

平成 28 年度 医療研究開発推進事業費補助金  
成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) ナショナルバイオリソースプロジェクト  
(英語) National Bioresource Project

補助事業課題名： (日本語) 線虫欠失変異体の収集・保存・提供  
(英語) Collection, Preservation and Distribution of deletion mutants  
of the nematode *C. elegans*.

補助事業担当者 (日本語) 東京女子医科大学 医学部 第二生理学 教授・講座主任 三谷昌平  
所属 役職 氏名： (英語) Department of Physiology, Tokyo Women's Medical University School  
of Medicine, Professor and Chairperson, Shohei Mitani

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 該当せず  
分担課題名： (英語) Not Applicable

補助事業分担者 (日本語) 該当せず  
所属 役職 氏名： (英語) Not Applicable

II. 成果の概要 (総括成果報告)

NBRP 中核的拠点整備プログラム線虫では、プロジェクト全体として、「変異体の収集」、「変異体の保存」、「変異体の提供」、「変異体の品質管理」および「事業の総合的な推進」を目的とする。

平成 28 年度は、「変異体の収集」と「変異体の保存」については、従来通りに実施するが、それに加えて、平成 27 年度に実施した全ゲノムシーケンス法を用いた変異体の品質管理とその際に付加的に発見される欠失変異を新規変異体として収集保存する方法についても継続実施する。すなわち、より多くの変異体についてこの方法で品質管理を行い、同時に追加の新規変異体も収集・保存を行う。提供については、リクエストベースであるので、従来通りに MTA を受け取った株について郵送によって提供を継続し、研究者コミュニティの研究を支援することを目的とする。さらに、プロジェクトの総合的推進として、リソース事業の周知等も行うことを目的としている。第 3 期当初目標としては、線虫欠失変

異体の収集を年間400株、保存を年間400株（追加数）及び提供数を年間1,200株として実施することとした。

平成28年度の実績は以下の通りである。

リソースの収集：欠失変異体を1,000株収集することを目標とした（第3期開始時点では400株／年度で申請していたが、上述のように品質管理の際の付加的な変異体の収集分を加えることが可能になったため、目標数を上方修正した）。実際には、新規収集数は1,084株（新規保存数も同じ）で、目標を達成することができた。

リソースの保存：収集と同様であり、新規保存目標数は400株を上方修正して1,000株としていた。実績として、新規保存数は1,084株である。第1期からの総数は、8,072株となり、目標数（7,988株）を達成することができた。さらに、リソースのバックアップとして、広島県福山市の企業に液体窒素容器を保管してもらっている。

リソースの提供：欠失変異体を1,200株提供することを目標とした。提供実績は、1,631株であり、目標を達成することができた。

プロジェクトの総合的推進：上述のように次世代シーケンサーによる全ゲノムシーケンス法を行い、品質管理をすると同時に、新規変異体の収集も行ったことで、収集・保存数を増やすことができた。また、リソースの周知を目的として、国立遺伝学研究所の山崎研究室のご支援をいただき、線虫変異体データベースを公開している。さらに、課題管理者にメールでの問合せができる仕組みをwebsite内に作成していただいているので、変異体株の取り扱い方などについて質問のある研究者は、適宜、メールでコンタクトを取っている。（<http://shigen.nig.ac.jp/c.elegans/>）

また、線虫に関する情報の（国際的）統合データベースにも同様のデータを送付しており、国立遺伝研のサーバより2～3ヶ月遅れてデータが追加されている。（WormBase；<http://www.wormbase.org>）

さらに、上述のように線虫欠失変異体の品質管理（染色体リアレンジメント等の不具合のある株を除外して、機能解析に適した株であることの検証）を行っている。

線虫の変異体は約2割程度が致死あるいは不妊の表現型を呈するため、ホモ接合体で維持することができない。ヘテロ接合体で飼育すると、徐々に希釈されていき、変異体を失うことになる。そのため、蛍光標識したバランス株との交配を行い（致死変異を持つ染色体とバランス染色体を各々1本ずつもつ株を作成し）、再度保存している（年間120株を目標とする）。平成28年度は、164株のバランス導入を行い、目標を達成した。バランス導入済みの変異体株は751株となった。

NBRP core facility program aims to collect, preserve and distribute deletion mutants of *Caenorhabditis elegans* and help researcher to access the high quality biological resources. In the fiscal year 2016, we continued collection and preservation as before and tried to collect additional deletion mutants during the whole genome sequencing of the mutant alleles. As we did in our trial experiments, we were successful to identify additional deletion mutations when we sequence the whole genome of a strain with a next-generation sequencer, which allows us to rule out the presence of wild-type genome sequence at the gene of interest. Additionally obtained deletion mutants were also collected and stored. Distribution was done as mutants were requested by researchers. After we receive Material Transfer Agreement (MTA), we shipped the requested mutants via post office. For integrated promotion of the project, we aimed the project aware publicly. In the first proposal of

the third phase of the NBRP for the nematode, we set the targets of collection and distribution are 400 alleles per year and 1200 alleles per year, respectively.

In the fiscal year 2016, we achieved the followings.

Collection of new deletion mutants: We changed the target number of deletion mutants to 1,000 alleles per year because we obtained the additional mutants through the whole genome sequencing method. We collected a total of 1,084 alleles, more than the target of the year.

Preservation of deletion mutants: We changed the target number of newly preserved deletion mutants as collection of mutants; 1,000 alleles per year. We preserved 1,084 new mutants and the cumulative number of deletion mutants in storage became 8,072 alleles in the end of the fiscal year 2016. We also store such mutants in a company far from Tokyo to avoid the loss of mutants in case of disaster.

Distribution of deletion mutants: The target number of distribution was 1,200 alleles per year and we distributed 1,631 alleles in the fiscal year 2016.

Integrated promotion of the project: We were able to examine the quality of deletion mutations with whole genome sequencing. Through this technical advance, we achieved the aimed number of mutants to be collected and preserved. We asked Dr. Yukiko Yamazaki's laboratory to help our mutant database posted through National BioResource Project website. This help researchers to find the mutants of interest and promote the usage of our mutants to analyze the phenotypes of those mutants. Also, we asked Dr. Yamazaki to construct the question mail system that help researchers to send the core facility any questions. We also send the information on deletion mutants to international consortium of the nematode database, WormBase. The information is usually posted through the database a few months behind the NBRP website because of combination with other information.

*C. elegans* mutants suffer from lethal or sterile phenotypes in approximately 20% of the strains. The cannot survive as homozygotes and when we culture those animals in heterozygotes, the mutants are diluted and lost eventually. We mated those mutants with fluorescent marker-tagged balancer chromosomes. The target number for balancing lethal or sterile mutants were 120 alleles per year. We balanced 164 alleles of lethal or sterile mutants in the fiscal year 2016 and a total number of balanced alleles was 751 alleles.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 232 件）

変異体を使用して発表された論文の例

1. Wang Y, Zhang Y, Chen L, Liang Q, Yin XM, Miao L, Kang BH, Xue D. Kinetics and specificity of paternal mitochondrial elimination in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun*. 2016 Sep 1;7:12569. doi: 10.1038/ncomms12569.
2. Tomioka M, Naito Y, Kuroyanagi H, Iino Y. Splicing factors control *C. elegans* behavioural learning in a single neuron by producing DAF-2c receptor. *Nat Commun*. 2016 May 20;7:11645. doi: 10.1038/ncomms11645.
3. Wei Q, Zhang Y, Schouteden C, Zhang Y, Zhang Q, Dong J, Wonesch V, Ling K, Dammermann

- A, Hu J. The hydrolethalus syndrome protein HYLS-1 regulates formation of the ciliary gate. *Nat Commun.* 2016 Aug 18;7:12437. doi: 10.1038/ncomms12437.
4. Fernández-Majada V, Welz PS, Ermolaeva MA, Schell M, Adam A, Dietlein F, Komander D, Büttner R, Thomas RK, Schumacher B, Pasparakis M. The tumour suppressor CYLD regulates the p53 DNA damage response. *Nat Commun.* 2016 Aug 26;7:12508. doi: 10.1038/ncomms12508.
  5. Singhvi A, Liu B, Friedman CJ, Fong J, Lu Y, Huang XY, Shaham S. A Glial K/Cl Transporter Controls Neuronal Receptive Ending Shape by Chloride Inhibition of an rGC. *Cell.* 2016 May 5;165(4):936-48. doi: 10.1016/j.cell.2016.03.026.
  6. Jang S, Nelson JC, Bend EG, Rodríguez-Laureano L, Tueros FG, Cartagena L, Underwood K, Jorgensen EM, Colón-Ramos DA. Glycolytic Enzymes Localize to Synapses under Energy Stress to Support Synaptic Function. *Neuron.* 2016 Apr 20;90(2):278-91. doi: 10.1016/j.neuron.2016.03.011.
  7. Wallace SW, Singhvi A, Liang Y, Lu Y, Shaham S. PROS-1/Prospero Is a Major Regulator of the Glia-Specific Secretome Controlling Sensory-Neuron Shape and Function in *C. elegans*. *Cell Rep.* 2016 Apr 19;15(3):550-62. doi: 10.1016/j.celrep.2016.03.051.
  8. Gerson-Gurwitz A, Wang S, Sathe S, Green R, Yeo GW, Oegema K, Desai A. A Small RNA-Catalytic Argonaute Pathway Tunes Germline Transcript Levels to Ensure Embryonic Divisions. *Cell.* 2016 Apr 7;165(2):396-409. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.040.
  9. Najibi M, Labeled SA, Visvikis O, Irazoqui JE. An Evolutionarily Conserved PLC-PKD-TFEB Pathway for Host Defense. *Cell Rep.* 2016 May 24;15(8):1728-42. doi: 10.1016/j.celrep.2016.04.052.
  10. Oren-Suissa M, Bayer EA, Hobert O. Sex-specific pruning of neuronal synapses in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 2016 May 12;533(7602):206-11. doi: 10.1038/nature17977.
  11. Lin YF, Schulz AM, Pellegrino MW, Lu Y, Shaham S, Haynes CM. Maintenance and propagation of a deleterious mitochondrial genome by the mitochondrial unfolded protein response. *Nature.* 2016 May 19;533(7603):416-9. doi: 10.1038/nature17989.
  12. Sonoda S, Ohta A, Maruo A, Ujisawa T, Kuhara A. Sperm Affects Head Sensory Neuron in Temperature Tolerance of *Caenorhabditis elegans*. *Cell Rep.* 2016 Jun 28;16(1):56-65. doi: 10.1016/j.celrep.2016.05.078.
  13. Wang X, Li G, Liu J, Liu J, Xu XZ. TMC-1 Mediates Alkaline Sensation in *C. elegans* through Nociceptive Neurons. *Neuron.* 2016 Jul 6;91(1):146-54. doi: 10.1016/j.neuron.2016.05.023.
  14. Lin JL, Nakagawa A, Skeen-Gaar R, Yang WZ, Zhao P, Zhang Z, Ge X, Mitani S, Xue D, Yuan HS. Oxidative Stress Impairs Cell Death by Repressing the Nuclease Activity of Mitochondrial Endonuclease G. *Cell Rep.* 2016 Jul 12;16(2):279-87. doi: 10.1016/j.celrep.2016.05.090.
  15. Stavoe AK, Hill SE, Hall DH, Colón-Ramos DA. KIF1A/UNC-104 Transports ATG-9 to Regulate Neurodevelopment and Autophagy at Synapses. *Dev Cell.* 2016 Jul 25;38(2):171-85. doi: 10.1016/j.devcel.2016.06.012.
  16. Gitschlag BL, Kirby CS, Samuels DC, Gangula RD, Mallal SA, Patel MR. Homeostatic

- Responses Regulate Selfish Mitochondrial Genome Dynamics in *C. elegans*. *Cell Metab.* 2016 Jul 12;24(1):91-103. doi: 10.1016/j.cmet.2016.06.008.
17. Zhou Q, Li H, Li H, Nakagawa A, Lin JL, Lee ES, Harry BL, Skeen-Gaar RR, Suehiro Y, William D, Mitani S, Yuan HS, Kang BH, Xue D. Mitochondrial endonuclease G mediates breakdown of paternal mitochondria upon fertilization. *Science.* 2016 Jul 22;353(6297):394-9. doi: 10.1126/science.aaf4777.
  18. Nechipurenko IV, Olivier-Mason A, Kazatskaya A, Kennedy J, McLachlan IG, Heiman MG, Blacque OE, Sengupta P. A Conserved Role for Girdin in Basal Body Positioning and Ciliogenesis. *Dev Cell.* 2016 Sep 12;38(5):493-506. doi: 10.1016/j.devcel.2016.07.013.
  19. Ackermann L, Schell M, Pokrzywa W, Kevei É, Gartner A, Schumacher B, Hoppe T. E4 ligase-specific ubiquitination hubs coordinate DNA double-strand-break repair and apoptosis. *Nat Struct Mol Biol.* 2016 Nov;23(11):995-1002. doi: 10.1038/nsmb.3296.
  20. Chen YC, Chen HJ, Tseng WC, Hsu JM, Huang TT, Chen CH, Pan CL. A *C. elegans* Thermosensory Circuit Regulates Longevity through *crh-1*/CREB-Dependent *flp-6* Neuropeptide Signaling. *Dev Cell.* 2016 Oct 24;39(2):209-223. doi: 10.1016/j.devcel.2016.08.021.
  21. Piazzesi A, Papić D, Bertan F, Salomoni P, Nicotera P, Bano D. Replication-Independent Histone Variant H3.3 Controls Animal Lifespan through the Regulation of Pro-longevity Transcriptional Programs. *Cell Rep.* 2016 Oct 18;17(4):987-996. doi: 10.1016/j.celrep.2016.09.074.
  22. Abdu Y, Maniscalco C, Heddleston JM, Chew TL, Nance J. Developmentally programmed germ cell remodelling by endodermal cell cannibalism. *Nat Cell Biol.* 2016 Dec;18(12):1302-1310. doi: 10.1038/ncb3439.
  23. San-Miguel A, Kurshan PT, Crane MM, Zhao Y, McGrath PT, Shen K, Lu H. Deep phenotyping unveils hidden traits and genetic relations in subtle mutants. *Nat Commun.* 2016 Nov 23;7:12990. doi: 10.1038/ncomms12990.
  24. Wu L, Zhou B, Oshiro-Rapley N, Li M, Paulo JA, Webster CM, Mou F, Kacergis MC, Talkowski ME, Carr CE, Gygi SP, Zheng B, Soukas AA. An Ancient, Unified Mechanism for Metformin Growth Inhibition in *C. elegans* and Cancer. *Cell.* 2016 Dec 15;167(7):1705-1718.e13. doi: 10.1016/j.cell.2016.11.055.
  25. Chen C, Itakura E, Nelson GM, Sheng M, Laurent P, Fenk LA, Butcher RA, Hegde RS, de Bono M. IL-17 is a neuromodulator of *Caenorhabditis elegans* sensory responses. *Nature.* 2017 Feb 2;542(7639):43-48. doi: 10.1038/nature20818.
  26. Minkina O, Hunter CP. Stable Heritable Germline Silencing Directs Somatic Silencing at an Endogenous Locus. *Mol Cell.* 2017 Feb 16;65(4):659-670.e5. doi: 10.1016/j.molcel.2017.01.034.
  27. Li G, Gong J, Lei H, Liu J, Xu XZ. Promotion of behavior and neuronal function by reactive oxygen species in *C. elegans*. *Nat Commun.* 2016 Nov 8;7:13234. doi: 10.1038/ncomms13234.
  28. Lee KS, Iwanir S, Kopito RB, Scholz M, Calarco JA, Biron D, Levine E. Serotonin-dependent kinetics of feeding bursts underlie a graded response to food availability in *C. elegans*. *Nat Commun.* 2017 Feb 1;8:14221. doi: 10.1038/ncomms14221.

29. Burton NO, Furuta T, Webster AK, Kaplan RE, Baugh LR, Arur S, Horvitz HR. Insulin-like signalling to the maternal germline controls progeny response to osmotic stress. *Nat Cell Biol.* 2017 Mar;19(3):252-257. doi: 10.1038/ncb3470.
30. Zhou X, Feng X, Mao H, Li M, Xu F, Hu K, Guang S. RdRP-synthesized antisense ribosomal siRNAs silence pre-rRNA via the nuclear RNAi pathway. *Nat Struct Mol Biol.* 2017 Mar;24(3):258-269. doi: 10.1038/nsmb.3376.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 本橋智子、吉名佐和子、堀沙耶香、末廣勇司、出嶋克史、岩田悟、三谷昌平、線虫欠失変異体の収集・保存・提供（遺伝子機能解析のツールとして）日本分子生物学会展示、2016年11-12月、幕張

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 本橋智子、吉名佐和子、堀沙耶香、末廣勇司、出嶋克史、岩田悟、三谷昌平、線虫欠失変異体の収集・保存・提供（遺伝子機能解析のツールとして）日本分子生物学会展示、2016年11-12月、幕張

(4) 特許出願

該当なし