

氏名	安 藤 秀 樹		
学位(専攻分野)	博 士(理 学)		
学位授与番号	博 甲 第 1143 号		
学位授与の日付	平 成 5 年 3 月 28 日		
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文題目	Genetical, pharmacological and molecular studies on ketamine responses of the nematode <i>Caenorhabditis elegans</i> 線虫C. エレガンスのケタミン応答の遺伝学的、薬理学的及び分子生物的研究		
論文審査委員	教授 香川 弘昭	教授 榎本 雅敏	教授 上島 孝久
	教授 吉川 雄三	教授 田坂 賢二	

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

麻酔剤ケタミンの筋収縮阻害機作の解明は、筋細胞内でのカルシウム動態に依存する興奮伝達過程の理解に貢献すると思われる。ケタミンが哺乳類の筋肉と同様に線虫C. エレガンスの体壁筋にも弛緩作用を持つことが分かったので、ケタミンに異常応答する突然変異体(3遺伝子由来16株)を化学的変異源(EMS)処理して単離した。ケタミンの薬理作用にのみ痙攣を示す*kh30*変異は第5染色体中央部にマップされたので、変異遺伝子を*kra-1*と名付けた。*kra-1*(*kh30*)株個体に対する遺伝的、薬理学的解析の結果、*kh30*変異は同一座位の*unc-68*遺伝子に生じた変異であることが示唆された。*unc-68*座位を含むと思われる野生株ゲノムのコスミドクローンから単離されたDNAを順次*unc-68*変異株に顕微注入し、形質回復を指標に遺伝子座位を制限酵素断片2.5kbに限定した。ノーザン分析の結果、*unc-68*変異形質の発現時期と一致して現われる。0.5kbの転写産物を同定した。cDNA及びゲノムDNAの塩基配列から推定された遺伝子産物は全く新しいタイプの低分子親水性蛋白質で、セリン/スレオニン残基に富みリン酸化酵素の基質として働く細胞質局在性の情報伝達分子の一つと推測された。本研究の結果は、興奮-収縮連関過程の未知の因子の解明につながると期待される。

論文審査の結果の要旨

本論文の研究は、神経-筋接合部における情報伝達過程を調べるため線虫 *C. エレガンス* を用いて、麻酔薬ケタミン応答に対する突然変異体を単離して、遺伝学的及び薬理学的解析を行い、遺伝子の性質を分子生物学的手法で明らかにしたものである。

ケタミンは正常型 *C. エレガンス* のアセチルコリン受容体アゴニストであるレバミゾール及びナトリウム-カリウム ATP アーゼの阻害剤ウアバインによる筋収縮を抑制した。ケタミン作用部位をしるため、*C. エレガンス* を変異原処理してケタミン応答異常を起こす突然変異体を多数単離して調べたところ、そのうちのの一つはケタミン溶液中で激しく痙攣した。新しく得られた変異株 (kh30) の遺伝子を *kra-1* と名づけ遺伝子地図上の第五染色体中央部に位置づけた。*kra-1* 遺伝子は *unc-68* 遺伝子と良く似た性質を持つので、物理的染色体地図から予想される領域のコスミド DNA を順次調整して、*unc-68* 変異体の一座位をもつ個体に微注入し、形質転換体の機能回復を指標にして遺伝子をクローン化した。得られた cDNA 及び、染色体の DNA の塩基配列の結果から、*unc-68* 遺伝子はこれまでに知られてない分子量 13.5kb の蛋白質でセリン、スレオニンに富んだアミノ酸配列を持っていた。同遺伝子の発現時期は、転写産物の解析から求めたところ第 4 齢から成虫期で、変異形質の現れる時期と一致していた。

以上の結果は、遺伝学、薬理学及び分子生物学的手法を併用して興奮-収縮連関の理解に新しい知見を得たものであり、今後の興奮-収縮連関の研究に及ぼす影響は大きく、それゆえに、安藤秀樹氏は自然科学研究科の博士 (理学) の学位を受ける資格があるものと判定した。