

氏名・本籍	大西 康平 (徳島県)
学位の種類	博士 (理学)
報告番号	甲第 116 号
学位授与の日付	令和 3 年 3 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
論文題目	<i>C. elegans</i> の低温馴化を司る温度受容体の同定
審査委員	(主査) 教授 久原 篤 (副査) 教授 日下部 岳広 (副査) 教授 渡辺 洋平

論文内容の要旨

生物は常に周囲の温度を受容することで生命の維持や繁殖などに役立てている。生物種によって温度受容の分子機構は異なるが、動物では主に 6 回膜貫通型の陽イオンチャネルである TRP チャネルが温度受容体として機能することが知られている。一方で温度受容に関与しない TRP チャネルも多数知られており、その違いについては未解明の点がある。また近年、TRP チャネルに依存しない温度受容や温度情報処理のメカニズムも存在することが徐々に明らかとなってきた。そのような背景のなか、本研究では新規の温度受容体分子の単離を目指し、線虫 *Caenorhabditis elegans* の低温馴化現象を実験系とした解析が行われた。

C. elegans の低温馴化に関わる温度受容ニューロンとして ADL が報告されていたが、ADL 内で機能する温度受容体は未同定であった。そこで、低温馴化に関与する温度受容体の探索を行った。これまでに *C. elegans* において暖かい温度に反応する TRP チャネルは見つかっていなかったため、ADL 温度受容ニューロンで発現している TRP チャネルである OSM-9 と OCR-2 に着目した。*osm-9* と *ocr-2* 変異体は低温馴化に異常をもち、それらの変異体の異常は ADL 特異的に *osm-9* もしくは *ocr-2* 遺伝子を発現させることで部分的に回復した。*osm-9* と *ocr-2* 変異体の ADL 温度受容ニューロンの温度応答性をカルシウムイメージング法で測定したところ、それぞれ ADL の温度応答性が低下していた。この温度応答性の低下は、ADL 特異的に *osm-9* もしくは *ocr-2* 遺伝子を発現させることで回復した。OSM-9 と OCR-2 が温度受容に関与するかを調べるために、温度上昇刺激に応答しない味覚ニューロン(ASE)に OSM-9 と OCR-2 を発現させたところ、味覚ニューロンが温度上昇刺激に応答するようになった。また、アフリカツメガエルの卵母細胞に OSM-9 と OCR-2 を発現させ、電気生理学的解析をおこなったところ、温度刺激に応じてこれらのチ

チャンネルが開口することが示唆された。以上の結果から、TRP チャンネルが ADL ニューロンにおいて温度受容体として機能し、線虫個体の低温馴化を制御していることが示唆された。

一方で、OSM-9 と OCR-2 チャンネルの温度応答性は、一般的な温度応答性 TRP チャンネルと比べて非常に低かったため、TRP 以外の温度受容体の存在を考えた。TRP チャンネルはその上流の 3 量体 G タンパク質を介した情報伝達系によって制御されるケースが知られていたため、3 量体 G タンパク質のさらに上流で機能する G タンパク質共役型受容体(GPCR)が温度受容に関わっているという仮説を立てた。その仮説に基づき、線虫ゲノム中の約 1000 個の GPCR をコードする遺伝子を RNA 干渉法で網羅的にノックダウンし、低温耐性への影響を調べたところ、約 80 個の遺伝子に絞り込まれた。そのうち一つの GPCR は ADL 温度受容ニューロンで発現し、そのノックアウト変異体を作製したところ、ノックアウト変異体は低温馴化に異常を示した。その異常は変異体の ADL 特異的に野生型の遺伝子を発現させることで回復した。さらに、この GPCR を温度上昇刺激に応答しない味覚ニューロン(ASE)に発現させたところ、温度上昇刺激に応答するようになった。以上の結果から、GPCR が温度受容に関与していることが示唆された。

審査結果の要旨

大西 康平氏の研究は、動物における新規の温度受容体の同定を目的とし、線虫 *C. elegans* の低温馴化をモデルとして解析が進められた。まず、動物の温度受容に広く関わる TRP チャンネルに注目し、線虫 *C. elegans* の低温馴化における温度受容ニューロン ADL で発現している TRP チャンネル(OSM-9 と OCR-2)の温度応答性を調べた。その結果、これまでに *C. elegans* では見つかっていなかった暖かい温度に反応する TRP チャンネルであることを明らかにした。その一方、OSM-9 と OCR-2 の温度応答性は比較的弱かったため、他にも未同定の温度受容体が存在することが考えられた。TRP の上流には G タンパク質が存在し、そのさらに上流に GPCR 型温度受容体があると仮定し、GPCR の網羅的 RNAi スクリーニングが行われた。そこから単離された GPCR の一つは ADL 温度受容ニューロンの温度受容に関わり、低温馴化に関わることが示唆された。さらに、味覚ニューロン ASE にこの GPCR を発現させたところ、温度上昇に反応するようになったため、新規の温度受容体である可能性が考えられた。本研究は、GPCR を本来発現していないニューロンに強制発現させることで、温度受容能を獲得させた初めてのケースとなった。本研究により、TRP と GPCR が共に単一の温度受容ニューロンで機能することで、動物個体の低温馴化・耐性が制御される例が初めて示された。

本研究の成果は、「第 90 回日本遺伝学会年会(2018 年、奈良)」のプレナリー

ワークショップにて招待講演者として口頭発表され、他の学会でも多数発表されている。また、成果の一部は、権威ある査読付の国際学術誌である *Scientific Reports* 誌(副論文 1 編、参考論文 4 編)に公表され、国内外において高い評価を受けている。それらの成果により大西 康平氏は、日本遺伝学会 Best ペーパー賞などを受賞している。2021 年 2 月 8 日、甲南大学学位規程に従い公開講演を行い、本論文に関する説明と質疑応答を行った。申請者の説明は明快であり、応答内容も十分満足できるものであった。

以上により審査委員は本論文提出者(大西 康平)が、博士後期課程の修了に必要な所定の単位を修得し、かつ、必要な研究指導を受け、博士論文の審査及び最終試験に合格したので、博士(理学)の学位を授与せられるに充分なる資格をもつものであると認める。