

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 吉田 碧

本論文は、線虫 *C. elegans* の2種類のオクトパミン受容体 SER-3 と SER-6 の機能について述べられている。線虫のアセチルコリン放出ニューロンである SIA ニューロンでは、餌である大腸菌が存在しない時に転写因子の CREB (cAMP response element-binding protein) が活性化される。このシグナル伝達には脊椎動物のノルアドレナリンに相当するオクトパミンと呼ばれる神経伝達物質が必要であり、Gq 共役オクトパミン受容体である SER-3 が SIA ニューロンにおいてこのシグナルを伝達する。*C. elegans* には、SER-3 と分子的機能が同じである SER-6 というもう1つの Gq 共役オクトパミン受容体が存在する。論文提出者は、上述のシグナル伝達における SER-6 の機能を解析した。

論文提出者は、まず Gq 共役型であると予想されるオクトパミン受容体 SER-6 の cDNA をクローニングした。そして SER-3 と SER-6 のアミノ酸配列を比較し、相同性が高いことを確認した。次に、SER-6 も SER-3 と同様に上記のオクトパミンシグナル経路に関わっているか解析した。CREB の活性化の検出方法は、先行研究ですでに確立されている手法を用いた。CREB の活性化を可視化するために、*cre* プロモーターの下流に *gfp* 遺伝子を融合した *cre::gfp* レポーターを用いた。このレポーター遺伝子を導入した線虫では、CREB が活性化した細胞で GFP が発現する。野生型の個体をオクトパミン 3mg/ml を含むプレート上で4時間、または餌のないプレート上で6時間飼育したところ、先行研究の通り SIA ニューロンにおいて CREB の活性化がみられた。一方で、*ser-6* 欠失変異体と *ser-3;ser-6* 二重変異体では、CREB の活性化レベルが *ser-3* 欠失変異体と同様に減少していた。この結果から、SER-6 も SER-3 と同様に餌非存在下で活性化されるオクトパミン依存的な CREB の活性化に関与していることが明らかになった。さらに、SER-6 は SIA ニューロンを含む複数のニューロンで発現していることを確認した。また、*ser-6* 欠失変異体に SIA ニューロンでのみ SER-6 を発現させると、オクトパミン依存的な CREB 活性化が回復した。以上の結果から、SER-6 は SER-3 と同じように SIA ニューロンにおいて餌非存在下で活性化されるオクトパミンシグナルを伝達していることが明らかになった。

次に論文投稿者は、*ser-3* 変異体と *ser-6* 変異体で CREB の活性化レベルが減少した要因が、オクトパミン受容体の総量が減少したことに依るのか、それとも *ser-3* と *ser-6* のどちらか一方が存在しないことに依るのかを検証した。*ser-3(+/-);ser-6(+/-)* 二重ヘテロ変異体の CREB の活性化レベルを調べたところ、*ser-3* と *ser-6* の遺伝子コピー数が野生型の半分であるにも関わらず、オクトパミンおよび餌が無いことによる CREB の活性化レベルは野生型ほどではないが高かった。さらに、*ser-3* 欠失変異体の SIA ニューロンで SER-6 を過剰発現しても、CREB の活性化レベルは *ser-3* 欠失変異体と同程度であった。また、*ser-6* 欠失変異体の SIA ニューロンで SER-3 を過剰発現しても、CREB の活性化レベルは野生型ほどまでは回復しなかった。以上の結果から、*ser-3* と *ser-6* の両方が存在することが CREB の活性化に重要であることが示唆された。また、SER-3 を過

剰発現した *ser-6* 欠失変異体では、外因性のオクトパミンによってわずかに CREB が活性化したことから、SER-3 は発現量が十分あれば、SER-6 非存在下でも CREB を活性化する可能性が示唆された。

これまでの研究で *C. elegans* を餌非存在下におくと CREB が活性化されるシグナル経路に SER-3 が機能していることがわかっていた。論文投稿者は、SER-6 もこのシグナル経路で機能していることを新たに解明した。さらに、これらの受容体は分子的な機能が重複すると予想されていたが、*ser-3* と *ser-6* の両方が CREB の活性化に重要であり、SER-3 と SER-6 がリダンダントに機能していないことが明らかとなった。

なお、本論文は論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。