

# 線虫 *C. elegans* の遺伝的サプレッサー 解析による制御カスケードの解明

関西学院大学 理工学部 生命科学科  
教授 西脇 清二

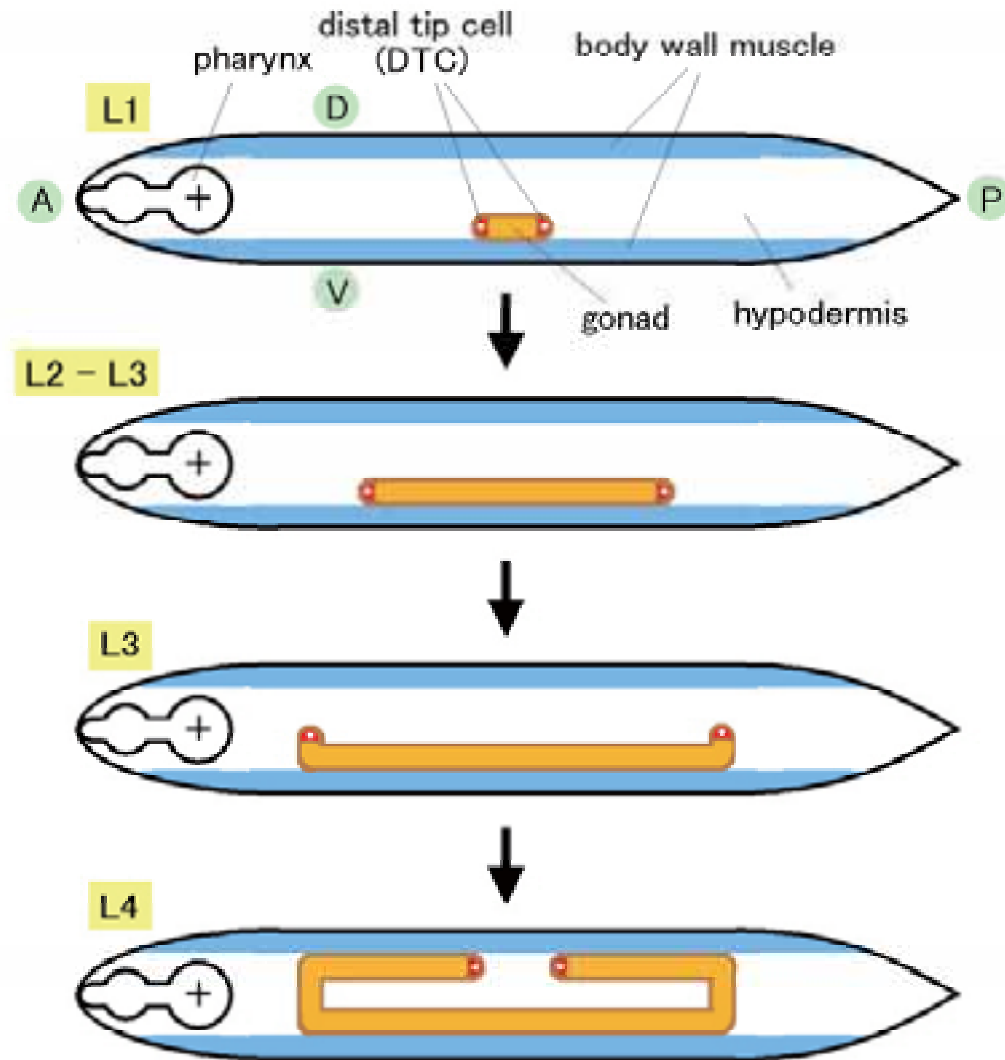
# 研究背景

動物の発生や疾患にどのような遺伝子の制御が関係しているのかを知ることは、基礎科学の進歩とともに、人為的な発生のコントロールや疾患の予防、治療にも重要である。我々はモデル動物である線虫 *C. elegans* を用いて、遺伝学的手法により、遺伝子の制御カスケードの解明を行っている。

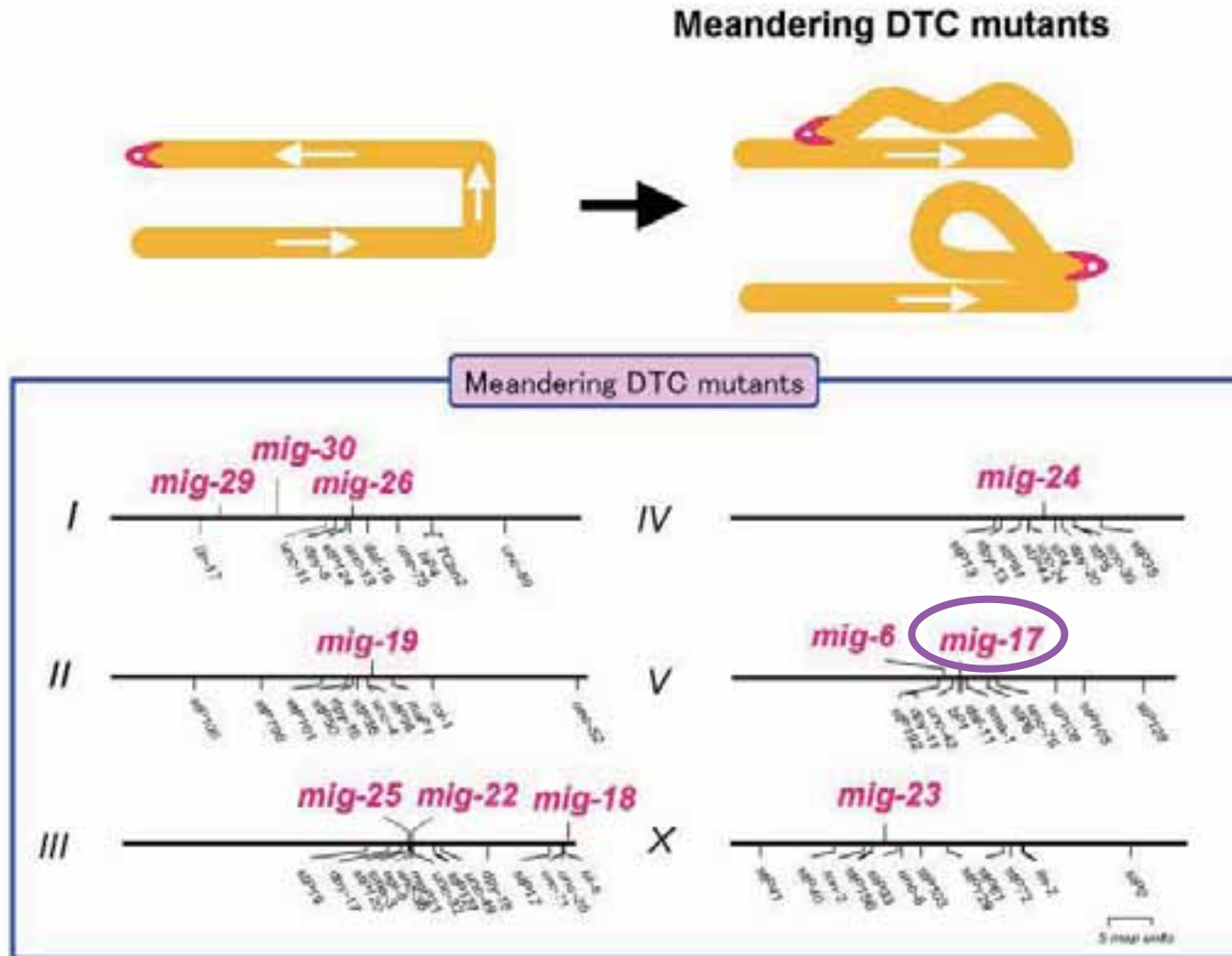
# 新技術の基となる研究成果・技術

我々は*C. elegans*の生殖巣形態形成を調節するリーダー細胞であるdistal tip cell (DTC)の移動方向制御の機構を研究している。この中でDTC移動異常変異体*mig-17*の原因遺伝子が、生殖巣基底膜に局在するADAMTS familyマトリックスメタロプロテアーゼをコードすることを見いだした。ADAMTSは近年、結合組織の変性をきたす遺伝病の原因遺伝子として注目されている。

# *C. elegans*の生殖巣形成

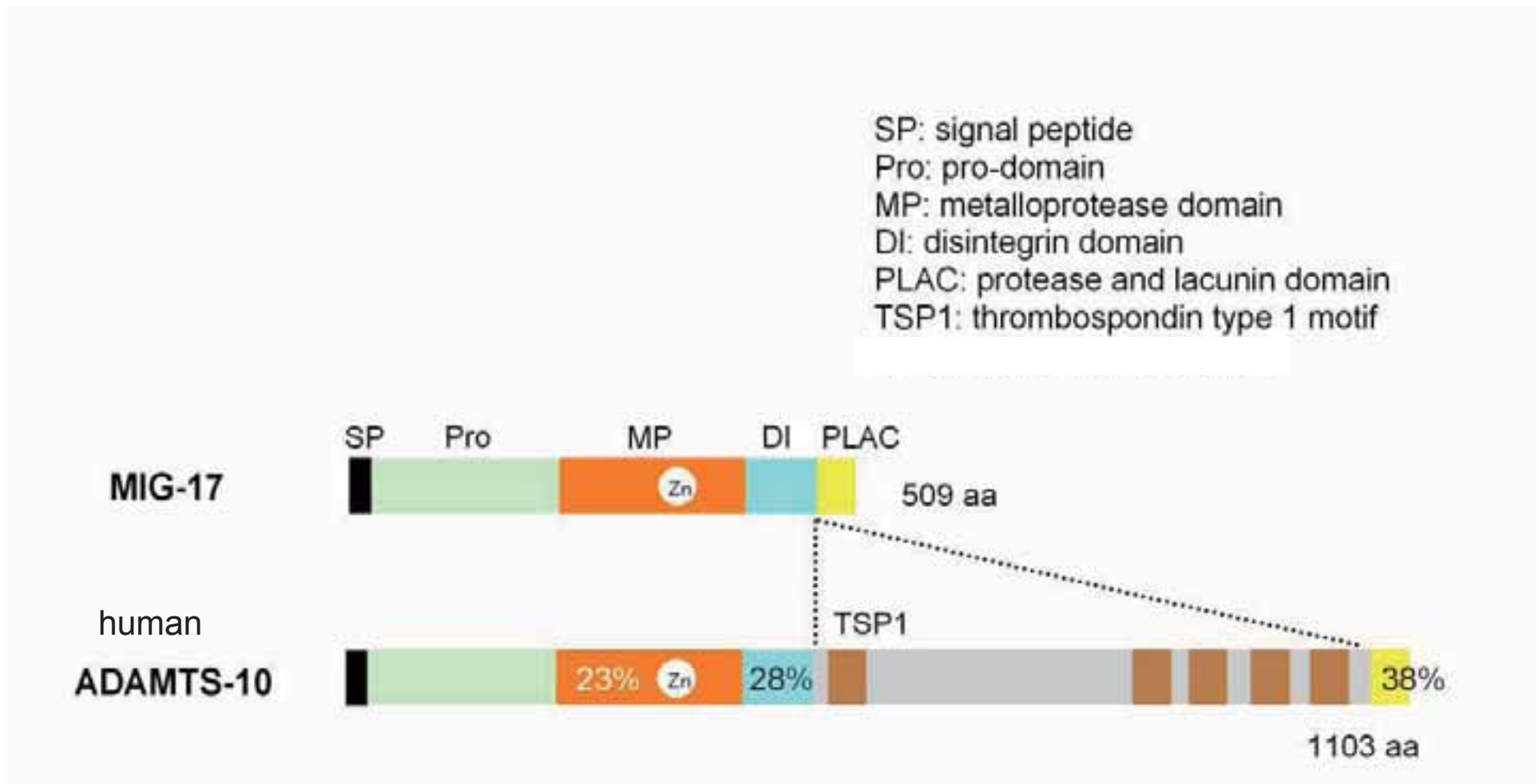


# DTC移動異常変異体



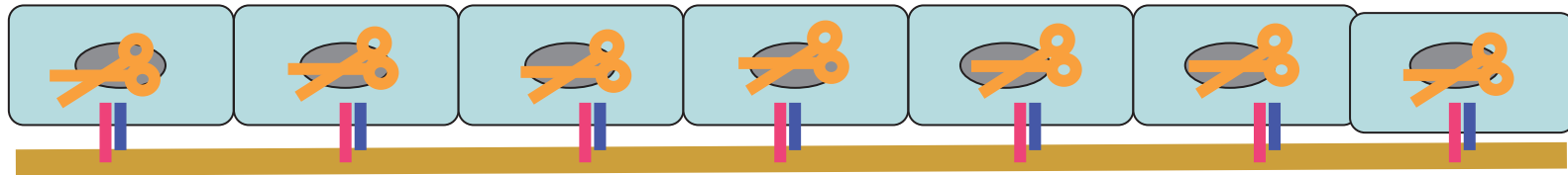
*Nishiwaki, 1999, Genetics*

# MIG-17タンパク質はADAMTS familyメタロプロテアーゼである




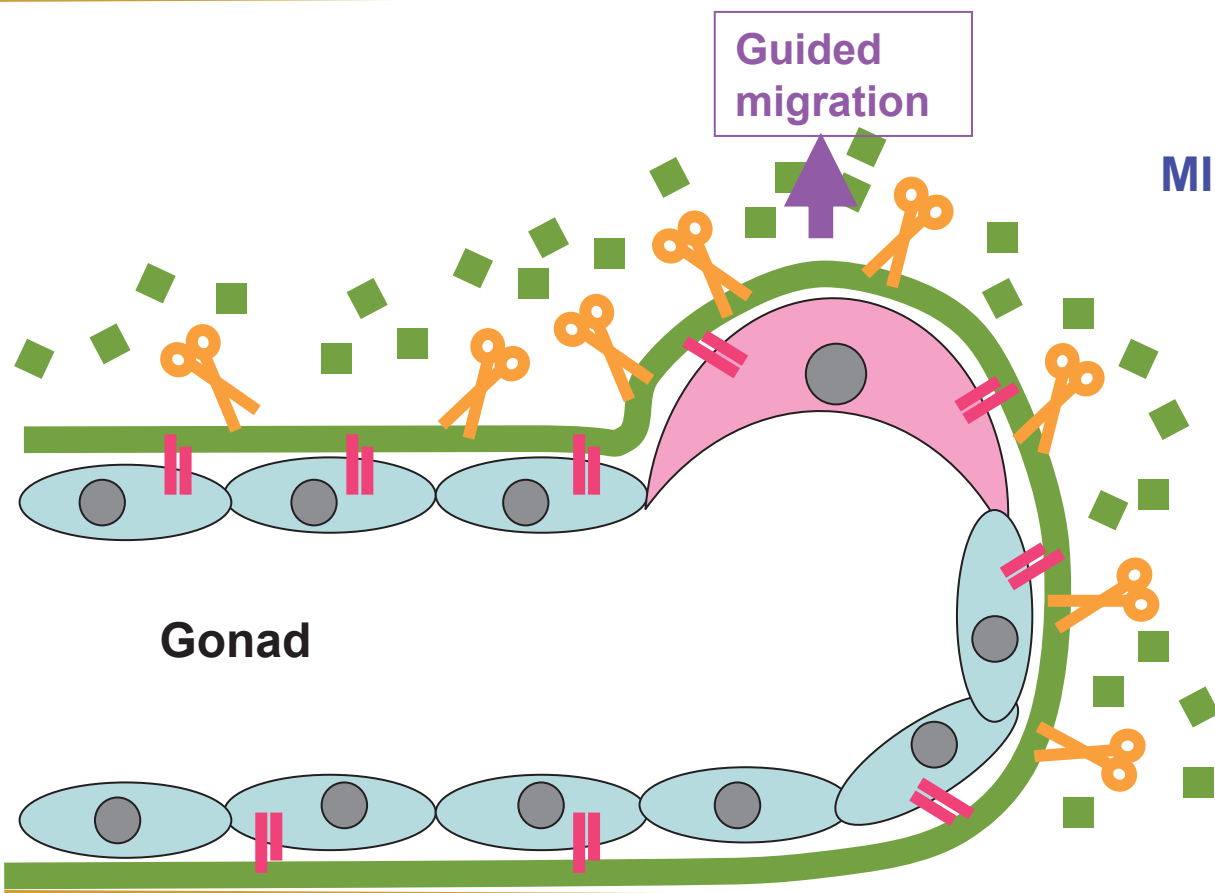
*Nishiwaki et al., 2000, Science*

# Dorsal body wall muscle



Guided migration

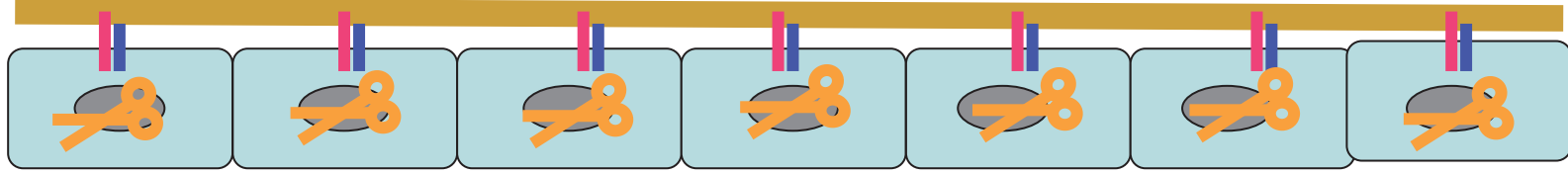
MIG-17 = 



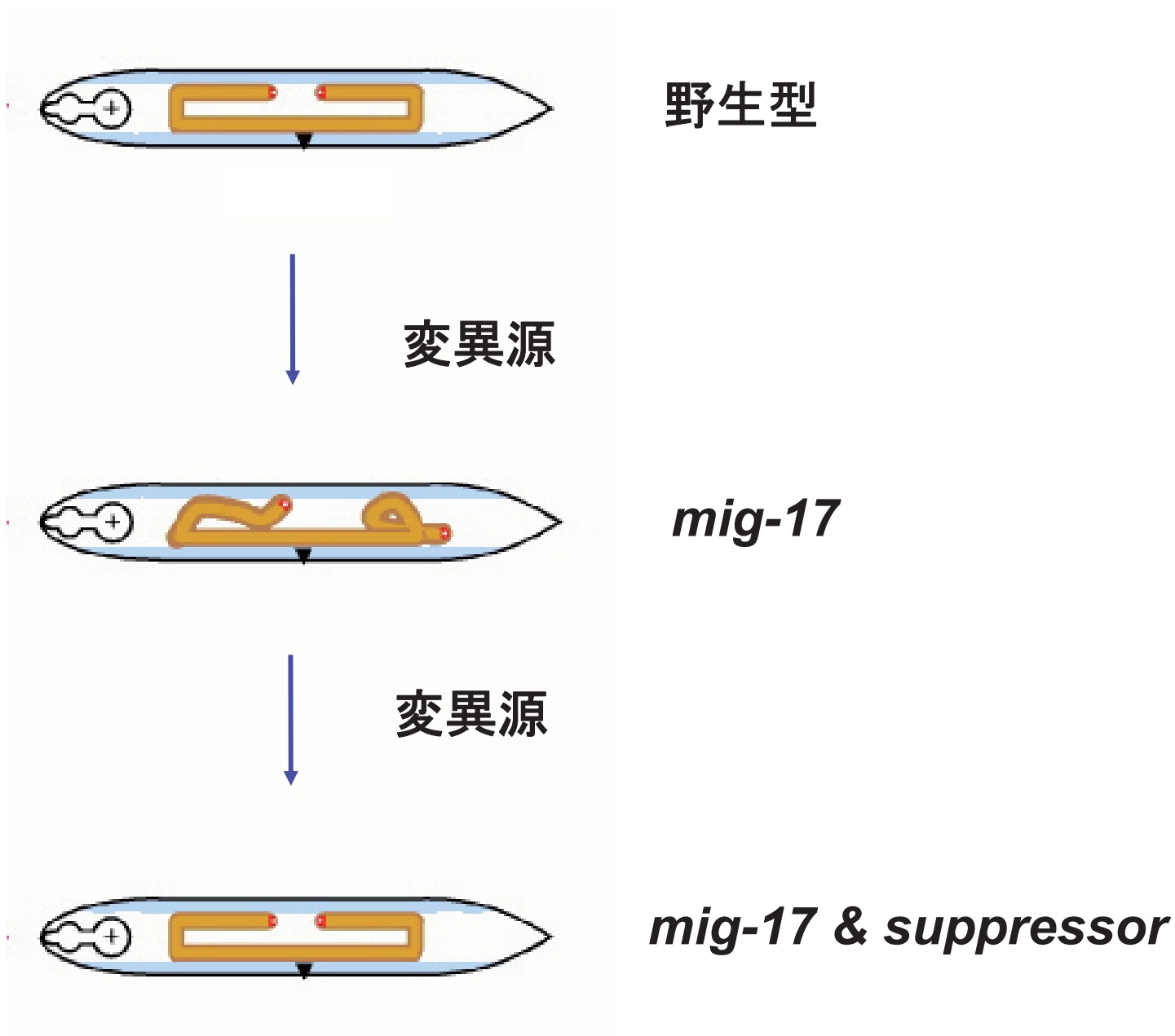
MIG-17は体壁筋から分泌されて、基底膜に局在し、DTCの移動方向を制御する。

Gonad

# Ventral body wall muscle

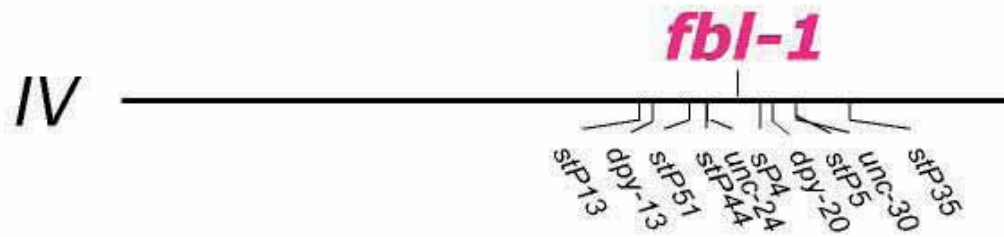


# 相互作用遺伝子の同定を目的として遺伝学的サプレッサーを分離

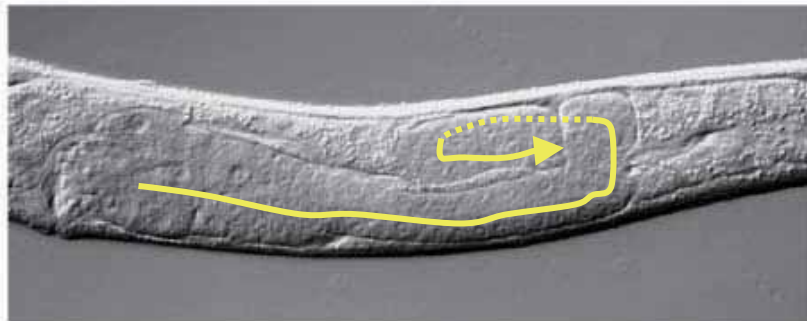




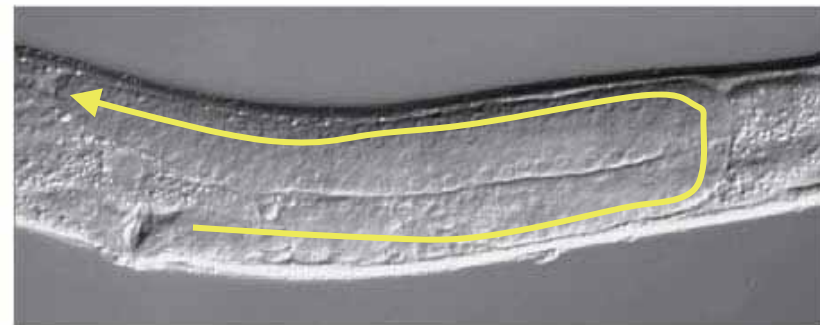
サプレッサー変異 *fbl-1(k201)* と *fbl-1(k206)* は *fbl-1* 遺伝子の機能獲得型変異であった



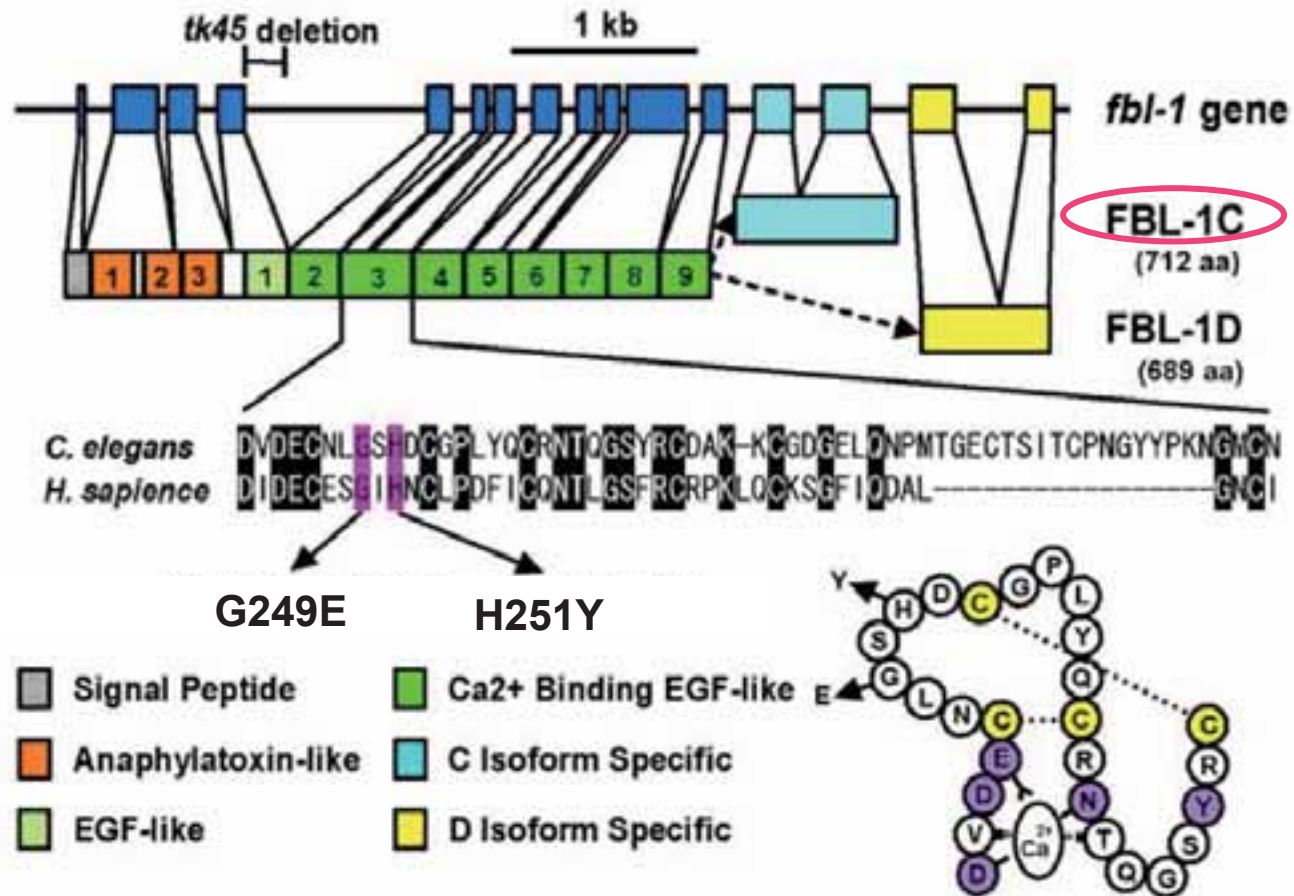
*mig-17(k174)*



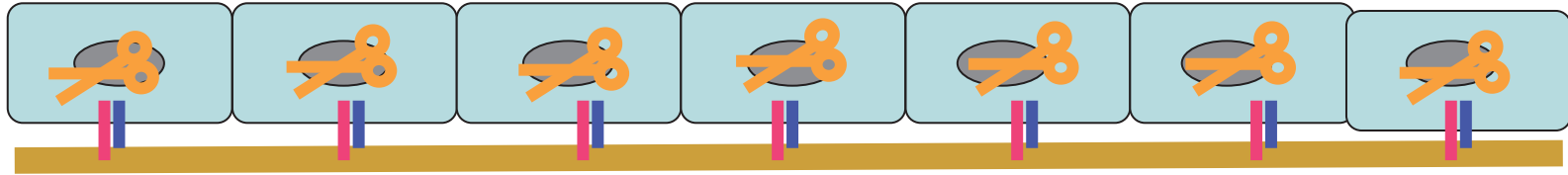
*mig-17(k174); fbl-1(k201)*




*fbl-1*遺伝子をクローニングしたところ、進化的に保存された基底膜タンパク質fibulin-1のホモログをコードしていた。遺伝学的解析の結果、スプライシングバリエーションであるFBL-1Cのアミノ酸置換が、サプレッションに重要であることが分かった。



# Dorsal body wall muscle

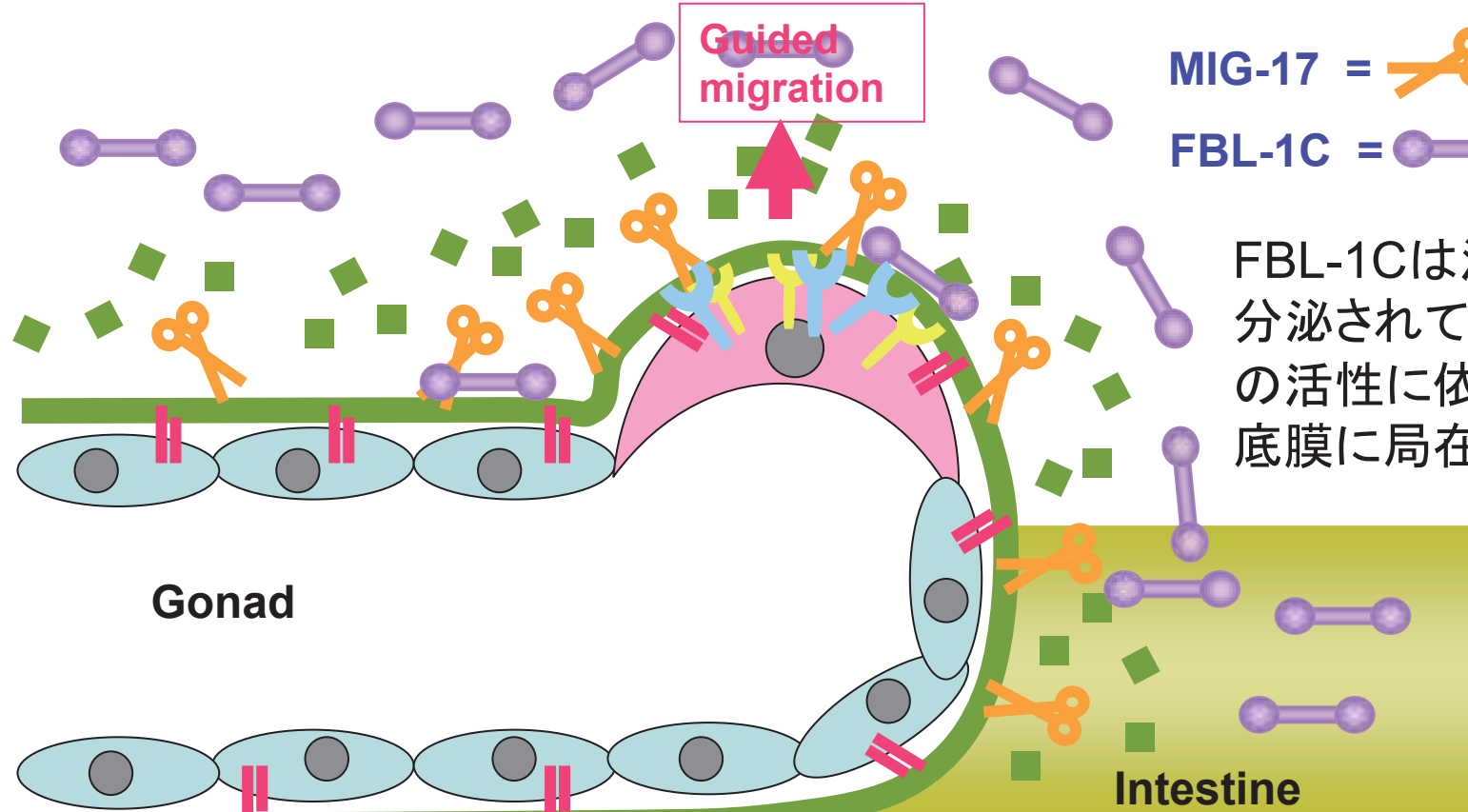


Guided migration

MIG-17 = 

FBL-1C = 

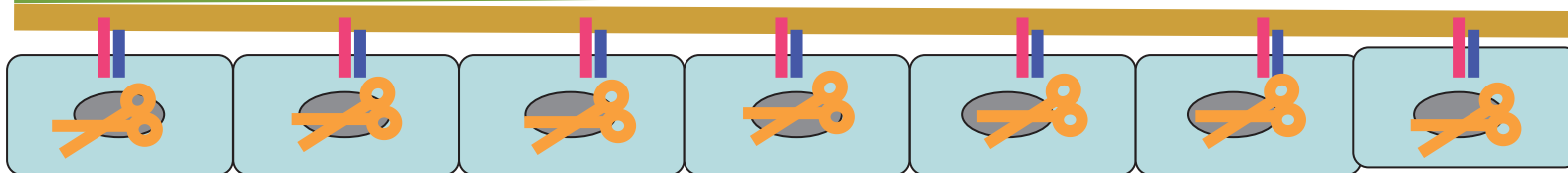
FBL-1Cは消化管から分泌されて、MIG-17の活性に依存して、基底膜に局在する。



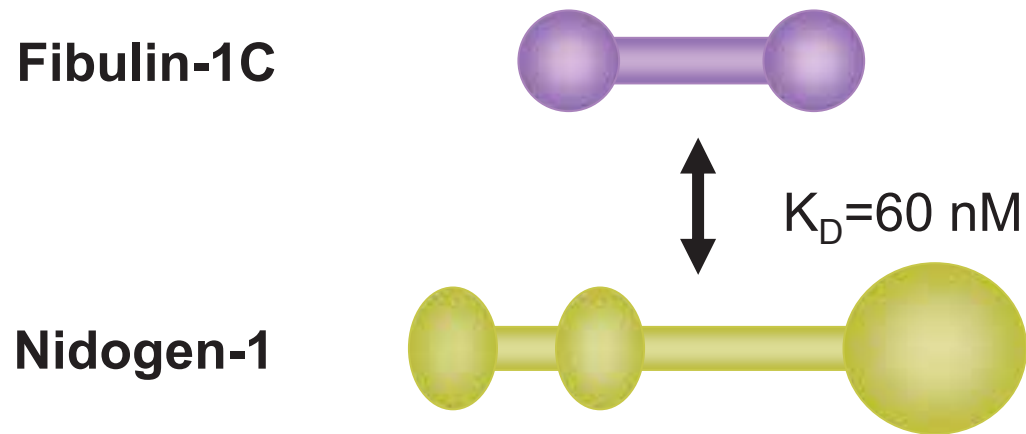
Gonad

Intestine

# Ventral body wall muscle



哺乳類ではfibulin-1Cは基底膜タンパク質nidogenに特異的に結合することが、in vitroの研究から分かっている。

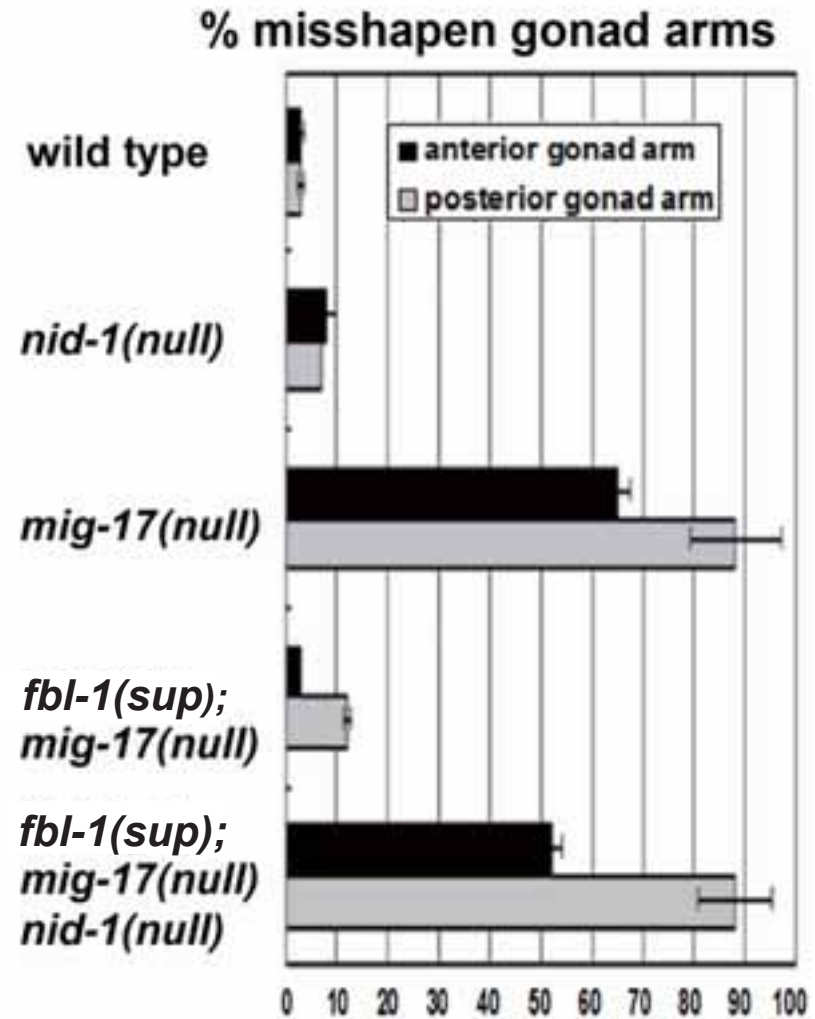
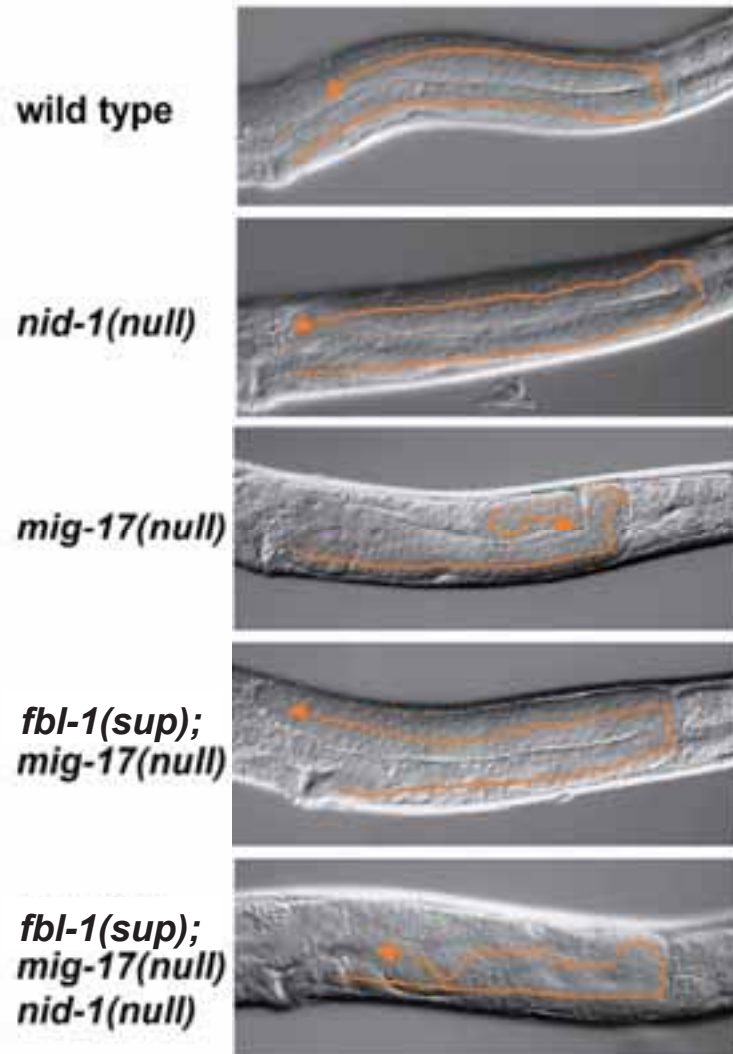


ではnidogenは*fbl-1(sup)*による*mig-17*のサプレッションに必要であるのか？

Sasaki et al. (1995). J. Mol. Biol. 245, 241-250.

Ries et al. (2001). Eur. J. Biochem. 268, 5119-5128.

# 変異型FBL-1CによるsuppressionはNID-1/nidogenに依存する。



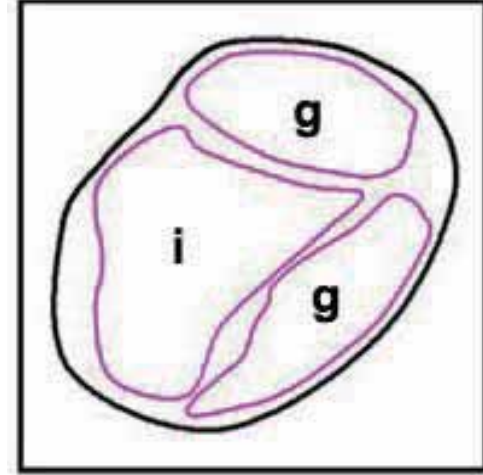
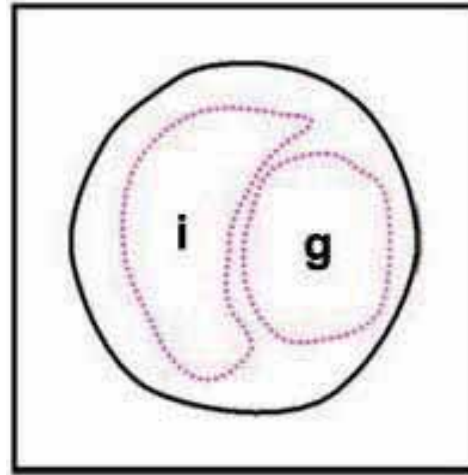
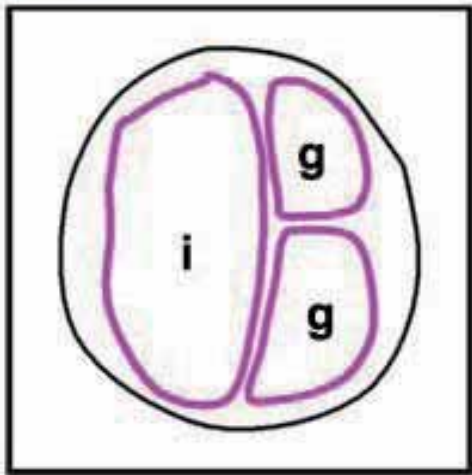
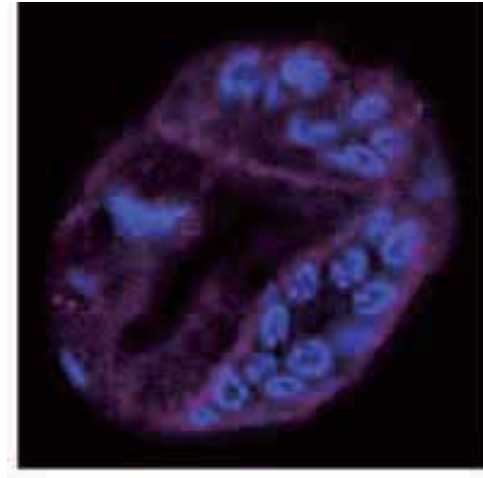
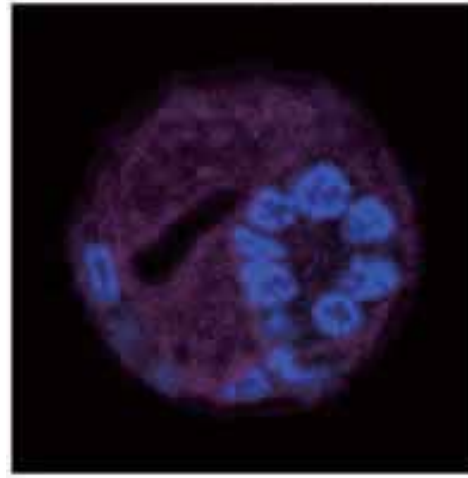
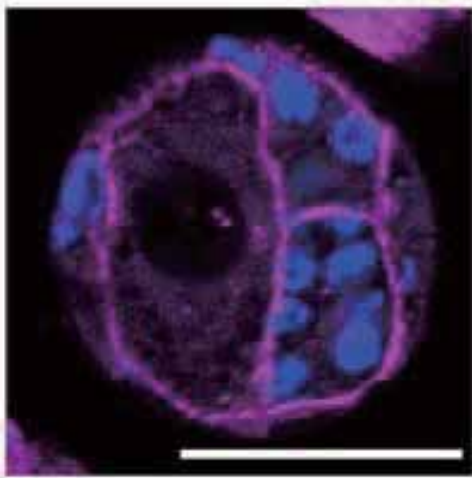
*fbl-1*および*mig-17*変異体ではNID-1の局在がほとんど無くなる

Anti-NID-1

WT

*fbl-1*(null)

*mig-17*(null)





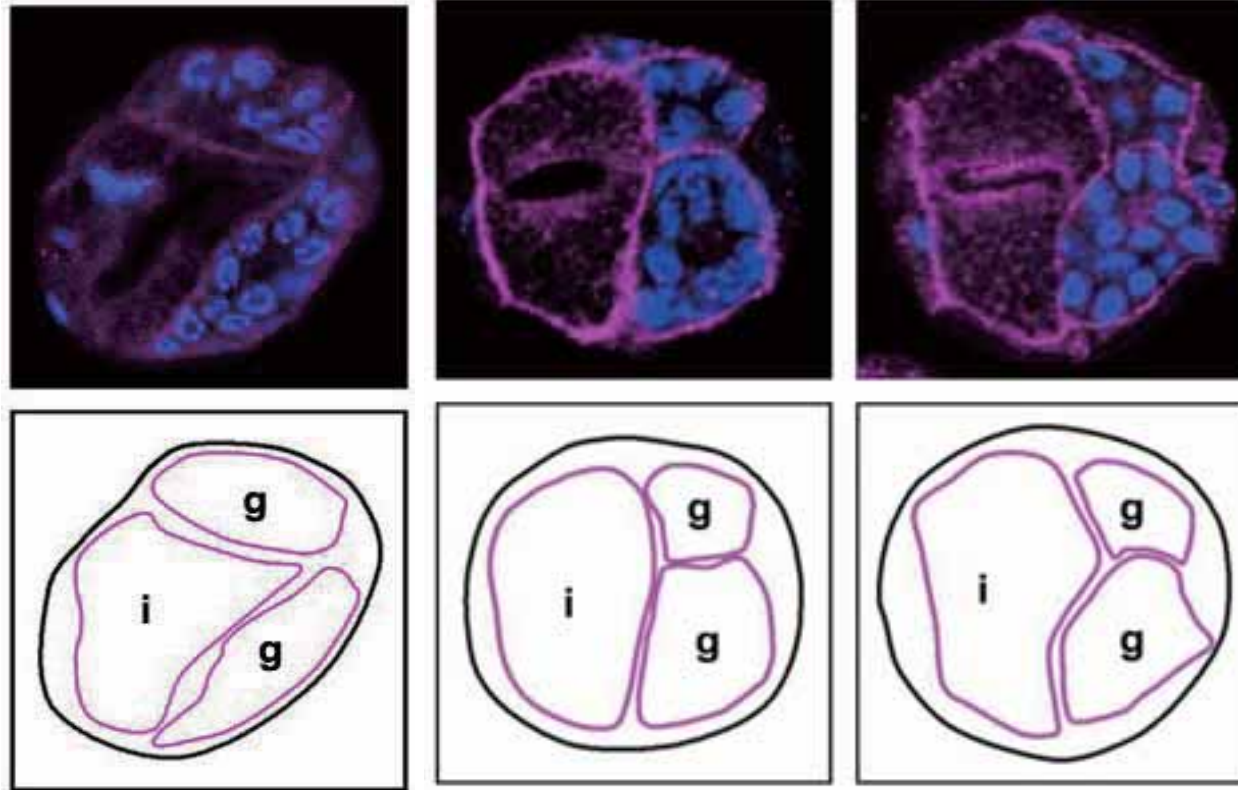
*fbl-1(sup); mig-17*二重変異体ではNID-1の局在が回復する

*fbl-1(sup1);  
mig-17(null)*

*fbl-1(sup1);  
mig-17(null)*

*fbl-1(sup2);  
mig-17(null)*

Anti-NID-1



変異型FBL-1CはMIG-17非依存的にNID-1を局在させる。

基底膜へのNID-1の局在の減少が、  
*mig-17*変異体でのDTC移動異常の  
原因である可能性

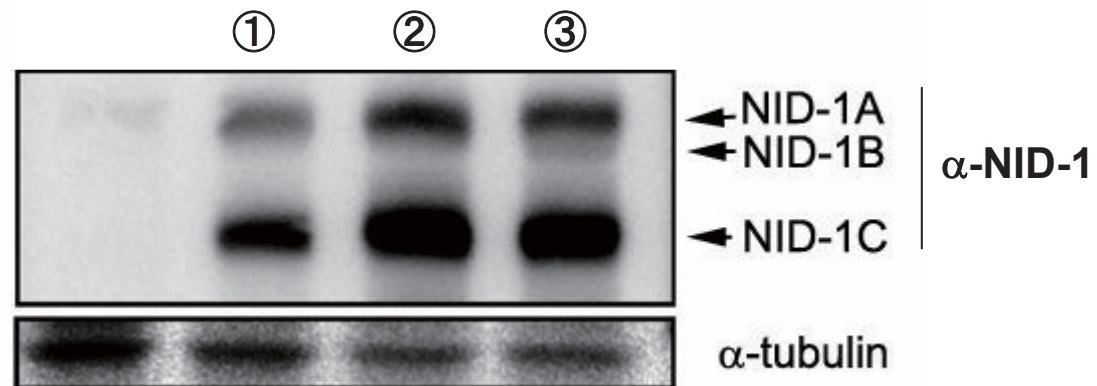
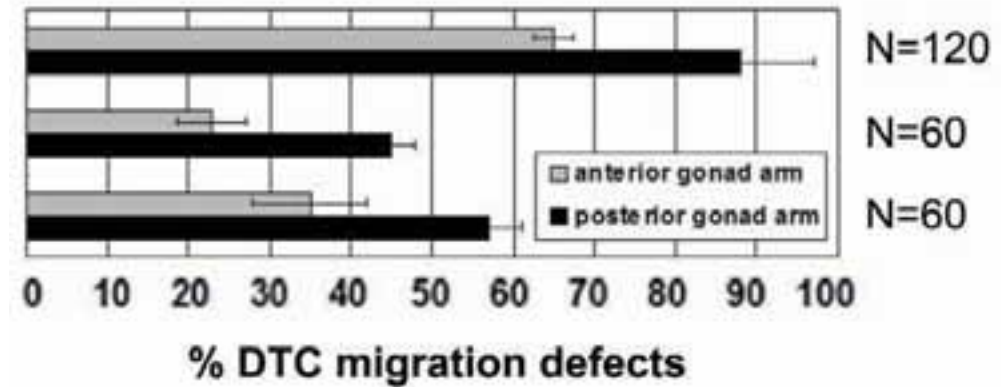


# *nid-1*の過剰発現は*mig-17*変異体のDTC移動異常を有意に回復する

① *mig-17*

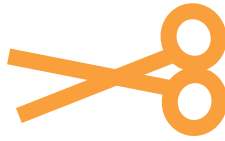
② *mig-17 nid-1::HA*過剰発現 line 1

③ *mig-17 nid-1::HA*過剰発現 line 2



**MIG-17によるNID-1の局在はDTC移動制御に重要である。**

**MIG-17  
(ADAMTS)**



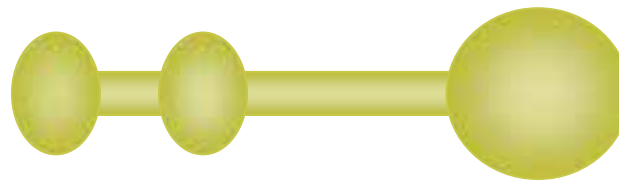
**Recruit**

**FBL-1C  
(Fibulin-1C)**



**Recruit**

**NID-1  
(Nidogen)**



**Guided  
DTC migration**

解析結果から予想されるMIG-17の下流カスケード

*Kubota et al., 2008, PNAS*

## 従来技術とその問題点

遺伝的サプレッサーの分離と解析は、様々な生命現象の制御カスケードの解明に有効であるが、マウスやゼブラフィッシュなどの高等動物では多数の個体を扱えないことや、世代時間が長いことにより困難であった。

## 新技術の特徴・従来技術との比較

- *C. elegans*は大腸菌を餌として、微生物と同様にシャーレで培養できるので、大きなスペースを必要としない。
- 世代時間は飼育温度により、3～5日程度。
- 10万から100万匹の個体を容易にスクリーニングできる。
- コストが低く抑えられる。

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 完全な機能喪失が致死となるような遺伝子であっても、サプレッサー変異は、特殊なアミノ酸置換などによる部分的な機能喪失や機能獲得型として分離でき、遺伝子を同定できる。
- 近年の次世代シーケンサーの進歩により、全ゲノムの解析が可能となった。*C. elegans*のゲノムは100Mb(人の1/30)であり、点突然変異の同定も今後、ますます容易になると思われる。

## 想定される用途

- 疾患関連遺伝子などの制御系の解明。
- 薬品開発のための基盤情報を得る。
- 有用動物(家畜、養殖魚など)の発生のコントロールのための基盤情報を得る。

# お問い合わせ先

**関西学院大学**  
**理工学部生命科学科 教授**  
**西脇 清二**

**TEL 079-565-7639**

**FAX 079-565-9077**

**e-mail [nishiwaki@kwansei.ac.jp](mailto:nishiwaki@kwansei.ac.jp)**