

別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 Analysis of *inx-4*Innexin mutant defective in thermotaxis behavior of *C. elegans*
(線虫 *C. elegans* の温度走性異常変異体 *inx-4*Innexin に関する分子遺伝学的解析)

氏 名 塚本 聡美

論 文 内 容 の 要 旨

動物は、外部の環境によって、行動を変化させ、適応する。この一連の環境応答行動は、動物が生存する上で、必要不可欠である。中でも、温度は、気候、季節を構成し、動物の環境内での行動を左右する重要な因子である。

本研究では、線虫 *C. elegans* の温度走性行動をモデル系として、環境応答行動を制御する神経分子基盤の解明を目指した。線虫 *C. elegans* は、餌のある(飽食)条件下で、一定温度で飼育されると、温度勾配上を過去の飼育温度に移動する。一方で、餌のない(飢餓)条件で飼育した後は、温度勾配上を分散する、という環境適応性を示す。

先行研究における順遺伝学的スクリーニングにより、この餌依存的な環境適応性に異常を示す、*nj24*変異体を単離した(Mohri et al., *Genetics*, 2005)。本研究において、*nj24*変異体について、更なる行動解析を行なった結果、*nj24*変異体は、餌がある(飽食)条件下で飼育された後に、温度勾配上に置かれると、野生株と比較して、やや高温に分布するというユニークな好熱性異常を示すことがわかった。また、餌なし(飢餓)条件においては、野生株は、温度勾配上を分散するのに対し、*nj24*変異体は、温度勾配の高温帯に分布した。SNP マッピングとシーケンス解析の結果から、*nj24*変異体は、*inx-4*遺伝子に変異を持つことがわかり、*nj24*変異体の異常は、*inx-4*遺伝子の導入により、回復した。さらに、他の *inx-4*遺伝子欠失変異体でも、*nj24*変異体と同様の異常を示したことから、*nj24*変異体は、*inx-4*遺伝子の変異体であり、*inx-4*遺伝子は温度走性行動に必要で

あることが示唆された。

inx-4 遺伝子は、線虫 *C. elegans* においてギャップ結合を構成するタンパク質、イネキシンをコードし、脊椎動物のコネキシンやパネキシンの機能的ホモログであることが知られる。

細胞特異的レスキュー実験から、*inx-4* 変異体の異常は、主要な温度記憶・受容神経細胞である AFD 単独での発現により、回復することがわかった。このことから、INX-4 は、AFD において、温度走性行動を制御することが示唆された。また、INX-4 を AFD において過剰発現させた株は、強い好冷性を示した。さらに、AFD 特異的に、INX-4::GFP を発現させると、GFP 蛍光は AFD の軸索でみられ、このことから、INX-4 は AFD の軸索で機能する可能性が示唆された。

哺乳類のコネキシンにおいて、ヘミチャネル同士の結合(ギャップ結合の形成)に重要なシステイン残基が存在することが知られ、また、それらのシステインは、線虫のイネキシンにおいても、保存されている。そこで、INX-4 における相同システインをアラニンに置換した変異型 INX-4(C71A, C53A, C255A, C272A)を作成し、*inx-4* 変異体に、AFD 特異的に発現させた。その結果、*inx-4* 変異体の温度走性行動に対する影響はみられなかった。このことから、温度走性行動における INX-4 の機能には、これらの保存されたシステイン残基が必要であることがわかった。また、この結果は、ギャップ結合としての INX-4 の機能が温度走性行動を制御するために必要である可能性を示唆する。

本研究から、温度受容細胞 AFD の INX-4/イネキシンが、線虫の温度走性行動を微調整する機構に関与することが明らかとなった。