

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	中山 賢一
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目 線虫 <i>Pristionchus pacificus</i> における光シグナル伝達機構の解明 (Elucidation of a phototransduction in the nematode <i>Pristionchus pacificus</i>)			
論文審査担当者			
主 査	准教授	奥村	美紗子
審査委員	教 授	千原	崇裕
審査委員	准教授	濱生	こずえ
審査委員	准教授	杉	拓磨
〔論文審査の要旨〕			
<p>光の感知は多くの生物が持つ重要な感覚系の一つである。光は光受容細胞に存在する光受容タンパク質によって受容され、下流のシグナル伝達経路によって伝達される。動物では、オプシンなどの光受容タンパク質や、その下流においてGタンパク質や二次メッセンジャーであるcGMPを介したシグナル伝達経路が機能すると報告されている。</p> <p>線形動物は目のような特定の光受容器官を持たないが、一部の線虫では光反応性が確認されている。モデル生物<i>Caenorhabditis elegans</i>では、典型的オプシンやクリプトクロムに依存しないLITE-1を介した独自の光伝達経路を用いているが、他の線虫種がどのような光シグナル伝達経路を持つのかは明らかになっていない。</p> <p>申請者は進化生物学のモデルとして確立されてきた線虫<i>Pristionchus pacificus</i>に着目した。この線虫は飼育が容易であり、ゲノム情報などの遺伝学的ツールを用いることができる。<i>P. pacificus</i>においてCRISPR/Cas9システムによるゲノム編集を行う場合、guide RNA (gRNA)とCas9タンパク質をマイクロインジェクションによって生殖腺に導入する。しかし、インジェクションはすべての個体で成功するとは限らず、標的変異のスクリーニングには多大な労力とコストがかかっていた。申請者はマーカーとなる遺伝子と標的遺伝子に対するgRNAを同時に導入するCo-CRISPRシステムの確立を行い、<i>Ppa-prl-1</i>は有用なインジェクションマーカーとして活用できることを明らかにした。</p> <p>次に光忌避行動アッセイを行い、<i>P. pacificus</i>は短波長側の光に対して忌避行動を示すことを見出した。この光忌避行動に関わる遺伝子を明らかにするために、神経伝達物質などに関わる遺伝子の表現型解析を行い、GABAやグルタミン酸が光忌避行動に関与することを明らかにした。</p> <p>また<i>P. pacificus</i>における光シグナル伝達経路を明らかにするために、ランダムに変異を導入した約2万系統に対して、光忌避行動アッセイによる順遺伝学的スクリーニングを行い、4系統の光不感系統を単離した。全ゲノム配列の解読および染色体マッピングの結果、3系統でcGMPの合成に関わるグアニル酸シクラーゼに、1系統でGPCRキナーゼに変異があることを確認した。Co-CRISPRシステムによってcGMP経路に関わるその他の遺伝子やGPCRキナーゼの変異体を作成し、光忌避行動アッセイを行ったところ、グアニル酸シクラーゼ、cGMP依存性陽イオンチャネル、ホスホジエステラーゼ、GPCRキナーゼが光忌避行動に関わることを明</p>			

らかにした。

それらの遺伝子の発現パターンの解析によって、cGMP経路の遺伝子は一部の感覚神経で発現していること、GPCRキナーゼは感覚神経およびそれ以外の細胞において発現していることを見出した。さらに一部の感覚神経における神経伝達の阻害により光忌避行動が低下したことから、それらの感覚神経が光受容に関わる可能性が示唆された。

*P. pacificus*と*C. elegans*の光シグナル伝達経路の比較研究を通じて、両種間の類似点と相違点が明らかにされ、線虫の光受容機構の複雑さとその多様性が初めて詳細に解明された。この発見は、生物の感覚系の進化と機能に関する研究に新たな洞察を提供するものである。

以上、審査の結果、本論文は統合生命科学研究科学位論文評価基準を満たし、著者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。