

学位論文要約

線虫 *Pristionchus pacificus* における
新規摂食行動の制御および進化機構の解明

Molecular and evolutionary mechanisms of
novel feeding behavior in the nematode *Pristionchus pacificus*

広島大学大学院統合生命科学研究科

生命医科学プログラム

井下 結葵

背景と目的

動物は、進化の過程で多様な行動を獲得した。行動の進化には、その行動を司る神経系の変化のみならず、その行動を効率的に行うための形態や生理特性の変化も関係している。しかし、新しい行動の獲得にどのような遺伝子機能の変化が関わっているかについてはほとんど明らかにされていない。

線虫 *Pristionchus pacificus* は、モデル線虫 *Caenorhabditis elegans* と比較可能なサテライトモデル生物として確立されてきた動物である。*P. pacificus* では、咽頭筋の収縮によってバクテリアを摂食するバクテリア摂食行動と、咽頭筋の収縮と歯の運動を同調させて他の線虫を食べる捕食行動という二つの摂食行動様式が見られる。バクテリア摂食行動は *C. elegans* を含む分類学的に同じクレードの種で広く見られる行動であるのに対し、捕食行動は *P. pacificus* が属する Diplogastridae 科でのみ見られる。したがって、*P. pacificus* の捕食行動は Diplogastridae 科で新規に獲得された行動と言える。

本研究では、遺伝学的手法を用いて *P. pacificus* の捕食行動の制御メカニズムを明らかにし、また *C. elegans* との比較によって捕食行動がどのように進化してきたかを明らかにすることを目的とする。

結果と考察

1. *P. pacificus* におけるセロトニン受容体の機能解析

P. pacificus の捕食行動には神経伝達物質であるセロトニンが関わるということが知られている (Wilecki et al., 2015; Okumura et al., 2017)。したがって、この下流ではセロトニン受容体とそれを発現する細胞が捕食行動に重要な機能を持つことが予想される。筆者は、*C. elegans* でこれまでに報告されている 5 つのセロトニン受容体 (*ser-1*, *ser-4*, *ser-5*, *ser-7*, *mod-1*) の *P. pacificus* におけるオルソログに着目して解析を行った。CRISPR/Cas9 ゲノム編集法を用いて 5 つのセロトニン受容体のノックアウト変異体を作製し、捕食行動アッセイを行った結果、*Ppa-ser-5* 変異体および *Ppa-ser-1*; *Ppa-ser-7* 二重変異体で捕食行動に異常を示すことがわかった。また、*Ppa-ser-1*; *Ppa-ser-7* 二重変異体では捕食時の歯の運動が減少した。一方、*P. pacificus* ではバクテリア摂食運動もセロトニンによって制御されていることが知られている。セロトニン受容体変異体のうち、*Ppa-ser-7* 変異体および *Ppa-mod-1* 変異体でバクテリア摂食時の咽頭運動が減少した。この組み合わせは捕食に関わるセロトニン受容体とは異なる組み合わせである。このことから、*P. pacificus* における 2 種類の摂食行動は異なるセロトニン受容体によって制御されていることが明らかになった。

C. elegans では、主に *ser-1*, *ser-5*, *ser-7* がバクテリア摂食において機能を果たすことが知られている。これらのセロトニン受容体の発現パターンは *P. pacificus* と *C. elegans* で異なっていた。このことから、複数のセロトニン受容体が新たな発現パターンを獲得することで捕食行動の獲得が促された可能性が示唆された。

2. アスタシンメタロプロテアーゼの捕食行動における機能解析

捕食行動に関連する新たな遺伝子を見つけるため、順遺伝学的スクリーニングによって捕食が完全に欠失する変異体を探索した。捕食を簡便に検出することができる新規スクリーニング法を開発し、5150 系統の化学変異導入系統で捕食を調べた結果、ほぼ完全に捕食が欠失する系統を 5 系統単離した。これらのうち、1 系統でアスタシンメタロプロテアーゼをコードする *Ppa-nas-6* 遺伝子座にミスセンス変異が入っていた。ノックアウト変異体の表現型解析やレスキュー実験から、*Ppa-nas-6* は捕食に重要であることが示された。*Ppa-nas-6* 変異体では捕食時の歯の運動および口腔形態の異常が認められたため、*Ppa-nas-6* は捕食時の歯の運動や口腔の形態形成に機能を持つことが示唆された。

次に、*nas-6* が *P. pacificus* において捕食に関連する形質を制御するようになった進化的メカニズムを明らかにしようと試みた。ここでは、*nas-6* のアミノ酸配列あるいは発現パターンの変化が新たな機能獲得に関わった可能性を、*C. elegans* および *P. pacificus* 双方における遺伝子操作を用いて検証した。その結果、*P. pacificus* では *C. elegans* と異なる細胞で *nas-6* が発現することが捕食に重要であることを示唆した。さらに、*Ppa-nas-6* プロモーター下で GFP を発現する *C. elegans* の系統を観察した結果、*cis, trans* 調節配列のいずれもが新たな発現パターンの獲得に関わったことが考えられた。

以上より、*Ppa-nas-6* は捕食に必要な不可欠な歯の運動や形態形成に重要な機能を持ち、*nas-6* の発現パターンが変化することによってこれらの形質を制御するように進化してきたことが示唆された。

総括

本研究では、逆遺伝学的手法および順遺伝学的手法を用いて、*P. pacificus* の捕食行動に関わる遺伝子の同定および解析を行い、また *C. elegans* との比較解析を行うことで、捕食が起る遺伝学的メカニズムおよびその進化機構の一端を明らかにした。本成果は、新規行動の獲得メカニズムを分子遺伝学の視点から説明する知見を提供し、多様な行動が獲得された分子機構を解明する基礎となることが期待される。