ミニレビュー

線虫 *C. エレガンス* の放射線
感受性突然変異体

本田修二, 本田陽子, 鈴木捷三

線虫 *C. エレガンス* は Brenner が主に微生物が使われていた分子生物学の黎明期に行動・神経など、より高次の生命現象の分子遺伝学的解明を目指して採用した動物である¹⁾。土壤中で自活生活をし、体長が約 1mm、卵から成虫になって、産卵し始めるまで 20℃ で約 3.5 日と短く飼育が容易である。体細胞数は雌雄同体では 959 個であるが、体が透明なためノマルスキー型顕微鏡にて発生における細胞分裂や移動が観察でき、すでに全細胞系譜が解明されている²⁾。またすべての神経細胞の細胞間結合様式が電子顕微鏡により研究され神経回路の全構造が明らかにされている。通常、雌雄同体が大多数を占める。そのため X 線や突然変異剤で突然変異を誘発させるとホモの変異体を容易に取ることができる。性決定は X 染色体の数によっており、XX では雌雄同体に、希に起こる(約 500 匹に 1 匹)染色体不分離により生ずる XO では雄になる。組換え実験ではこの雄を使う。得られた突然変異体は種々のマーカー変異体を基に染色体上にマッピングすることができ、米国の *Caenorhabditis* 遺伝学センターに多くの変異体が登録・保存されている。ゲノムは X 染色体を含む 6 本の染色体よりなり、そのサイズは約 100Mb でヒトの染色体約 1 本分である。全ゲノムをコスミドと YAC の整列クローンでほぼ被うことに成功しており、全遺伝子配列を決めるゲノムプロジェクトが進み、1998 年中に完了する予定である。これが完成すれば多細胞生物で最初に全遺伝子配列が決まるものとなる。トランスジェニック *C. エレガンス* は遺伝子を生殖巣に微量注入することにより可能で、これらのコスミドを注入することにより突然変異体の原因遺伝子が次々に解明されている。また 2 重鎖 RNA を注入することにより長期遺伝子発現の抑制も可能である³⁾。これまで単離された突然変異体は行動がごちない *unc*, 細胞系譜が異常の *lin*, 発生における細胞

死の異常の *ced* など多岐にわたる。変異体の解析から、その表現形質に関わる遺伝子群の相互作用が解明され、カスパーゼを含む細胞死を引き起こすネットワークや TGF- β などの成長因子の細胞内情報伝達など、より高等な動物の研究をリードしているものも多い。

放射線感受性の劣性突然変異体が Hartman らにより取られた⁴⁾。野生体の *C. エレガンス* に突然変異剤 ethyl methanesulfonate を与え、2 回生活環を経させ、雌雄同体の成虫の F₂ を 1 匹ずつ 24 穴の培養プレートに植える。2 時間産卵させ、卵をそのプレートに残して、F₂ の親を第二のプレートに移す。卵に X 線 10 Gy または紫外線 5J/m² を照射する。そのときの卵の数を数え 3 日間成長を観察して放射線感受性をチェックし対応する第二のプレートにいる *C. エレガンス* を放射線感受性変異体として単離する。このようにして *rad-1* (radiation sensitivity abnormal) から *rad-9* まで九つの放射線感受性変異体が取られた。*rad-1* と *rad-2*, *rad-5*, *rad-6* は X 線と紫外線に感受性であり、*rad-2*, 3, 4 は methyl methanesulfonate と紫外線に感受性であった。他は紫外線にのみ感受性であり、*rad-5* は不妊であった。*rad-4* は減数分裂の X 染色体不分離を十分の 1 に減少させた。また低温で発生過程が強く阻害された。*rad-8* は多数の致死性の胚を産んだ。それらの 2 重変異体を作成しそれぞれの遺伝子間の関係が調べられた⁵⁾。*rad-1* と *rad-2* の 2 重変異体および *rad-3* と *rad-7* の 2 重変異体は紫外線に対する高感受性が変化しない。*rad-1* と *rad-2* は γ 線にも感受性が高く、これらの結果は *rad-1* と *rad-2*, および *rad-3* と *rad-7* それぞれで放射線感受性を決める機構を構成していることを示す。紫外線により誘発される DNA 光産物 cyclobutane 2 量体と (6-4) 光産物の生成をラジオイムノアッセイにて測定したところ野生体において全発生過程で修復能が低いままであった⁶⁾。特に *rad-3* 変異体の幼虫ではこの修復能はさらに低かった。*rad-3* は紫外線による DNA 傷害の除去修復能が低下していることを示す。*C. エレガンス* の野生体の胚においては 180 J/m² の紫外線に対して DNA 複製にほとんど影響がみられず、電子顕微鏡による研究では DNA 複製のバブル構造の大きさやバブル構造間の距離は影響を受けない⁷⁾。しかし、

rad-3 変異体では DNA バブル構造の中心-中心間の距離は紫外線により著しく短縮された。*rad-2* では紫外線による染色体異常の誘発が顕著であった。また紫外線を照射したときの *rad-2* の卵の孵化率は紫外線照射により野生体に比べて著しく低下した⁸⁾。一方、DNA クロスリンクを起こす 8-methoxypsoralen と近紫外光に対してこれらの放射線感受性変異体は特に高感受性を示さなかった⁹⁾。野生体も変異体も DNA 複製が活発な若い胚では抵抗性を示し DNA 複製はクロスリンクの影響を強くは受けないようである。

紫外線による誘発突然変異が調べられ、*rad-3* 変異体は紫外線による突然変異率が野生体や他の放射線感受性変異体に比べ高いことがわかった¹⁰⁾。*rad-8* 変異体は高酸素による毒性にも感受性を示す¹¹⁾。methyl viologen や高酸素に感受性を示す突然変異体 *mev-1* (methyl viologen resistance abnormal) が取られた¹²⁾。*mev-1* も紫外線感受性を示した。

¹³⁷Cs (27 Gy/min) を 1 kGy 野生体に照射すると寿命短縮効果がみられた¹³⁾。成虫になるほど抵抗性を示した。100-300 Gy では再現性はないが寿命延長効果がときどき観察された。180 Gy では、いくつかの放射線感受性変異体で寿命の延長がみられ、特に *rad-4* では有意差がみられた。1.8 kGy では、*rad-1* および 3, 4, 5, 6 で寿命の短縮がみられ、特に *rad-3* では有意差がみられた¹³⁾。*mev-1* は野生体に比べ寿命が短かった^{12), 14)}。この寿命は飼育の酸素濃度に依存し、高酸素では著しい寿命の短縮、低酸素では野生体とほぼ同様の寿命を示した¹⁴⁾。*rad-8* も高酸素で寿命の短縮が顕著であったが、温度の依存性がみられ、低温では野生体よりも長寿命を示した¹⁵⁾。このように放射線や酸化的ストレスに対する生体の持つ防御機構が複雑に寿命を決める過程に影響しているようである。

今後、これら放射線感受性変異の原因遺伝子の解明や放射線抵抗性変異体の単離がなされる

であろう。またヒトの遺伝病である、色素性乾皮症など紫外線感受性や早老症に関わる遺伝子や高等な動物での DNA 修復に関する種々の遺伝子の *C. elegans* の相同遺伝子のノックアウトが作られ遺伝子間の相互作用や種々のストレス応答や老化への影響などの研究が進むものと期待される。

Key Words : nematode, *C. elegans*, radiation sensitive mutant, rad

文 献

- 1) Brenner, S. : *Genetics*, **77**, 71-94 (1974)
- 2) Wood, W. B. : The nematode *Caenorhabditis elegans*, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)
- 3) Fire, A., Xu, S. et al. : *Nature*, **391**, 806-811 (1998)
- 4) Hartman, P. S. and Herman, R. K. : *Genetics*, **102**, 159-178 (1982)
- 5) Hartman, P. S. : *ibid.*, **109**, 81-93 (1985)
- 6) Hartman, P. S., Hevelone, J. et al. : *ibid.*, **122**, 379-385 (1989)
- 7) Jones, C. A. and Hartman, P. S. : *Photochem. Photobiol.*, **63**, 187-192 (1996)
- 8) Sadaie, T. and Sadaie, Y. : *Mutat. Res.*, **218**, 25-31 (1989)
- 9) Hartman, P. S. and Marshall, A. : *Photochem. Photobiol.*, **55**, 103-111 (1992)
- 10) Coohill, T., Marshall, T. et al. : *Mutat. Res.*, **209**, 99-106 (1988)
- 11) Ishii, N., Suzuki, N. et al. : *Mech. Age. Devel.*, **68**, 1-10 (1993)
- 12) Ishii, N., Takahashi, K. et al. : *Mutat. Res.*, **237**, 165-171 (1990)
- 13) Johnson, T. E. and Hartman, P. S. : *J. Gerontol.*, **43**, B137-141 (1988)
- 14) Honda, S., Ishii, N. et al. : *ibid.*, **48**, B57-61 (1993)
- 15) Ishii, N., Suzuki, N. et al. : *ibid.*, **49**, B117-120 (1994)

(東京都老人総合研究所アイソトープ部門)