

# 線虫で探る遺伝子と行動

## 桂 勳

総合研究大学院大学教授遺伝学専攻／国立遺伝学研究所教授

マウスやショウジョウバエといったモデル生物の登場で、脳神経研究は大きく躍進した。遺伝子に手を加えることによって、神経系の発生から、分化、回路の形成に至るまでを、分子レベルで追えるようになったからだ。私たちは線虫*C. elegans*を用いて、遺伝子、細胞、行動をダイレクトに結びつけ、行動の核心にせまりたいと考えている。

### 線虫と分子生物学者の出会い

国立遺伝学研究所（遺伝研）の構造制御研究室では、*C. elegans*（シー・エレガンス）という土壌自活性線虫（図1）を使って行動の研究を行っている。*C. elegans*は成虫で体長が約1.2mmほどで、糸くずのような体をしている。1965年にイギリスの分子生物学者シドニー・ブレンナー博士（2002年ノーベル医学生理学賞受賞）が、発生や行動の研究のために採用したモデル生物として有名だ。

*C. elegans*は、今では多くの研究分野でたいへんよく使われている。その最大の理由は、非常に飼いやすく、しかも体の構造がきわめて単純だという点にある。実験室では寒天培地上で大腸菌を餌として飼う。ヒトと同様に、神経、筋肉、腸、皮膚などをもつが、細胞数（体細胞核）が成虫でもわずか959個で、体の構造の個

体差が非常に少ない。頭部には多数の神経突起が束になった構造（神経環）があり、ここが神経情報処理の中心部（脳に相当する）と考えられている。遺伝子の数は約2万。ヒトのおよそ半分だが、ヒトと共通のものが多い。そのため、*C. elegans*の研究結果をダイレクトにヒト研究の参考にすることができる。この遺伝子の相同性も、*C. elegans*が重宝がられる理由の1つになっている。

ブレンナー博士は、*C. elegans*を使い始める時点で、きちんとした方法論をもっていた。その第1点は、行動プログラムを多数の遺伝子産物が次々とはたらく経路またはカスケードとみなし、その順序を決定しようと考えたことである。動物にみられる本能行動の多くは、親から子へと遺伝するので、遺伝子が規定する可能性が高いと考えられる。具体的に「どのような遺伝子」が「どの行動プロ

グラム」を作り上げているのかを知るには、「ある行動」が異常になった個体（変異体）を分離し、その異常がどの遺伝子の変異によるものかを突き止める必要がある。ブレンナー博士は、異常な行動をおこすさまざまな変異体を分離できれば、あとは、かつて遺伝学者が細菌の代謝経路を解明したときのように、遺伝学的なアプローチで「どのような遺伝子がどのような順序ではたらくのか」を決定すればよいと考えた。

第2点は、分子レベルの遺伝子変異と個体レベルの行動異常をつなぐ手段として、多細胞構造の詳細な解析が必要だと考えたことである。ブレンナー博士は、主にこの理由から、個々の細胞を同定できるほど細胞数が少なく、しかも体が透明な*C. elegans*を材料に選ぶことにした。博士らは、実際に生きたままの線虫を使って光学顕微鏡下で個々の細胞を同定



図1 線虫*C. elegans*の3齢幼虫（左）と耐性幼虫（右）  
体長は、それぞれ約0.5mm。左の虫は右上、右の虫は右下が頭である。

し、受精卵から959細胞の成虫になるまでの細胞系譜（細胞の系図）を突き止めた。さらに電子顕微鏡の連続切片像を用いて、302個のニューロンが作り上げる神経回路、すなわち各神経細胞がどの神経細胞とシナプス結合やギャップ結合を形成しているかを、すべて明らかにした。

現在では、「分子→細胞→個体」という、異なるレベルを通して遺伝子機能を解明する方法が完成している。たとえば、野生型遺伝子のプロモーター（遺伝子発現を制御するDNA領域）をさまざまな細胞特異的プロモーターと組みかえたあとで変異体に導入し、「ある機能を果たすのに、どの遺伝子がどの細胞で発現することが必要なか」を調べる手法がある。この手法の確立は、多種類の細胞特異的プロモーターの同定と、GPF（クラゲ蛍光タンパク質）遺伝子の利用によるところが大きい。GPF遺伝子は発現すると蛍光を発するので、目的の遺伝子につなげて導入すれば、目的の遺伝子が発現したことを視覚的に確認できる（図2）。こうしたさまざまな実験手法や基礎知識の充実によって、*C. elegans*は理想のモデル生物へと躍進するに至ったのである。

分子生物学は、さまざまな生物現象が生じるメカニズムを、遺伝子をもとに論理的に解明する学問である。それまでの行動の研究は、大脳生理学者、精神医学者、心理学者、動物行動学者などによって、それぞれ独自の方法で行われてきた。ブレンナー博士らが、そこに分子生物学の手法を持ち込んだことで、行動研究に豊かな一面が加わったのである。

### C. elegansをめぐる4つのストラテジー

ブレンナー博士が研究対象をフェージから*C. elegans*に移した後に、私は遅ればせながらフェージを研究しはじめた。その後、博士の後を追うようにして*C. elegans*の研究に転向し、1991年末に国立遺伝学研究所に着任した。現在、私たちの構造制御研究室が行っている研究は、大きく4つに分けられる。

第1は、*C. elegans*の腸の中で脱糞周期や成長を制御する*flr*遺伝子群の研究であ

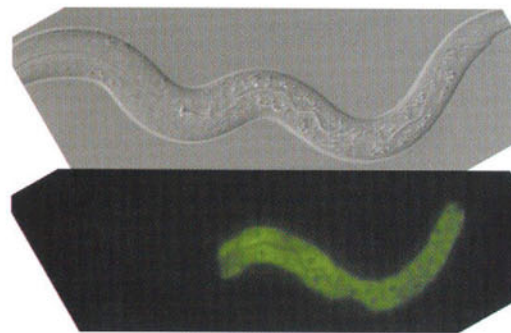


図2 *flr-1::GFP*融合遺伝子を導入した線虫*C. elegans*の*flr-1*変異体

上の写真は微分干渉顕微鏡、下の写真は蛍光顕微鏡を使って撮影したものである(武内昌哉博士提供)。この*flr-1::GFP*融合遺伝子は、*flr-1*プロモーターの制御下で、野生型FLR-1タンパク質とGFPがひと続きになったポリペプチド鎖を生産するように設計されている。遺伝子導入体ではGFPの蛍光が腸細胞のみにもみられ、また、表現型が変異体から野生型に変わっていた。この結果から、融合タンパク質は野生型FLR-1タンパク質とGFPタンパク質の両方の活性をもち、しかも野生型FLR-1タンパク質が腸のみで発現すれば野生型表現型になるのに十分なことがわかった。

る（図2）。*C. elegans*は、約45秒に1回というサイクルで定期的に糞をする。しかし*flr*遺伝子産物であるイオンチャネルやタンパク質リン酸化酵素に異常があると、この脱糞周期が短く不規則になることがわかった。ところが*C. elegans*の腸には神経がなく、栄養吸収や物質合成を行う細胞だけからなっている。このことは、神経以外の腸細胞が脱糞という周期的行動をおこすのに重要な役割を演じていることを示唆している。一方、*flr*遺伝子群の下流では、成長を抑制し感覚受容の感度を変える遺伝子群がはたらいっていることがわかってきた。現在、私たちは、*flr*遺伝子群の機能解析とともに、その下流遺伝子群の機構解明にも取り組んでいるところである。

第2は、*C. elegans*の耐性幼虫の研究である。*C. elegans*は、個体密度が高く餌が少ない条件では、通常の3齢幼虫ではなく、口が閉じた耐性幼虫（図1の右）になる。感覚からの情報入力、神経を通して発生を制御するのである。単一の遺伝子変異で耐性幼虫の形成条件が大きく変わる例は、すでに数多く知られている。これに対し私たちは、2つの神経系遺伝子の変異が相互作用をおこすと通常的环境下でも耐性幼虫になる例が多くみられる点に気づいた。そこで、これらの変異

体を使って遺伝子間相互作用の研究を行うとともに、感覚情報制御や耐性幼虫形成にかかわる新しい遺伝子の同定を試みることにした。これまでに、嗅覚の順応にかかわる転写因子、ステロイド代謝に重要な細胞、耐性幼虫形成を防ぐ輸送タンパク質などが発見されている。

第3は、*C. elegans*の感覚の統合にかかわる*ben-1*遺伝子の研究である（図3）。当研究室の石原健助手は、「単独の感覚入力への応答は正常だが、2種類の刺激を与えたときに、どちらの刺激に対して優先して応答するかという点が異常になった変異体」を分離できれば、感覚統合にはたらく遺伝子がみつかると考えた。そして、この方法で*ben-1*遺伝子を同定した。この*ben-1*変異体は、行動プログラム間の選択だけでなく、飢餓体験と味覚、および飢餓体験と温度感覚を連合させる学習にも異常を示した。どうやら、この遺伝子はさまざまな感覚の統合に広く関与しているようである。*ben-1*遺伝子産物は分泌タンパク質であり、2対の神経細胞で発現している。現在、石原助手は、その受容体とシグナル伝達系を探索しているところである。

第4の研究は、餌と匂い物質の連合学習にかかわる遺伝子の作用機構を解明することである。私たちの研究室では、匂

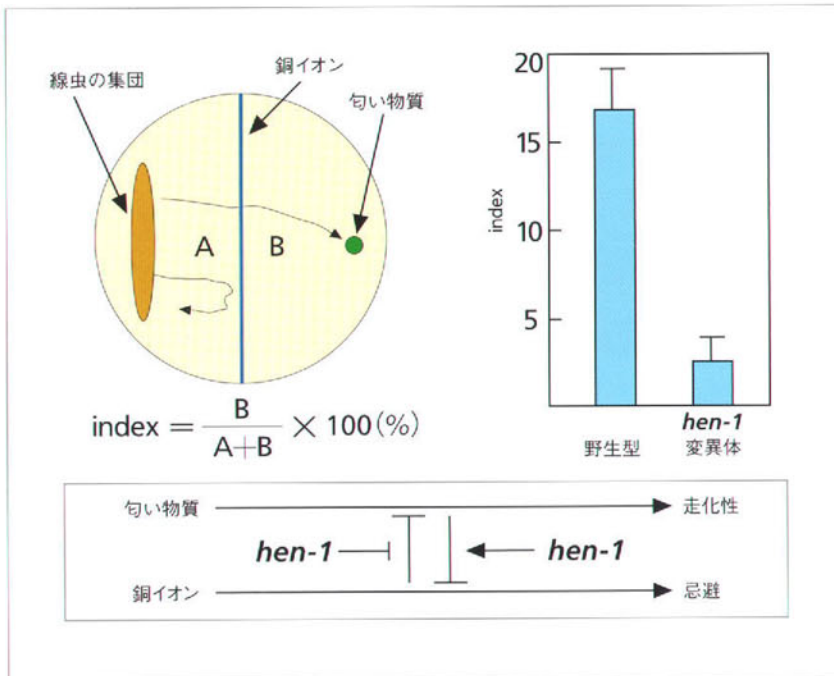


図3 *hen-1*変異体にみられる行動の異常

*hen-1*変異体は、「銅イオンの忌避」、「匂い物質への走化性」のおおの行動は正常である。しかし、これらの2つの刺激を同時に与えて行動を選択させると、銅イオンの忌避を優先させる。行動選択の測定は、左上の図のようにして行う。直径9cmのシャーレに入れた寒天培地の中央に、銅イオンを含む溶液で線を引き、バリアーを作る。寒天培地の右端付近に誘因性の匂い物質(ジアセチル)を、左側に30~100匹の成虫*C. elegans*を配置し、90分後に何%の虫が銅イオンのバリアーを越えて右側に移動したかを調べる。

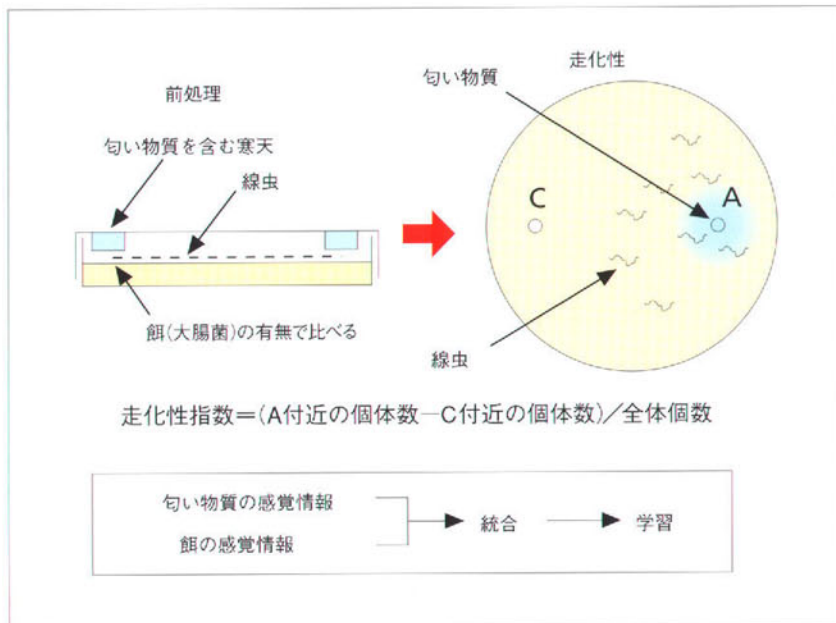


図4 匂いと餌の条件付けによる学習

匂い物質(ブタノン)が充満した環境に*C. elegans*をおいて条件付けをし、その後で同じ匂い物質に対する走化性試験を行う。条件付けの際に餌がないと、嗅覚に関する順応がおこり、走化性が弱くなる。しかし、条件付けの際に餌があると、餌と匂いを連合して学習し、走化性の効率上がる場合がある。私たちは、これを学習であると考えている。

い物質ブタノンと餌を使って*C. elegans*に条件付けを行うと、ブタノンへの走化性の効率上がることをみつけた(図4)。そこで、この「ブタノンと餌の連合学習」に異常を示す変異体を分離し、その解析を進めている。哺乳類の脳や軟体動物では電気生理学と生化学を、ショウジョウバエやマウスでは遺伝学を使って学習の研究が行われている。*C. elegans*を用いた私たちの研究では、これらの研究からはみつからない遺伝子を突き止めたと自負している。

### 生物まるごとの研究で、行動の核心へ

最後に、私たちの構造制御研究室が、将来に向けてどのような構想をもっているかを述べよう。

表現型をみて変異体を選択する「生物まるごと」の古典遺伝学は、行動にかかわる遺伝子を、特定の仮説に依存せずに広く探索できる。探索の場を神経系に限定しないので、たとえば*flr*遺伝子群の研究のように、思わぬ臓器が行動にかかわる例も発見できる。この長所を生かして、従来の神経科学では困難な発見をめざしたいと考えている。

脳はしばしばコンピューターにたとえられるが、これは誤解を生じやすいとてである。コンピューターは感情をもたないが、動物の学習は感情(情動)の起原と深く関係する。私たちは、現在の研究を続けることにより、「心地よい体験と関連したものを好きになり、不快な体験と関連したものを嫌いになる」という学習の分子機構がわかると考えている。さらに、食物が精神に影響を与えるメカニズムもわかるかもしれない。ここでも*C. elegans*を使うことで、遺伝子機能を分子・神経細胞・神経回路・個体の全レベルで解析できることが、たいへん心強い。将来は、ほかの生物を使った研究と補完しあえることを期待している。

ゲノムの時代になって、多数の遺伝子が相互作用する全体像が注目されるようになった。私たちの研究室でも、耐性幼虫の制御で、変異の数を2つ、3つと増やすと表現型が次々と変わる例をみつ

け、遺伝子間相互作用ネットワークの特性を抽出する方法を探っている。これらの遺伝子の多くは神経系ではたらくことから、この遺伝子ネットワークを神経回路に対応させることも試みている。

構造制御研究室の最終的な目標は、変異体の分離と解析により、行動において中心的な役割を果たす制御遺伝子を発見し、そのはたらきを解明することにある。その昔、デカルトは脳の松果体がヒトの行動制御の中心であると考えた。しかし、行動の中心的制御を行うのは、特定の器官ではなく、特定の神経回路や特定の遺伝子(群)なのかもしれない。

私たちの研究は、どの程度まで行動制御の中心部に迫っているのだろうか。私は*ben-1*の研究から、動物が行動プログラムを選択する機構がわかるとおもしろいと考えている。学習の研究からは、モチベーションのメカニズムに手がかりを得たいと思う。さらに核心に迫るために、どのような行動異常をもつ変異体を探すべきなのかを、よく考えていきたい。このように自由に夢を語ることができ、それが実現の可能性をもつのも、*C. elegans*という便利なモデル生物を手中にしたからにはほかならない。



桂 勲(かつら・いさお)  
専門は、タンパク質集合の物理化学から、ファージの形態の遺伝学を経て、線虫の行動・神経系の分子生物学に変わった。大学1年の時にモチベーションという問題に興味をもったが、線虫の行動研究を始めて再燃した。物心がついた時から生物の研究をやりたいと考えていたので、研究の進め方がかなり自己流である。狭い専門のプロフェッショナルになるよりは、いつまでも「考える素人」でいたいと思っている。

## 野生由来マウス系統を使った行動の遺伝解析

### 桂 勲

総合研究大学院大学教授遺伝学専攻/国立遺伝学研究所教授

国立遺伝学研究所(遺伝研)では、DNAデータベースや遺伝資源などに関するさまざまな事業を行っている。系統生物保存事業では、マウス、イネ、大腸菌、ショウジョウバエなどの保存を分担しているが、マウス保存事業では、森脇和郎名誉教授(前・総研大副学長)が世界中から集めた野生マウス由来の系統保存を大きな特色としている。系統生物研究センターの小出剛研究室(マウス開発研究室)では、この野生由来マウス系統をうまく利用して、行動のQTL解析(量的形質の遺伝解析)を行っている。

野生のマウスは、生息する地域により遺伝子の塩基配列が少しずつ異なり、それが量的な形質の違いとなって現れる。遺伝子産物タンパク質の発現および活性の微妙な違いや、そのタンパク質がほかの多くのタンパク質と相互作用するネットワークのバランスの違いといった小さな違いが加算されて、形質における量的な違いとなって現れる。しかも、このような違いが生物進化では重要となる。

小出研究室で、野生マウス由来の系統間でみられるさまざまな形質の違いを調べたところ、活動量、痛覚感受性、カプサイシン(トウガラシの辛辣成分)に対する感受性に、大きな差が見つかった。

総研大博士課程2年の梅森十三君と博士課程1年の西明紀君は、小出研究室で系統間の活動量の違いについて研究している。韓国の野生マウス由来のKJR系統はひんぱんに動き回るのに対し、ブルガリアの野生マウス由来のBLG2系統はあまり動かない。この2つの系統を交



向かって左から梅森十三君、西明紀君、小出剛助教授。

配して孫世代(F2)の活動量とDNAを1匹ずつ解析したところ、KJR系統が活発に動くために重要な遺伝子座が2つあることがわかり、それらの染色体上での位置も推定できるようになった。QTL解析から出発して実際に遺伝子をクローニングした例は非常に少ないが、小出研究室では、クローニングして分子生物学的に解析するところまでこぎつけたと考えている。

現在、梅森君は、哺乳類の活動量にかかわると考えられている神経伝達物質ドーパミンの脳中における量が、系統間でどのように違うのか解析している。また西君は、脳中のドーパミン受容体に関する薬剤を各系統のマウスに与えたときに、系統間で薬剤感受性がどのように異なるのか解析している。両君とも、このような研究を継続することにより、行動パターンを制御する遺伝子プログラムを明らかにし、行動の進化という問題への糸口をみつけられるのではないかと、大きな夢と期待をもって研究に励んでいる。



不活発なBLG2系統(左)と、活発なKJR系統(右)。