

氏名	作 部 保 次
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	理 学
学位授与番号	博甲第1486号
学位授与の日付	平成8年3月25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	Molecular cloning, expression and mutation analysis of the ryanodine receptor gene <i>ryr-1</i> of <i>Caenorhabditis elegans</i> C. エレガンスのリアノジン受容体遺伝子(<i>ryr-1</i>) のクローニング, 発現および突然変異の解析
論文審査委員	教授 香川 弘昭 教授 榎本 雅敏 教授 金澤 浩 教授 中村 快三 教授 酒井 隆

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

線虫C.エレガンスのリアノジン受容体遺伝子 $ryr-1$ をクローン化し、第5染色体に位置づけ、全遺伝子構造を決定した。 $ryr-1$ は46個のエクソンで構成され、推定された5,071アミノ酸は脊椎動物のリアノジン受容体と40%以上の相同性を示した。プロモーター/ $lacZ$ 融合遺伝子の発現を解析したところ、 $ryr-1$ は筋特異的な転写調節領域の制御により、主に体壁筋及び咽頭筋で発現し、5'上流の断片長によっては神経や腸で発現した。第5染色体にマップされている麻酔薬ケタミンに対する応答異常変異 $kra-1$ 、及びレバミゾール抵抗性の運動不良変異 $unc-68$ について、 $ryr-1$ 遺伝子の全コード領域の塩基配列を直接決定して変異部位を同定した。 $kra-1(kh30)$ ではエクソン11内のG→A塩基置換によりSer1,444からAsnへのアミノ酸置換を、 $unc-68(e540)$ ではイントロン21のスプライシング部位のG→A塩基置換により読み枠がずれ、下流のエクソンで停止コドンが生じていた。以上の結果は、筋小胞体において Ca^{2+} 放出を担うリアノジン受容体の機能解析を、突然変異体を用いて理解する手掛かりを与えた重要な知見である。

論文審査結果の要旨

本研究は神経後膜から筋肉に至るカルシウム信号伝達過程を理解するため、線虫のリアノジン受容体遺伝子をクローニングし、発現場所を決め、さらに突然変異遺伝子の変異部位を決定したもので主な結果は次の3つである。

- 1) *ryr-1*遺伝子は46個のエクソンからなり、5,071アミノ酸残基をコードしており、他生物のリアノジン受容体と40%以上の相同性を示した。
- 2) *ryr-1*遺伝子の5'上流領域と*lacZ*との融合遺伝子の顕微注入実験から体壁筋及び咽頭筋で特異的に発現することを見いだした。
- 3) 麻酔薬ケタミンの応答異常*kra-1*および運動不良*unc-68*変異における*ryr-1*遺伝子の塩基配列を決定した。*kra-1*では*ryr-1*の第11エクソン内のG→A塩基置換により、推定リン酸化部位Ser1,444がAsnへのアミノ酸置換を、*unc-68*(e540)では第21イントロンのスプライス/アクセプター配列内でG→A塩基置換による下流の読み枠のズレが生じていたことから、*kra-1*変異および*unc-68*変異は*ryr-1*遺伝子内の塩基置換であることを証明した。

以上の結果は、分子生物学的手法を用いて興奮-収縮連関の理解に新しい知見を得たものであり、当該分野の研究に及ぼす影響は大きく、それゆえ、作部保次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。