

線虫における新規リガンドに対する化学受容体

分子群の同定と機能解析

課題番号:16300120

平成16年度～平成18年度科学研究費補助金

(基盤研究 (B)) 研究成果報告書



平成19年4月

研究代表者 三谷 昌平

東京女子医科大学医学部助教授



## <はしがき>

生物は、外界の状態を高感度に察知して適切な行動を取ることで自然界の中で生存上有利になる。感覚受容はそのセンサーの性能が生物として可能な行動を規定する訳である。感覚には、視覚、聴覚、味覚、嗅覚、皮膚感覚などが知られているが、その中でも嗅覚は自然刺激の種類が多様であることが特徴である。すなわち、臭い物質はありとあらゆる揮発性の化合物であり得る。このような多様な物質に対して生物がどのように対処しているかについては、現在、多様な化合物に対して種々の特異性を持つ受容体が存在していると考えられている。多様な受容体は、感覚信号を3量体 G 蛋白質を介して細胞内に信号伝達し、感覚細胞内で処理して中枢へ信号を送る。このように、多様な嗅覚情報を処理する機構は、G 蛋白質共役型受容体とその主要な役割を演じると考えられている。

線虫は、ゲノム上におよそ 1,000 個の嗅覚受容体を持つと言われている。線虫は、遺伝子の変異体やトランスジェニック解析が容易であり、嗅覚のメカニズムや、それが個体レベルでどのように処理されているか、さらには、どのような生物学的な意味があるのかを理解する上で、有効なモデル生物である。そこで、我々は、線虫の嗅覚を指標にしてそこに異常を来す変異体を解析することで、嗅覚システムの意義付けや特異性の分子メカニズムの解明を試みてきた。我々は、このような解析を推進するために、線虫の変異体を多数分離する技術の開発を行った (Gengyo-Ando and Mitani, 2000)。また、線虫でのトランスジェニック解析を推進するために、線虫用のレポーターシステムやトランスジェニック株の取得方法の開発も行った (Gengyo-Ando et al., 2006)。このような技術開発の結果、線虫を用いる実験の精度や効率が大幅に上昇したので、当初に予定していた、嗅覚受容体の同定に限定されず、多くの研究を遂行して論文発表を行った (論文コピー参照)。

嗅覚受容異常の変異体 *tm866* は、Ets ファミリー転写因子 C42D8.4 に対するノックアウト変異体として分離されたものであるが、この変異体は、染色体の近傍に別の遺伝子の欠失を持っており、それが

嗅覚受容の異常やその他の異常を呈する原因になっていたことを突き止めた。そこで、本課題では、表現型を呈する原因遺伝子を同定し、それがコードする蛋白質の発現、機能などを解析することで、G 蛋白質共役型受容体の輸送に関わる分子が嗅覚システムに関わるメカニズムにアプローチすることにした。そして、嗅覚受容体など、繊毛に存在する分子群の輸送分子複合体の役割を解明することができたと思われる。

## 研究組織

研究協力者：小林哲夫（東京大学薬学部助手）

研究協力者：安藤恵子（東京女子医科大学医学部助手）

交付決定額（配分額） （金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成16年度	8,500,000	0	8,500,000
平成17年度	1,800,000	0	1,800,000
平成18年度	1,800,000	0	1,800,000
総計	12,100,000	0	12,100,000

## 研究発表

### （1）学会誌

Hanazawa M, Kawasaki I, Kunitomo H, Gengyo-Ando K, Bennett KL, Mitani S & Iino Y: The *C. elegans* eukaryotic initiation factor 5A homologue, IFF-1, is required for germ cell proliferation, gametogenesis and localization of the P-granule component PGL-1. *Mech. Dev.*, **121**, 213-224 (2004)

Izumikawa T, Kitagawa H, Mizuguchi S, Nomura KH, Nomura K, Tamura J, Gengyo-Ando K, Mitani S & Sugahara K: Nematode chondroitin polymerizing factor showing cell/organ-specific expression is indispensable for chondroitin synthesis and embryonic cell division. *J. Biol. Chem.*, **279**, 53755-53761 (2004)

Schumacher B, Schertel C, Wittenburg N, Tuck S, Mitani S, Gartner A, Conradt B & Shaham S: *C. elegans ced-13* can promote apoptosis and is induced in response to DNA damage. *Cell Death and Differentiation*, **12**, 153-161 (2005)

Watanabe N, Nagamatsu Y, Gengyo-Ando K, Mitani S & Ohshima Y: Control of body size by SMA-5, a homolog of MAP kinase BMK1/ERK5 in *C. elegans*. *Development*, **132**, 3175-3184 (2005)

Miyasaka T, Ding Z, Gengyo-Ando K, Oue M, Yamaguchi H, Mitani S & Ihara Y: Progressive neurodegeneration in *C. elegans* model of tauopathy. *Neurobiology of Disease*, **20**, 372-383 (2005)

Kagoshima H, Sawa H, Mitani S, B\_rglin TR, Shigesada K & Kohara Y: A Runx family transcription factor RNT-1/MAB-2 is required for asymmetric cell division in *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.*, **287**, 262-273 (2005)

Kuwahara T, Koyama A, Gengyo-Ando K, Masuda M, Kowa H, Tsunoda M, Mitani S & Iwatsubo T: Familial Parkinson mutant  $\alpha$ -synucleins cause dopamine neuron dysfunction in transgenic *C. elegans*. *J. Biol. Chem.*, **281**, 334-340 (2006)

Duchaine TF, Wohlshlegel JA, Kennedy S, Bei Y, Conte D, Pang K, Brownell DR, Harding S, Mitani S, Ruvkun G, Yates III JR, & Mello CC: Functional proteomics reveals the biochemical niche of *C. elegans* DCR-1

in multiple small-RNA-mediated pathways. *Cell*, **124**, 343-354 (2006)

Dejima K, Seko A, Yamashita K, Gengyo-Ando K, Mitani S, Izumikawa T, Kitagawa H, Sugahara K, Mizuguchi S, & Nomura K: Essential roles of 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate (PAPS) synthase in embryonic and larval development of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J. Biol. Chem.*, **281**, 11431-11440 (2006)

Gengyo-Ando K, Yoshina S, Inoue H & Mitani S: An efficient transgenic system by TA cloning vectors and RNAi for *C. elegans*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **349**, 1345-1350 (2006)

Kuroyanagi H, Kobayashi T, Mitani S & Hagiwara M: Transgenic alternative-splicing reporters reveal tissue-specific expression profiles and regulation mechanisms *in vivo*. *Nature Methods*, **3**, 909-915 (2006)

Yigit E, Batista P, Pang KM, Bei Y, Chen CG, Joshua-Tor NL, Mitani S, Simard M, Mello CC: Analysis of the *C. elegans* Argonaute family reveals that distinct Argonautes act sequentially during RNAi. *Cell*, **127**, 747-757 (2006).

Kawano T, Nagatomo R, Kimura Y, Gengyo-Ando K, Mitani S: Disruption of ins-11, one of the *Caenorhabditis elegans* insulin-like genes and phenotypic analyses of the gene-disrupted animal. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 3084-3087 (2006)

Gengyo-Ando K, Kuroyanagi H, Kobayashi T, Murate M, Fujimoto K, Okabe S & Mitani S: The SM protein VPS-45 is required for RAB-5-dependent endocytic transport in *C. elegans*. *EMBO Reports*, **8**, 152-157 (2007)

Kawasaki I, Hanazawa M, Gengyo-Ando K, Mitani S, Maruyama I & Iino

Y: ASB-1, a germline-specific isoform of mitochondrial ATP synthase b subunit, is required to maintain the rate of germline development in *Caenorhabditis elegans*. *Mech. Dev.*, **124**, 237-251 (2007)

Kitagawa H, Izumikawa T, Mizuguchi S, Egusa N, Taniguchi F, Gengyo-Ando K, Mitani S, Nomura K, Sugahara K: Expression of rib-1, a *Caenorhabditis elegans* Homolog of the Human Tumor Suppressor EXT Genes is indispensable for heparan sulfate synthesis and embryonic morphogenesis. *J. Biol. Chem.*, **282**, 8533-8544 (2007)

Kobayashi T, Gengyo-Ando K, Ishihara T, Katsura I & Mitani S: IFT-81 and IFT-74 are required for intraflagellar transport in *C. elegans*. *Genes to Cells*, in press (2007)

## (2) 口頭発表

安藤恵子、町山悦子、野口幸子、三谷昌平：線虫 Sec1/Munc-18 ファミリー遺伝子 Ce-vps45 の機能解析、第 81 回日本生理学会大会、2004 年 6 月、札幌

Watanabe N, Nagamatsu Y, Gengyo-Ando K, Mitani S, Ohshima Y: Control of body size by SMA-5, a homolog of MAP kinase BMK1/ERK5, in *C. elegans*. East Asia *C. elegans* Meeting. 2004 年 6 月、淡路島

Gengyo-Ando K, Kobayashi T, Seyama Y, Mitani S: Functional analysis of the *C. elegans* Sec1/Munc-18 family gene, Ce-vps45, involved in endocytosis. East Asia *C. elegans* Meeting. 2004 年 6 月、淡路島

Kobayashi T, Gengyo-Ando K, Ishihara T, Katsura K, Mitani S: analysis of the ETS family transcription factor C42D8.4 in *C. elegans*. East Asia *C. elegans* Meeting. 2004年6月、淡路島

Nomura K, Mizuguchi S, Nomura KH, Dejima K, Gengyo-Ando K, Kobayashi T, Mitani S, Kitagawa H: In search for new functions of glycoconjugates-related genes by gene knock-out. East Asia *C. elegans* Meeting. 2004年6月、淡路島

Yoshina S, Gengyo-Ando K, Mitani S, Iino Y, Inoue H, Takahashi K: Dipeptidyl peptidase IV-like protease family is essential for control of distal tip cell migration. East Asia *C. elegans* Meeting. 2004年6月、淡路島

Kuwahara T, Koyama A, Gengyo-Ando K, Mitani S, Iwatsubo T: Dopamine neuron dysfunction in transgenic *C. elegans* expressing human  $\alpha$ -synuclein: a model for familial Parkinson's disease. East Asia *C. elegans* Meeting. 2004年6月、淡路島

Kawano T, Kataoka N, Tanaka I, Kimura Y, Honda S, Gengyo-Ando K, Mitani S: Gene-disruptions of *C. elegans* insulin-like genes *Ceinsulin-1* and *\_2*. East Asia *C. elegans* Meeting. 2004年6月、淡路島

Kagoshima H, Kajiwara J, Sawa H, Mitani S, Burglin TR, Shigesada K, Kohara Y: RNT-1/MAB-2, a key regulator of asymmetric cell division of the T cell. East Asia *C. elegans* Meeting. 2004年6月、淡路島

Kagoshima H, Iino Y, Ishihara T, Kuroyanagi H, Mitani S, Yamazaki Y: A *C. elegans* promoter/marker database. East Asia *C. elegans* Meeting. 2004年6月、淡路島

Yigit E, Simard M, Pang KM, Vo NK, Tsai S-C, Mitani S, Mello CC : The Function of rde-1 homologs in *C. elegans*. East Coast Worm Meeting 2004 年6月、Connecticut.

安藤恵子、町山悦子、野口幸子、三谷昌平：メンブレントラフィックに関わる線虫 Sec1/Munc-18 ファミリー遺伝子 Ce-vps45 の機能解析. 第27回日本神経科学大会、2004年9月、大阪

丁震、宮坂知宏、安藤恵子、三谷昌平、井原康夫：タウオパチーの線虫モデル. 第27回神経科学大会、2004年9月、大阪

小林哲夫、安藤恵子、石原健、桂勲、三谷昌平：Analysis of the ETS family transcription factor C42D8.4 in *C. elegans*. 第27回分子生物学会年会. 2004年12月、神戸

片岡直也、田中郁子、木村靖夫、河野強、安藤恵子、三谷昌平：インスリン様遺伝子破壊線虫の解析. 第27回分子生物学会年会. 2004年12月、神戸

水口惣平、野村和子、出嶋克史、安藤恵子、三谷昌平、川崎ナナ、金井好克、瀬古玲、北川裕之、菅原一幸、野村一也：細胞分裂と形態形成を支配する糖鎖-モデル生物 *Caenorhabditis elegans* を用いた機能解析. 第27回分子生物学会年会. 2004年12月、神戸

泉川友美、北川裕之、水口惣平、野村和子、野村一也、田村順一、安藤恵子、三谷昌平、菅原一幸：Nematode chondroitin polymerizing factor showing cell/organ-specific expression indispensable for chondroitin synthesis and embryonic cell division. 第27回分子生物学会年会. 2004年12月、神戸

栗田美緒、福原武志、黒柳秀人、三谷昌平、萩原正敏：線虫 SPK-1



の機能解析. 第 27 回分子生物学会年会. 2004 年 12 月、神戸

吉名佐和子、安藤恵子、三谷昌平、飯野雄一、井上英史、高橋健治：  
Dipeptidyl peptidase IV-like proteases are essential for control  
of distal tip cell migration in *C. elegans*. 第 27 回分子生物学会  
年会. 2004 年 12 月、神戸

野村和子、水口惣平、安藤恵子、三谷昌平、平林義雄、松石紫、川  
崎ナナ、出嶋克史、野村一也：二次元電気泳動を用いた線虫 Acetyl  
CoA トランスポーターの解析. 第 27 回分子生物学会年会. 2004 年 12  
月、神戸

出嶋克史、野村和子、水口惣平、安藤恵子、三谷昌平、瀬古玲、山  
下克子、平林義雄、野村一也：線虫 *Caenorhabditis elegans* を用  
いた複合糖質硫酸化修飾に関連した遺伝子の解析. 第 27 回分子生物  
学会年会. 2004 年 12 月、神戸

Duchane T, Kennedy S, Wohlschlegel J, Bei Y, Pang K-M, Brownell  
D, Mitani S, Yates Y III, Ruvkun G, Mello CC: DCR-1 proteomics  
identifies new RNAi-silencing factors and provides evidence for  
competition between small-RNA-mediated pathways in *C. elegans*.  
15th International *C. elegans* meeting. 2005 年 6 月 Los Angeles.

Kobayashi T, Gengyo-Ando K, Ishihara T, Katsura I, Mitani S:  
Isolation and characterization of an unusual tracking mutant.  
15th International *C. elegans* meeting. 2005 年 6 月 Los Angeles.

Pang K-M, Yigit E, Duchaine T, Claycomb J, Mitani S, Mello C:  
RNAi genes regulate kinetochore assembly in *C. elegans* embryos.  
15th International *C. elegans* meeting. 2005 年 6 月 Los Angeles.

Yigit E, Lim A, Simard M, Mitani S, Mello C: RDE-1 homologs

(Argonautes) have multiple functions in RNAi and development in *C. elegans*. 15th International *C. elegans* meeting. 2005年6月 Los Angeles.

Kawano T, Tanaka I, Kataoka N, Kimura Y, Ishiguro M, Gengyo-Ando K, Mitani S: Gene-disruptions and physiological functions of *C. elegans* insulin-like genes *Ceinsulin-1* and *-2*. 15th International *C. elegans* meeting. 2005年6月 Los Angeles.

Gengyo-Ando K, Kobayashi T, Seyama Y, Mitani S: Functional analysis of the *C. elegans* SM gene *vps-45* and its cognate syntaxins. 15th International *C. elegans* meeting. 2005年6月 Los Angeles.

Yoshina S, Gengyo-Ando K, Mitani S, Iino Y, Inoue H, Takahashi K: Dipeptidyl Peptidase IV-like Protease Family is Essential for Control of Distal Tip Cell Migration in *C. elegans*. 15th International *C. elegans* meeting. 2005年6月 Los Angeles.

Kagoshima H, Kajiwara J, Mitani S, Kohara Y: *BRO-1*, an interaction partner of *RNT-1*. 15th International *C. elegans* meeting. 2005年6月 Los Angeles.

Kawasaki I, Hanazawa M, Gengyo-Ando K, Mitani S, Iino Y: *ASB-1*, a germline-specific isoform of ATP synthase b subunit, functions as a booster of *C. elegans* germline development. 15th International *C. elegans* meeting. 2005年6月 Los Angeles.

吉名佐和子、安藤恵子、三谷昌平、飯野雄一、柳茂、高橋健治、井上英史：*C. elegans* の Distal Tip Cell の移動に関するプロテアーゼ群 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

平田拓、Nimitvilai Sudarat、Babu Ellappan、野村一也、三谷昌平、安藤恵子、安西尚彦、金井好克：塩基性アミノ酸トランスポーターの線虫オルソログの同定とその機能解析 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

小林哲夫、安藤恵子、石原健、桂勲、三谷昌平：線虫におけるGタンパク質制御因子AGS-3の機能解析 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

野村和子、水口惣平、出嶋克史、永石貴之、安藤恵子、三谷昌平、平林義雄、松石ゆかり、橋井則貴、川崎ナナ、野村一也：C. elegansを用いた糖鎖の網羅的機能解析二次元電気泳動(2D-DIGE)によるアセチル化の定量的解析 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

永石貴之、野村和子、水口惣平、出嶋克史、安藤恵子、三谷昌平、平林義雄、松石ゆかり、橋井則貴、川崎ナナ、野村一也：C. elegansの糖鎖付加タンパク質の決定 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

水口惣平、野村和子、出嶋克史、永石貴之、三谷昌平、安藤恵子、川崎ナナ、松石ゆかり、橋井則貴、瀬古玲、山下克子、泉川友美、北川裕之、菅原一幸、平林義雄、権娟大、成松久、野村一也：遺伝子破壊による糖鎖機能の戦略的解明—線虫C. elegansを用いた解析の中間報告 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

永友亮介、大谷真梨、木村靖夫、河野強、玄行—安藤恵子、三谷昌平：線虫のインスリン様遺伝子多重破壊の効果 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

間瀬慶子、小野寺章、築瀬澄乃、安藤恵子、三谷昌平、大島靖美、桂勲、石井直明、石原健、古賀誠人：線虫C. elegansにおける高

浸透圧ストレスや酸化ストレスに対する応答にクチクラ層の構成成分 OSM-7 が関与する 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

安藤恵子、小林哲夫、瀬山陽一、三谷昌平：線虫 vps-45 および相互作用する syntaxin 遺伝子の逆遺伝学的解析 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

川崎一郎、花澤桃世、安藤恵子、三谷昌平、飯野雄一：ミトコンドリア ATP 合成酵素 b サブユニットの生殖系列特異的なアイソフォーム ASB-1 は線虫 *C. elegans* の生殖系列の発生速度を規定する 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

出嶋克史、野村和子、水口惣平、安藤恵子、三谷昌平、瀬古玲、山下克子、平林義雄、野村一也：線虫 *C. elegans* を用いた複合糖質硫酸化修飾に関連した遺伝子の解析 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

Hiroshi Kagoshima, Junko Kajiwara, Shohei Mitani, Yuji Kohara : Functional analysis of *rnt-1* and *bro-1* in *C. elegans* 第28回日本分子生物学会、2005年12月、福岡

安藤恵子、小林哲夫、三谷昌平：線虫 SM ファミリー遺伝子 vps-45 のエンドサイトーシスにおける生理的役割 第83回日本生理学会大会、2006年3月、群馬

Rieko Imae, Takao Inoue, Naoko Hara, Yasukazu Takanezawa, Keiko Gengyo-Ando, Shohei Mitani and Hiroyuki Arai: *Acl-10*, an evolutionarily conserved acyltransferase, regulates muscle contraction in *C. elegans*, IUBMB Jul, 2006, Kyoto

Keiko MASE, Akira ONODERA, Sumino YANASE, Keiko GENGYO-ANDO,

Shohei MITANI, Yasumi OHSIMA, Isao KATSURA, Naoaki ISHII, Takeshi ISHIHARA, Makoto KOGA: A cuticle component OSM-7 regulates responses to osmotic stress and oxidative stress in *C. elegans*, IUBMB Jul, 2006, Kyoto

Sawako Yoshina, Keiko Gengyo-Ando, Yuichi Iino, Shohei Mitani, Hideshi Inoue: The Unfolded Protein Response related to protease. East Asian *C. elegans* Meeting, 2006 Nov, Soeul

Keiko Gengyo-Ando and Shohei Mitani: Physiological roles of the Hermansky-Pudlak Syndrome gene, VPS33A ortholog, in the endosomal/lysosomal system of *C. elegans*. East Asian *C. elegans* Meeting, 2006 Nov, Soeul

Naoko Hara, Takao Inoue, Keiko Gengyo-Ando, Shohei Mitani and Hiroyuki Arai: Disruption of *acl-4*, an evolutionarily conserved acyltransferase-like gene, causes synergistic movement defects under polyunsaturated fatty acids depleted condition in *C. elegans*. East Asian *C. elegans* Meeting, 2006 Nov, Soeul

Tsuyoshi Kawano, Ryosuke Nagatomo, Yasuo Kimura, Keiko Gengyo-Ando, Shohei Mitani: Functional redundancy of *C. elegans* insulin-like genes in the larval diapause and adult lifespan. East Asian *C. elegans* Meeting, 2006 Nov, Soeul

久本直毅, 漆山誠一, 森口徹生, 伊藤健太郎, 三谷昌平, 澁谷浩司, 松本邦弘: 線虫 WNK、SPAK および CLC チャネルによる水分排出器官の形態制御 第29回日本分子生物学会、2006年12月、名古屋

今江 理恵子、井上 貴雄、原 直子、安藤 恵子、三谷 昌平、新井 洋由: 線虫 *C. elegans* を用いた新規アシルトランスフェラーゼ様遺伝子 *acl-10* の機能解析. 第29回日本分子生物学会、2006年12

月、名古屋

Takahiro Kanamori, Takao Inoue, Keiko Gengyo-Ando, Taro Sakamoto, Yasuhito Nakagawa, Masafumi Tsujimoto, Shohei Mitani, Junken Aoki, Hiroyuki Arai: Intracellular Phospholipase A1 is Essential for Terminal Asymmetric Cell Division of Stem Cell-like Epithelia in *C. elegans*. 第29回日本分子生物学会、2006年12月、名古屋

### (3) 出版物

三谷昌平: 線虫ゲノム、榊佳之・油谷浩幸・笹月健彦編 *Molecular Medicine* 41 巻増刊号「ヒトゲノム ヒトの理解と疾病の克服」 pp165-171 (2004).

三谷昌平: 線虫、辻本豪三・田中利男編、実験医学別冊「ゲノム機能研究ハンドブック」 pp213-218 (2004).

水口惣平、野村和子、出嶋克史、安藤恵子、三谷昌平、宇山徹、北川裕之、菅原一幸、野村一也: 線虫の細胞分裂を制御する糖鎖コンドロイチン、蛋白質核酸酵素 49, 141-147 (2004).

研究成果による工業所有権の出願・取得状況

該当せず

## 研究成果

繊毛は多くの組織に存在し、様々な役割を演じている。繊毛の機能異常が疾患発症に関わっている例も多数知られるようになってきた。繊毛が正しく機能するためには、細胞体から繊毛の先端まで機能分子を運搬することが必要である。その機能を担うのは、Intraflagellar Transport (IFT)分子群であることが知られている。すなわち、IFT が受容体やイオンチャネルを運搬するのである。IFT 分子群の機能を知るために、その局在や相互作用様式、機能低下時の表現型を知ることが重要である。線虫 *C. elegans* はこのような実験を行う上で有用な生物である。我々は線虫をモデル生物として、そのノックアウト変異体およびトランスジェニック株を用いた解析の技術を開発し、遺伝子構造からこのような情報を速やかに取得することができるような実験システムを構築している。本研究では、このような技術を駆使し、線虫の IFT 分子のうち、IFT-81 と IFT-74 に着目してその発現と機能の解析を行った。

### 線虫ゲノム上の ift-81 遺伝子の同定と変異体の表現型

*C. reinhardtii* で知られている ift-81 遺伝子の塩基配列と相同性の高い分子を線虫ゲノム配列データベースより検索したところ、F32A6.2 遺伝子のアミノ末端部分に相同性が見出された。さらに、線虫ゲノムのアノテーションには記載されていなかったが、F32A6.2 遺伝子の隣に存在している遺伝子 F32A6.1 が *C. reinhardtii* の ift-81 のカルボキシル末端に相同性があることが見出された。この2つの ORF は、F32A6.2 の 5'末端と F32A6.1 の 3'末端のプライマーで繋がったものとして増幅されたので、線虫遺伝子としては、従来のアノテーションは間違っただけとされていた遺伝子が1個の ift-81 遺伝子をコードしていると考えられる。

線虫の ift-81 遺伝子の機能を調べる目的で、F32A6.2 と F32A6.1 の欠失変異体の分離を行った (tm2355, tm2356, tm2389)。いずれの変異体も、ホモ接合体として生存可能であり、大きな形態学的な変

化は認められなかった。しかし、これらの変異体をより詳細に調べてみると、躯の大きさが野生型に比べて小さいことが分かった。また、餌を塗布した培養シャーレの上で一晩飼育した時の移動領域を調べてみると、野生型個体の場合は、ほぼ全面にわたって移動の跡がついているのに対して、ift-81 変異体個体は、ごく限られた領域にのみ移動の跡が着いており、あまり移動しないのではないかと想像された。これは、ift-81 変異体個体の動きそのものが障害されたためではないことが、バッファー内での泳ぎの速度から確認された。

#### IFT-81/Venus 融合蛋白質は感覚繊毛で発現している

IFT-81 蛋白質がどこで発現しているかを調べるために、ift-81::venus 融合遺伝子を作成し、線虫個体に  $\mu$  インジェクションすることで、トランスジェニック株を作出した。このような個体では、Venus の蛍光像が得られると同時に、変異体の表現型を野生型に復帰することが分かった。蛍光の局在は、amphid および phasmid と呼ばれる神経細胞で検出され、強拡大で観察すると、繊毛部に蛍光が認められた。さらに、このようなニューロンで発現していることが知られている osm-6::DsRed 融合遺伝子の発現とのオーバーラップも確認された。

#### 感覚受容が異常になる他の変異体の表現型

従来より、感覚受容に異常がある変異体の中に動き範囲が小さいとか、躯が小さいという表現型を呈するものが知られている。そこで、まだこのような表現型が報告されていない他の ift 複合体蛋白質をコードする遺伝子の変異体で同様の表現型解析を行った。その結果、確かに、osm-1、osm-5、osm-6、che-2、che-13 変異体などで同様の、動きの範囲および躯の大きさの異常が観察された。

#### IFT-74 は IFT-81 と相互作用をする同一複合体の蛋白質である

Chlamydomonas の IFT-81 は IFT-74 と相互作用し、同一のサブ複合体 B の中に存在することが知られている。我々は、線虫ゲノム上での相同遺伝子を検索したところ、C18H9.8 が見つかったので、これ



を線虫 *ift-74* 遺伝子と命名した。線虫の IFT-74 蛋白質が IFT-81 蛋白質と相互作用するかどうかを検定するために、酵母ツーハイブリッド法を用いた。IFT-74 と IFT-81 は結合し、 $\beta$ ガラクトシダーゼ活性が検出された。IFT-74 蛋白質の発現を調べるために、*ift-74::venus* 融合遺伝子を *ift-81::DsRed* 融合遺伝子と二重トランスジェニック株を作出した。緑と赤の蛍光シグナルを重ね合わせると、両者とも、繊毛の部分で検出された。

*ift-74* 遺伝子の機能を調べるために、欠失変異体の分離を行い 2 種類の株を得た (tm2394、tm2397)。これらの変異体はいずれも移動範囲の異常を呈し、かつ軀が小さかった。*ift-74::venus* トランスジェニック株では、*ift-74* 変異体のこのような表現型が野生型に復帰することが確認され、*ift-74* の機能低下によることが結論された。

*ift-81* と *ift-74* 変異体では、化学走性が異常であるが、繊毛の形成そのものの異常は軽度である

多くの線虫の IFT サブ複合体 B に属する蛋白質の変異体では、繊毛の形成異常があることが知られている。そこで、*ift-81* と *ift-74* 変異体の揮発性化合物に対する走化性を検証した。いずれの変異体も、diacetyl と isoamyl alcohol に対する走化性が低下していることが分かった。しかしながら、多くの IFT 蛋白質の変異体と異なり、DiI の感覚ニューロンへの取り込みはほぼ正常であった。

*ift-81* と *ift-74* 変異体では IFT に異常がある

OSM-9 という繊毛の先端に運ばれる受容体チャネルは IFT に依存して運搬されることが知られている。そこで、OSM-9/Venus 融合蛋白質を感覚ニューロンで発現させて *ift-81* と *ift-74* の機能を検証した。野生型個体では、繊毛に充填されている OSM-9/Venus の蛍光が、これらの変異体のバックグラウンドでは、繊毛の基部に貯留しており、これらの蛋白質は、OSM-9 の輸送に必要であることが明らかになった。

考察

我々は、線虫ゲノム上に *ift-81* と *ift-74* 遺伝子を配列解析で見出し、それらの発現パターンと機能を調べた。これらは、*Chlamydomonas* と同様に、IFT 機能に関わっていることが明らかになった。線虫で知られている他の IFT 複合体構成蛋白質に比べて、繊毛の形態形成については、より軽い表現型しか呈さなかったが、軀の大きさや移動の範囲などの表現型のようにほぼ同様になるものもあった。OSM-9 受容体チャネルの輸送が異常であったことから、IFT-81 と IFT-74 は感覚ニューロンにおける受容体の繊毛への輸送などに関わっている可能性がある。それが、化学走性などの異常を呈したことも良く合致し、生物の嗅覚における一般的なメカニズムである可能性が示唆される。