

線虫 *C. elegans* を用いた睡眠を制御する遺伝子の探索

吉田 光作 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 柳沢 正史 (筑波大学 医学医療系)

背景と目的

睡眠は多くの動物種に広く見られる現象である。しかしながら、睡眠を制御する分子機構についてはほとんど明らかになっていない。

一般に、睡眠の基準として、可逆的である、恒常性の制御下にある、刺激に対して反応性の低下を示す、などがあげられる。単純なモデル動物である線虫 *Caenorhabditis elegans* においても、これらの基準を満たす、睡眠のような状態が存在する。Lethargus と呼ばれる、脱皮の直前に現れる状態である。通常線虫はサインカーブ状に体を曲げながら前後に移動するが、lethargus 中は体をホッケーのスティックのように伸ばしてほとんど移動しなくなる。Lethargus 中でも強い機械刺激に応じて動き出す素早い可逆性がみられるなど、上記の睡眠の基準を満たしている。

これらに加え、線虫が遺伝学的技術を適用しやすい点を踏まえると、睡眠制御に関わる新規の遺伝子を探索するうえで非常に有用なモデルであると期待される。そこで本研究では、まず、過去のマイクロアレイなどの研究から、脱皮のタイミングに関連して発現が周期的に変動することが分かっている遺伝子群に着目し、その変異体について解析を行った。これらの遺伝子群は線虫のみならず哺乳類でも広く保存されており、動物普遍的な睡眠制御遺伝子の同定につながることを期待された。

方法

線虫を個体ごとに、かつ複数の個体を同時にある程度高い倍率で観察する必要があるため、以下の図 1 に示すようなチャンバーを用いて長時間の撮影を行なった。撮影で得られた画像から線虫の動きを検出し、lethargus に異常がみられる変異体を探した。Lethargus の検出には fraction of quiescence (FOQ; どれだけ自発的運動が低下しているか) を算出した。

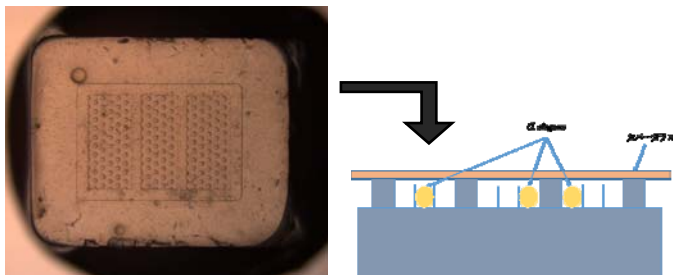


図 1 撮影用のチャンバーと断面の模式図

結果

野生型では、lethargus に入ると FOQ が急激に上昇し、FOQ の高い状態が 4 時間ほど続いた(図 2)。一方、解析した複数の変異体のうち、変異体 1 では、FOQ の上昇が野生型に比べ緩やかであった(図 3)。また変異体 2 では FOQ の高い状態が野生型に比べ長時間持続した(図 4)。現在、サンプル数を増やし、再現性や統計的に有意な差の有無を検討している。また、より多くの変異体の解析を行い、スクリーニングの規模を拡大している。

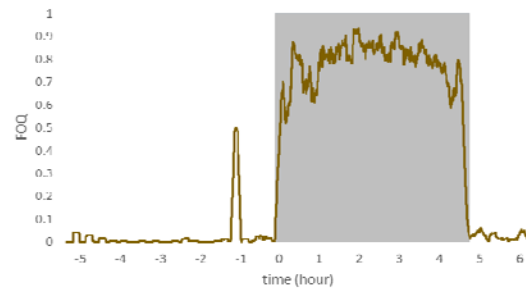


図 2 野生型の lethargus

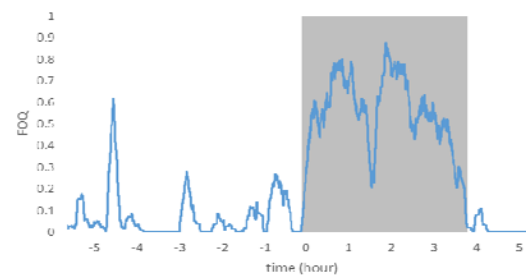


図 3 変異体 1 の lethargus: 野生型より緩やかに lethargus に入る。

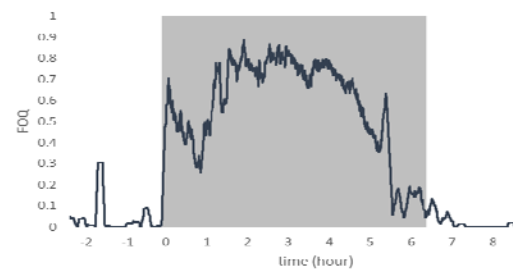


図 4 変異体 2 の lethargus: 野生型よりも lethargus が長い。

考察と今後の計画

今回、まだ統計的解析や再現性の検討が不十分であるものの、覚醒状態から lethargus への移行のステップおよび、lethargus の持続時間に異常があると期待される変異体の同定に成功した。今後、これらの変異体およびその原因遺伝子の解析により、覚醒状態から睡眠への切り替えの分子機構や、睡眠の持続期間を規定する分子機構についてその一端を解明できると期待される。

今後は、線虫において、これら候補遺伝子がどのように lethargus の制御に関わるか、その作用機構を明らかにすると同時に、哺乳類における役割も明らかにするために、マウスでの解析も行う。本研究により、動物普遍的な睡眠の分子機構の一端が明らかになると期待される。

参考文献

- (1) Raizen D. M. et al. Lethargus is a *Caenorhabditis elegans* sleep-like state Nature 2008
- (2) Lockery S. R. et al. Artificial dirt: Microfluidic substrates for nematode neurobiology and behaviour journal of neurophysiology