

専攻	材料システム工 学専攻	学籍番号	927851	指導教官氏名	Prof. Shahid S. Siddiqui
申請者氏名	モハマド タビシ MOHAMMAD TABISH				鈴木 慈郎

## 論 文 要 旨

論文題目	線虫C. エレガンスの発生過程におけるキネシンと ガンマーチューブリンの分子生物学的遺伝学的解析
------	---

(要旨 和文 1,200 字程度)

(1)

キネシンは、微小管のマイナス(-)末端からプラス(+)末端へと移動する細胞内輸送タンパク質である。例えば、神経細胞においてキネシンタンパク質は、微小管の(-)末端の位置する細胞本体から(+)末端の位置する樹状突起やアクソンを通じてシナプスへと物質輸送を行っている。キネシンタンパク質の機能的構造単位は、2つの重鎖(H鎖)と2つの軽鎖(L鎖)からなるヘテロテトラマーである。また、それらの構造単位は、個々の生物や細胞によって異なっている。これは多様な細胞内物質を輸送するためそれに応じてキネシンタンパク質の構造が多種多様化したためと考えられる。

生化学的又は分子生物学的手法を用いた *in vitro* での研究は多くなされているが、キネシンタンパク質の *in vivo* における機能についてはほとんど知られていない。私たちはキネシンタンパク質の *in vivo* の解析(遺伝学的及び分子遺伝学的手法による分析)が容易である線虫C. エレガンスをモデル動物として用いた。現在、線虫C. エレガンスにはキネシンタンパク質をコードする遺伝子に突然変異をもつ3つの変異体(*osm-3*, *unc-104*, *unc-116*)が同定されている。私は我々の研究室でクローニングされた *osm-3* 変異体に着目し、発生過程におけるキネシンタンパク質の機能と構造を解析した。*osm-3* 遺伝子がコードするキネシンタンパク質(OSM-3)は、これらのタンパク質に高く保存されている3つの領域(球状モーター部及び尾部、 $\alpha$ -ヘリックスコイル領域)を含む672アミノ酸配列によって成り立っている。OSM-3はマウスやウニなどのキネシンタンパク質のモーター及びコイル領域と相同性があるだけでなく、ミオシン、エズリン、外部膜タンパク質前駆体(OMPA)、酵母の細胞間輸送タンパク質(USO1)ならびに神経繊維組タンパク質(NF-H)領域とも相同性を示した。

*osm-3* 遺伝子と *lacZ* 遺伝子(レポーター遺伝子)との融合遺伝子を用い形質転換体を作成し、この個体における融合遺伝子の組織特異的発現を観察した。その結果、*osm-3* :: *lacZ* 融合遺伝子は内部唇状感覚神経群の6つのIL2神経細胞、頭部神経細胞群の左右8対の神経細胞(ADF, ADL, ASE, ASG, ASH, ASI, ASJ, ASK)そして尾部神経細胞群の左右2対の神経細胞(PHA, PHB)の全26個の化学的感覚神経細胞にのみ特異的発現が認められた。これらのデータと遺伝的データにより *osm-3* 変異体はこれら化学的感覚神経系の機能に故障をきたしていることが明らかとなった。また興味深いことに、これら3種類の感覚神経は発生段階において異なった発現パターンを示した。初期の幼虫(L1-L2)においては26個全ての神経細胞 *osm-3* :: *lacZ* 融合遺伝子の発現が観察されたが、後期の幼虫及び

成虫では、頭部神経細胞群での発現が消失、尾部及び IL2 細胞群においては引き続き発現を示した。

化学的感覚機能はほとんどの生物において重要な生物学的機能の一つである。高等動物は環境の変化に対応する優れた神経系をもっている。しかし、神経系が外的環境変化をどのように制御、処理しているかはほとんど理解されていない。私たちの実験結果は、化学的感覚機能の一部として OSM-3 キネシタンパク質が重要な働きをしていることを明らかにした。

私たちは *osm-3* 遺伝子の研究に並行して、微小管に関連した  $\gamma$ -チューブリン遺伝子の機能についても解析を行った。 $\gamma$ -チューブリンは細胞内の微小管構成中心 (MTOCs) の構造タンパク質として多くの生物種において共通に存在が確認されたチューブリンアイソタイプである。また、 $\gamma$ -チューブリンタンパク質はキネシタンパク質同様に微小管結合部と ATP 結合部をもっている。線虫 *C.エレガンス* の  $\gamma$ -チューブリンタンパク質の構造は、他の生物種の  $\gamma$ -チューブリンタンパク質のそれとはかなり異なることが、その一次構造より示された。種々の発生段階を通じて見られるこのタンパク質の発現は、細胞の増殖が盛んな時程高いことが分かった。

これらの観察を基に線虫内で  $\gamma$ -チューブリン遺伝子のアンチセンス鎖を生じさせ、 $\gamma$ -チューブリンタンパク質の発現を抑制させた。その結果これらの虫は致死となり、*emb-30* 変異体と同じ挙動を示した。また、欠陥のある胚発生に *emb-30* 変異 (温度感受性変異: 25°C で受精後の細胞分裂停止) の遺伝学的位置と  $\gamma$ -チューブリン遺伝子の物理的位置が大変近いことから *emb-30* 変異が  $\gamma$ -チューブリン遺伝子をコードすることが強く示唆された。

このことを証明するため、*emb-30* 変異体に正常な *C.エレガンス* の  $\gamma$ -チューブリン遺伝子を導入し、この変異体が正常体となるかどうかを行った。その結果、遺伝子が導入された線虫は、正常な胚発生を行うことから、*osm-3* 変異は  $\gamma$ -チューブリン遺伝子をコードしていることが明かとなった。