.

研究目的

線虫 *Caenorhabditis elegans* は、1000 個足らずの体細胞より成る比較的単純な生物であるが、規則的な蛇行運動、化学及び温度走性、交尾、産卵、脱皮などの基本的動物行動を有する。これらの行動は、体細胞の 30% に当たる 302 個の神経細胞によって支配されていると考えられるが、*C. elegans* では、1) 突然変異の分離とその遺伝解析が非常に容易である、2) 卵から親になるまでの全細胞系譜が完全に解明されている、3) 親の全神経回路が、電子顕微鏡により完全に解明されていることを最大限に利用し、神経系と動物行動の関係を総合的に、かつ直接的に研究することが可能である。本研究では、このような他生物では類を見ない *C. elegans* の利用をふまえて、温度走性に関与する遺伝子を解析し、その分子的基礎を解明する事を最大の目的とする。本研究により、まずあ

らゆる生物において、未だ解明されていない温度センサーの本体が明らかになる可能性がある。また *C. elegans* の温度走性の可塑的側面、すなわち餌である大腸菌の存在下で通常に飼育された個体は、餌のない温度勾配上で飼育温度の方へ移動し、飢餓状態にされた個体は飼育温度から逃れるように移動する性質は、適応現象のみならず学習や記憶の基本型を示している可能性もある。本研究は、従って究極的に高等動物の複雑な行動を支配する脳の機能解明にも関連するものである。

研究経過

1) 温度走性異常突然変異株の分離と解析

現在までに、*daf-6* 株及び野生型 Bristol (N2) 株への EMS 処理により、約 40 株の温度走性異常株を分離している。それらについて相補性検定や遺伝的マッピングを進めている。最も明確な表現型を示す、等温線に沿って移動できない変異株

については、化学走性 (chemotaxis), 高浸透圧逃避行動 (osmotic avoidance), amphid の化学受容ニューロンによる FITC の取り込みの有無などを調べ、突然変異を起こした遺伝子の作用部位についての知見を得た。

2) 温度走性遺伝子のクローニング

トランスポゾンタグ法により、温度走性遺伝子をクローニングするために、トランスポゾン TcI の転位活性を持つミューテーター株 RW 7097 から約 10 株の温度走性異常変異株を分離した。それらについて、温度走性異常突然変異を引き起こしているトランスポゾン TcI を同定するために、遺伝解析及びサザンブロットを行っている。EMS 誘発によって単離された突然変異については、遺伝地図に対応する DNA 領域を固定するために、詳細な遺伝的マッピング、3 点交雑及び染色体欠失株を用いた相補性検定などを行った。

研究成果

筆者らの遺伝解析及び行動解析と、以前に単離されていた温度走性異常変異の解析³⁾をあわせて、以下のようなことが分かってきた。①好熱性クラス (4 変異) は、不完全ではあっても等温線のある程度描くことができる。このことは、これらが、遺伝子の完全な不活性化変異 (null 変異) ではないか、好熱性を結果する突然変異は温度感受のステップそのものは妨げないことを示唆する。②好冷性クラスの変異 (多数) は、等温線に関する表現型によっていろいろなタイプに細分化される。このクラスには、ほとんど全く明確な等温線を描かない変異 (4 変異) が存在し、3 変異については異なる遺伝子座の突然変異であった。③温度無走性クラス (多数) にも、等温線を描くもの、描かないものが存在するが、明確な等温線を描かない変異 (10 変異) はすべて劣性で、三つの相補性グループ (*tax-2*, *tax-3*, *tax-4* 遺伝子) に属し、そのうち 9 変異は NaCl に対する化学走性も異常であった。*ks31* 変異の化学走性はほぼ正常で、温度走性についても多少等温線を描けることから、この変異は遺伝子活性の残っている hyp-

omorphous な変異であると思われる。これらの温度無走性クラスのすべては高浸透圧逃避行動、耐性幼虫形成能、蛍光物質 FITC の取り込み能を保持していた。つまりこれらの変異は、別々のニューロンで行なわれると想像される温度感受と化学受容の両方に異常をもたらしているか、あるいは化学走性と温度走性のシグナル伝達系が統合される時、あるいは統合後の伝達系に異常をもたらしている可能性がある。

今後の課題と発展

今後の最大の課題は温度走性の神経回路の同定である。これは今後同定されてくるとされる温度走性遺伝子の発現、及び作用部位を分子レベルで解析するために必須であり、本研究の発展として、可塑性を担うニューロンが温度感受のシグナル伝達系と一致しているのか、別に存在するか、といった問題の解決にも役立つであろう。本研究で計画していた、温度感受ニューロンの最大候補である AFD の異常の有無を温度走性異常株について調べることは未だ行われておらず、今後の課題となった。また温度感受ニューロンだけでなく、その介在ニューロンや温度走性行動に必要な体壁筋制御を明らかにするためには、レーザー照射実験が最も有効である。これは *C. elegans* においては、302 個すべてのニューロンの細胞体が生きた状態でレマルスキー微分干渉顕微鏡によって観察できるという利点を利用したものである。

発表論文

- Mori, I., H. Honda, H. Kagoshima, C. Tominaga and Y. Ohshima, 1990: Analysis of thermotaxis in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Jpn. J. Genet.* 65: 488.
- Mori, I., H. Honda and Y. Ohshima, 1991: Genetic and behavioral analyses of thermotaxisdefective mutants. presented at the Eighth International *C. elegans* meeting at Madison, WI, USA.
- 森 郁恵, 大島靖美, 1991: 線虫の温度走性 細胞工学, 10: 695-702.
- 森 郁恵, 大島靖美, 1991: 温度走性異常突然変異の解析 遺伝 45: 44-49.
- 森 郁恵, 1991: 線虫における温度走性行動の分子遺伝学的研究, プレインサイエンス IV, pp. 93-102 朝倉書店.