

線虫 *C. elegans* *daf-21/Hsp90* 異常の体細胞分化への影響

井上忠雄、青島園子、山口泰典*

Hsp90 は Heat shock protein ファミリーの一員であり、その分子シャペロンとしての機能は種を越えて良く保存されている。これまでの研究により、多くのタンパク質がその立体構造保持のために、Hsp90 の機能を必要とすることが明らかとなっているが、多細胞生物における Hsp90 の機能喪失が細胞や組織の機能に与える影響という観点からの解析はあまり例を見ない。この度、われわれは線虫 *C. elegans* における、Hsp90 ホモログである DAF-21 の機能がその遺伝子変異及び RNAi により低下することにより、生体内において生殖巣の形成を誘導するリーダー細胞の移動方向及び移動そのものに影響を与えること、雌雄同体の産卵口の形成、並びに雄尾部交尾器の形成に異常を示すことを見出した。

キーワード : DAF-21, Hsp90, *C. elegans*, RNAi, DTCs

Hsp90 (Heat shock protein 90kDa) は、細胞内に多量に存在し、そのアミノ酸配列が各種生物でよく保存されたタンパク質であり、他のタンパク質の正常な立体構造の保持を可能にする分子シャペロンとしての機能を有することが知られている¹⁻⁶⁾。多細胞生物内におけるその発現は多岐にわたり、さまざまな組織で発現することが認められている^{7, 8)}。これまでに我々は、線虫 *C. elegans* の Hsp90 ホモログである DAF-21 の時空間的な解析を行い、その発現は胚発生期にはほぼ全ての細胞において強く発現しており、幼虫期には発生の進行に伴い DAF-21 の発現は体細胞において減少し、生殖細胞に限られるようになることを示した^{9, 10)}。我々の結果を含め、生体内での Hsp90 タンパク質の発現を確認した例は多数あるが、その多量に発現している Hsp90 の機能を阻害した際の細胞や組織の機能への影響という観点からの報告は少ない。

線虫 *C. elegans* においては、*daf-21* 遺伝子に変異をもつ温度感受性株である *daf-21 (p673)* の解析により、*daf-21* の機能低下は、産卵数の減少及び走化性の異常を引き起こすことが知られている¹¹⁾。現在までに、走化性異常の機構については詳細に解析されているが¹¹⁾、産卵数が減少する理由は明瞭ではない。また、RNA interference (RNAi) を用いた解析では、*daf-21* に対して RNAi を行った個体の子孫 (F1) は、8 細胞期以前に死亡することが知られている¹²⁾。

〒729-0292 福山市学園町1番地三蔵 福山大学生命工学部生物工学科.

*Tel: +81-84-936-2112, Fax: +81-84-936-2459, E-mail: yamaguti@bt.fubt.fukuyama-u.ac.jp

線虫は一对の生殖巣を有し、その中で生殖細胞が増殖、成熟する。生殖巣は四段階の幼虫期 (L1~L4) のうち、L1 期から伸長を開始し、L4 期に伸長を停止し成熟した生殖巣が完成する。生殖巣の伸長は三つのステップからなり、第一ステップでは、体軸の前後方向のほぼ中央から頭部及び尾部方向へ体壁筋 (腹側) に沿って伸長し、第二ステップで腹側から背側へ移行し、最後の第三ステップで再びからだの中心に向かって体壁筋 (背側) に沿い伸長する。これらの各ステップの進行はさまざまなタンパク質により厳密な制御を受けており、野生型では U 字の生殖巣を形成するのに対し、それら制御タンパク質が欠損すると各伸長ステップに異常が見られ、最終的に生殖巣は異常が起こったステップに特有の異常形態を示す¹³⁻¹⁵⁾。例えば、生殖巣細胞外マトリックスの分解に関与すると考えられているメタロプロテアーゼである MIG-17 の変異株 *mig-17 (k113)* では、第一及び第二ステップは正常であるが、第三ステップの伸長が不規則に起こり、生殖巣は背側で幾度も折れ曲がった形態を示す¹⁶⁾。

また、成虫の雌雄同体はからだの中心の腹側に産卵口を有し、受精後子宮内で発生の進んだ受精卵はこの産卵口から体外に産出される。この産卵口の形成は、さまざまなシグナル伝達経路を介した制御を受けており、これらの異常は無産卵口、複数産卵口、及び産卵口突出などの表現型を示すことが知られている¹⁷⁾。

また、雄では交配のための交尾器を尾部の先端に有しており、その形成過程も厳密な制御のもとで行われており、それら制御因子の異常は交尾器を構成する組織の形成に影響を与え、変異によっては交尾器が形成されず交配不能となるなどの影響を与える¹⁸⁾。

今回我々は、*daf-21 (p673)* 変異株及び RNAi により *daf-21* 機能を低下させ、個体への影響を成虫で調べた。その結果、*daf-21 (RNAi)* において上述の生殖巣の形成、産卵口の形成、雄交尾器の形成に異常が生じていることを見出した。本論ではその *daf-21 (p673)* 変異株及び *daf-21 (RNAi)* における新規の表現型について報告する。

実験方法

線虫 *C. elegans* の培養と変異株 線虫 *C. elegans* の培養法は、過去の報告に沿って行った¹⁹⁾。また、培養温度は、記述されている各試験の温度に準ずる。野生株には N2 株を、変異株には *daf-21 (p673)*¹¹⁾ 株を用いた。

***daf-21* 二本鎖 RNA の合成** 線虫 *C. elegans* ゲノム DNA より *daf-21* 遺伝子の一部を PCR で増幅した (プライマー配列、FW: TTGTTCTTCCCCATGCTGC 及び RV: ATGCGGGAAGCGTGAGATTG)。PCR 産物を pGEM-T ベクター (Promega) に挿入後、大腸菌 JM109 内で増幅させ、そのプラスミドから Riboprobe Combination System-SP6/T7 Polymerase キット (Promega) を用いて、*in vitro* transcription により二本鎖 RNA を合成した。

RNAi RNAi に用いた二本鎖 RNA の濃度は、500-2000ng// μ l である。RNAi は Soaking 法により行い、その方法は過去の報告に従った²⁰⁾。

顕微鏡観察 実体顕微鏡下で「patch」を保有すると判別した線虫を、 -20°C のメタノールで 5 分間処理し、その後 DAPI (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 染色を行い、最後に PBS で洗浄後、蛍光顕微鏡下で観察及び写真撮影を行った。

結果

daf-21 変異は生殖巣リーダー細胞の移動に影響を与える *Hsp90* の線虫 *C. elegans* ホモログである *daf-21* 遺伝子に変異を有する *daf-21* (*p673*) 株は、線虫の通常生育温度 (15°C) では野生型と比較し産卵数が半減し、またイソアミルアルコールに対する走化性に異常を示す。また加えて、高温生育条件下 (25°C) では、その産卵数がさらに減少することのみがその表現型として報告されている¹¹⁾。他生物において *Hsp90* はさまざまな分子のフォールディングを行っていることが知られており、これは線虫 *C. elegans* においても同様であると考えられる。そのことから *DAF-21* の機能低下は、広範なタンパク質の機能に影響を与え、多様な表現型を誘導することが予想される。そこで我々は、*p673* 株に上記以外の表現型を探すため、通常生育温度及び高温生育条件下において詳細な表現型の解析を行った。

タンパク質の立体構造は高温下では不安定となることから、*p673* 変異の影響は高温生育条件下でより多く見られると思われるので、*p673* 株を 25°C で生育させ、実体顕微鏡下で行動及び形態の観察を行った。野生型の線虫を実体顕微鏡下で観察すると頭部を除いてほぼ全体が黒く見える (図 1A)。それに対し *p673* 株では、からだの一部が透明に見える個体が観察された (図 1B)。これまでの報告から、野生型でからだ全体が黒く見えるのは、全長に渡って腸が分布しているためであり、透明部分はこの腸と隣接する生殖巣が異常な形態をとり、腸が押し退けられた部分として観察されるということが分かっており、透明部分は「patch」と称されている^{13, 14)}。そこで、*p673* 株で見られた透明部分が生殖巣の形態異常によるものであるかを確認するために、25°C で生育した野生型と透明部分をもつ *p673* 株とを DAPI で核を染色し、生殖細胞の分布から生殖巣の形状を特定した。その結果、野生型では正常な U 字型の生殖巣を有しているのに対し、*p673* では生殖巣が何度も折れ曲がった形態となっていた (図 1)。また、この生殖巣が折れ曲がって重なっている部分が上記の透明部分であることも確認することができた。このことから *p673* 変異株は、前述の報告^{13, 14)}と

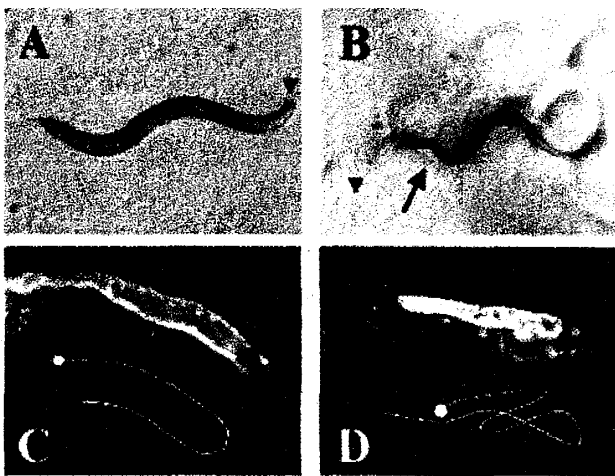


図1. *p673*変異株のpatchの観察 A: 野生型株 B: *daf-21* (*p673*) 変異株 C: 野生型株 D: *daf-21* (*p673*) 変異株 ▲: 頭部 矢印: 透明部分 (patch) 白線: それぞれの個体中の生殖巣の位置取りを示したものであり、先端の丸印はDTCを示す。

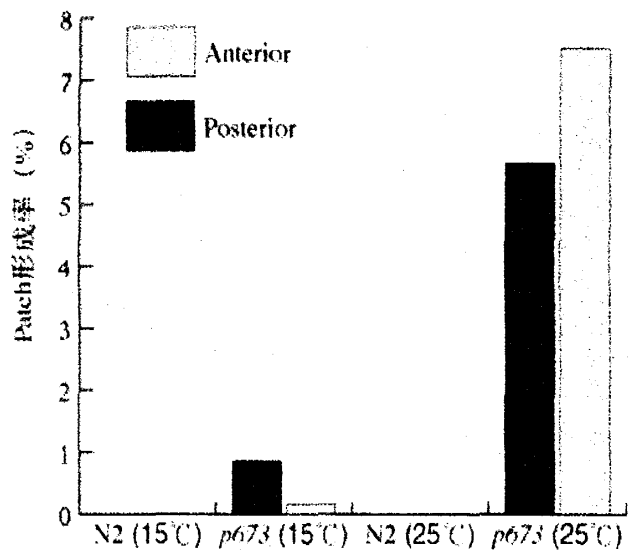


図2. 各生育条件下におけるpatch形成率

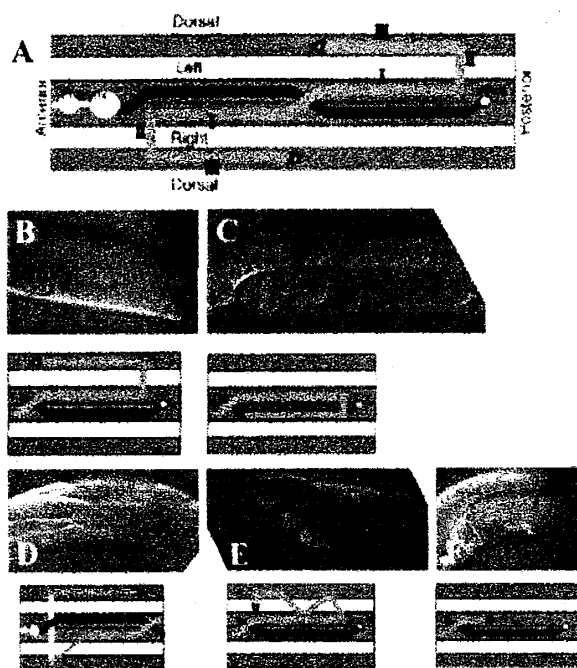


図3. *daf-21(p673)* 及び *daf-21(RNAi)* で観察された生殖巣の形態異常
 A: 線虫 *C. elegans* 体内における生殖巣位置取りの模式図 B: 野生型株
 C-E: *daf-21(p673)* 変異株 F: *daf-21(RNAi)* F1 B-Fは、それぞれ上部
 にNomarski顕微鏡写真、下部に各個体中の生殖巣の位置取りを模式図
 で示した。

同様に patch を形成し、またそれは生殖巣の形態異常が原因であることが明らかとなった。また、この表現型について通常の生育温度 (15°C) で *daf-21(p673)* 株の観察を行ったところ、わずかではあるが patch の形成が確認された (図 2)。

生殖巣の形成はその先端に位置するリーダー細胞 (Distal Tip Cells: DTCs) に牽引されることで伸長するため、その移動運動及び移動方向を制御するタンパク質の変異は、生殖巣の形態異常を引き起こす¹³⁻¹⁶⁾。そのため、*p673* 株で観察された patch も DTCs の移動方向の異常によるものであると考えられる。また、DTCs の制御因子のうちのいくつかは、その変異の与える影響が前後の生殖巣に対して異なるという報告もあり、このことは生殖巣の形成は一部では前後独立に行われていることを示唆する¹⁴⁾。そこで我々は、*p673* 株で見られた patch の形成が、前後の生殖巣について等しく

起こるか否かを測定した。その結果、15°C 及び 25°C のどちらの生育条件下においても前後両者間での patch 形成率に違いは認められなかった (図 2)。このことから、生殖巣形成過程において DAF-21 が関与 (フォーロディング) している因子は、前後の生殖巣を等しく制御しているタンパク質であると推察される。

上述のように、DTCs の移動は多数のタンパク質により制御されており、機能の低下するタンパク質の種類によってさまざまな形態の異常を示す。しかしながら、一つのタンパク質は DTCs の移動のうち、ある一定の時期に必要な場合が多いので、各遺伝子の変異はからだの特定の位置に patch を有し、同一変異株内においては特定の生殖巣の形態異常を示す傾向がある。そのことから、DAF-21 が生殖巣形成過程において一時期に特定のタンパク質に作用するのか、それとも全過程にわたり多様なタンパク質に機能するのかを判定する目的で、*p673* 株において観察される生殖巣の形状が常に一定であるか否かを調べた。その結果、*p673* 株の patch を有する個体では、多種多様な形状の生殖巣が観察された (図 3)。具体的には、腹側から背側に移行する第二ステップに異常を示す個体 (図 3C)、第一ステップの途中で背側に移項する個体 (図 3D)、第二ステップの途中から不規則に生殖巣が折れ曲がる個体 (図 3E) などが観察された。このことより、DAF-21 は生殖巣形成過程の単一の時期に特定のタンパク質に機能しているのではなく、各ステップにおいて複数の因子と関わっている、もしくは全課程を調節する因子と相互作用している可能性が示された。またこれらの異常は、前後それぞれの生殖巣における patch 形成率とその形状などには規則性は認められず、様々なステップにおける異常が前後生殖巣において不規則に観察された。

また *p673* 変異株に加えて、より強く DAF-21 の機能を阻害するために、*daf-21* に対し RNAi を行いその子孫 (F1) における生殖巣の形状を観察した。Piano らの使用した RNA では、得られる F1 は全て胚性致死と

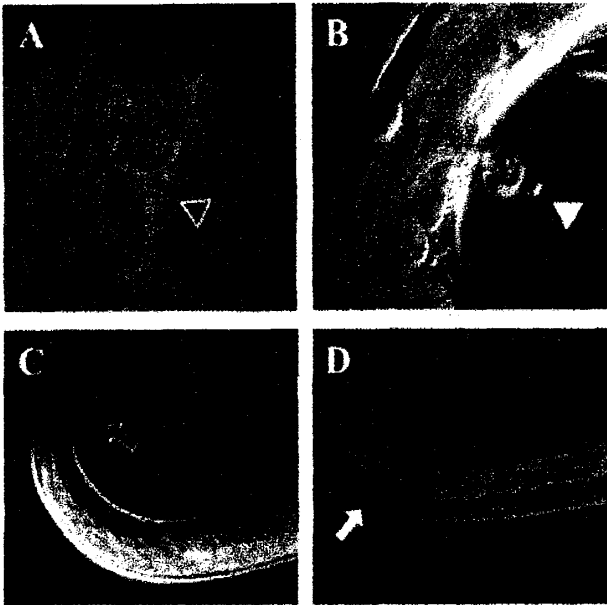


図4. *daf-21* (RNAi) F1で観察された産卵口及び雄交尾器の異常
 A: 野生型株の産卵口 (白抜き三角) B: *daf-21* (RNAi) F1の産卵口 (白三角) C: 野生型株雄の尾部 (交尾器: 白抜き矢印) D: *daf-21* (RNAi) F1雄の尾部 (交尾器: 白矢印)

は *p673* 株と同様に多種多様であり、それに加えて生殖巣がほとんど伸長していない表現型も観察された (図 3F)。これらのことは、DAF-21 は生殖巣形成の全過程に関与しており、また DTCs の移動運動及び移動方向の両方の制御に関与していることを示唆している。

daf-21 (RNAi) は様々な体細胞の分化に異常を示す 上記の結果より、RNAi を用いることで *p673* 株では見られなかった *daf-21* 機能低下時の影響をより多く観察できる可能性が示された。生殖巣形成異常以外の表現型の検索のため、上記で行った通り RNAi を行った個体から得られた F1 のうち成虫まで生育した個体に関し、形態学的観察を行った。その結果、成虫まで生育した個体の中で、産卵口が異常に突出した個体、尾部の交尾器が未形成である雄個体を観察した (図 4)。野生型の成虫では、産卵口を形成する細胞が正常に分化して、その外観はほぼ平らであるのに対し (図 4A)、それらの細胞が分化異常を起こした場合などは産卵口の未形成、産卵口の異常多数形成、並びに突出した産卵口を形成することが知られている¹⁷⁾。このことより、正常な産卵口形成において *daf-21* の機能が必須であることは示されたが、どのように関与しているかの分子機序は未知であるため、今後の詳細な検討を必要とする。また、雄の尾部に関しては、野生型では尾部の先端に交尾器を備えているのに対し (図 4C)、*daf-21* (RNAi) F1 のいくつかの雄の尾部ではこれが形成されておらず、雌雄同体の尾部と類似の形態となっていた (図 4D)。この表現型からも、*daf-21* 機能の雄交尾器形成への必要性は示されたが、どのように *daf-21* が関与しているかの分子メカニズムの解明も今後の詳細な解析を必要とする。

考察

なる¹²⁾。RNAi の効果はその対象とする配列により強弱が異なることから、より弱い RNAi の効果を得るために異なった領域の RNA 配列を無作為に選択及び合成し、それを用いて F1 が成虫まで生育するかどうかを調べた。また、Piano らは RNAi を行った線虫を 25°C で培養及び観察していたが、DAF-21 の機能低下は他のタンパク質のフォールディング効率の低下を招くと予想されたので、我々は RNAi 後の線虫の培養及び観察温度を 16°C とし、より DAF-21 の機能低下により起こる致死表現型の影響を少なくするようにした。その結果、全ての F0 個体がいくつかの F1 を産んだ後不稔となり、またそれらの F1 のうち胚発生期及び初期幼虫期で生育を停止する個体も見られたが、成虫まで生育する個体も見られた。それら成虫の中にも patch を有する個体を観察することができ、またそれらの生殖巣の形状

Hsp90 タンパク質の機能は、細胞及び生物の生存に必須であり、その欠損は個体にとって致死となる。それゆえに、Hsp90 欠損の生物個体への影響を知ることは困難であった。この度、我々は線虫 *C. elegans* を用いて *daf-21/Hsp90* の解析を行い、DAF-21 の生殖巣形成、産卵口形成、及び雄の交尾器形成への関与を明らかにした。

Hsp90 と細胞移動に関する研究は過去に報告があり、癌細胞の細胞外マトリックスメタロプロテアーゼの働きを Hsp90 がシャペロンし、癌の浸潤に関与していることが示されている¹⁶⁾。癌の浸潤のような細胞移動と同様に、線虫の DTCs の移動においても生殖巣細胞外マトリックス（基質は未同定）の分解に関与すると考えられているメタロプロテアーゼである MIG-17 の存在が知られている¹⁶⁾。*mig-17 (k113)* 変異株は、三段階の生殖巣形成ステップの内、第二ステップ以降の移動方向に異常を示すことが知られており、その時期以降の細胞移動は不規則に起こる¹⁶⁾。この DTCs の移動方向の不規則性は、*p673* 株のそれに類似しており、また上述の Hsp90 とメタロプロテアーゼとの関係からも、線虫生殖巣形成過程において DAF-21 が MIG-17 のフォールディングに働いている可能性が充分考えられる。

さらに、*daf-21* の機能を RNAi により抑制した際にも DTCs の移動異常と考えられる現象が観察された。前述の *mig-17* 変異株は、DTCs の移動方向に異常は示すが細胞の移動自体には影響を示さない。これまでに同定されたタンパク質のうち、同じくメタロプロテアーゼである GON-1 は、DTCs の移動に必須であることが示されている。*gon-1 (e2551)* 変異株では、生殖巣はからだの中心で楕円状に広がるのみで、正常な DTCs の細胞移動は見られない²²⁾。*p673* 変異株で観察された、細胞の移動異常を示した生殖巣は、*gon-1* 変異株のそれと酷似する。このことは、DAF-21 と GON-1 の間にフォールディングを介した機能的な相互作用がある可能性を示す一方、*daf-21* 機能低下時に見られる多様な生殖巣形態は、これら二種のメタロプロテアーゼを含め、正常な DAF-21 の機能を必要とする複数のタンパク質の存在を示唆するものである。

また、線虫 *C. elegans* の産卵口及び尾部交尾器の形成にはさまざまなシグナル伝達経路が関与していることが知られているが、この度の研究では DAF-21 の具体的な関与に関しての解明は行っていない。しかしながら、一つの候補として、MAPK 経路の因子の一つである LIN-45 との相互作用の可能性が考えられる。これら二つの組織の形成には MAPK 経路の活性化が不可欠であり、その経路のなかの LIN-45 の他生物におけるホモログである Raf は、Hsp90 によりフォールディングを受けているという報告がある²³⁾。このことより、線虫の産卵口形成及び交尾器形成過程においても DAF-21 は LIN-45 を介した MAPK 経路の正常な活性化に関与している可能性が考えられるが、他生物のシグナル伝達経路における多数の Hsp90 の相互作用因子の存在を考えると、LIN-45 のみならず他の因子との関連も視野に入れた解析を行っていく必要がある。

また、線虫の性決定因子の一つである TRA-2 タンパク質に変異をもつ *tra-2 (e2020)* 株においても、この度 *daf-21 (RNAi)* で観察された尾部交尾器の雌雄同体化が報告されている²⁴⁾。しかしながら、*daf-21 (RNAi)* では雌雄同体化しているのは尾部交尾器のみであったのに対し、*tra-2 (e2020)* 株では尾部交尾器に加え生殖細胞の雌雄同体化、つまり雄個体内での卵子の形成も観察されている²⁴⁾。このことから、DAF-21 は線虫の性決定機構において尾部交尾器の形成を介して機能しているが、生殖細胞の雌雄決定には関与していないと考えられる。

線虫 *C. elegans* *daf-21/Hsp90* 異常の体細胞分化への影響

DAF-21 は生殖細胞において強く発現しており、生殖細胞内でもその発生及び分化に必須の役割を果たしていると推察されていた。我々は、これまでの研究で DAF-21 が生殖細胞の正常な増殖及び分化に必須であることを明らかにした (未発表)。本報告で述べた DAF-21 機能低下時の体細胞分化への影響に加え、これらの生殖細胞における影響についてもより詳しい解析を必要とする。

Hsp90 は細胞内においてタンパク質リン酸化酵素などのシグナル伝達経路に関わる因子のフォールディングを担っていることが知られており、そのターゲットとなる分子は多岐にわたる。近年、この Hsp90 の多様性に対し、Hsp90 の特異的阻害剤であるゲルダナマイシンを用いることで、癌細胞中のさまざまなシグナル伝達経路を一挙に遮断し、癌細胞の増殖を抑制するという試みが進んでいる²⁵⁾。ゲルダナマイシンの癌細胞への作用の特異性は、正常細胞に対して 100 倍以上であることが示されているものの²⁶⁾、正常細胞の安全性を保証するものではない。よって、ゲルダナマイシンの抗癌剤としての利用の前提には、Hsp90 の機能低下が及ぼす生体、ひいてはヒトへの影響を詳細に調査したうえでなくてはならない。そのような意味でも、本報告は多細胞生物における組織細胞レベルでの Hsp90 の機能低下によるさまざまな影響を提示し、単純な Hsp90 の機能の低下により誘発される副作用の可能性を示したという観点から重要であり、ゲルダナマイシンを抗癌剤として使用していくためには、今後さらにヒトを含めた生物において、同様の研究ならびに Hsp90 を取り巻く因子の同定が望まれる。

文献

- 1) Y. Xu, and S. Lindquist: Heat-shock protein hsp90 governs the activity of pp60v-src kinase. *Proc. Natl. Sci. USA.* **90**, 7074-7078 (1993)
- 2) R. Aligue, H. Akhavan-iak, and P. Russell: A role for Hsp90 in cell cycle control: Wee1 tyrosine kinase activity requires interaction with Hsp90. *EMBO J.* **13**, 6099-6106 (1994)
- 3) L. Stepanova, X. Leng, S.B. Parker, and J.W. Harper: Mammalian p50/Cdc37 is a protein kinase-targeting subunit of Hsp90 that binds and stabilizes Cdk4. *Genes Dev.* **10**, 1491-1502 (1996)
- 4) A. van der Straten, C. Rommel, B. Dickson, and E. Hafen: The heat shock protein 83 (Hsp83) is required for Raf-mediated signaling in *Drosophila*. *EMBO J.* **16**, 1961-1969 (1997)
- 5) P. Csermely, T. Schneider, C. Soti, Z. Prohaska, and G. Narkai: The 90-kDa molecular chaperone family: structure, function, and clinical applications. A comprehensive review. *Pharmacol. Ther.* **79**, 129-168 (1998)
- 6) W.B. Pratt: The hsp90-based chaperone system: involvement in signal transduction from a variety of hormone and growth factor receptors. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **217**, 420-431 (1998)
- 7) P. Coumailleau, B. Billoud, P. Sourrouille, N. Moreau, and N. Angelier: Evidence for a 90 kDa Heat-Shock Protein Gene Expression in the Amphibian Oocyte. *Dev. Biol.* **168**, 247-258 (1995)
- 8) L. Yue, T.L. Karr, D.F. Nathan, H. Swift, S. Srinivasan, and S. Lindquist: Genetic Analysis of Viable Hsp90 Alleles

- Reveals a Critical Role in *Drosophila* Spermatogenesis. *Genetics* **151**, 1065-1079 (1999)
- 9) Y. Yamaguchi, K. Murakami, M. Furusawa, and J. Miwa: Germline-specific Antigens Identified by Monoclonal Antibodies in the Nematode *Caenorhabditis elegans*. *Develop. Growth Differ.* **25**, 121-131 (1983)
 - 10) T. Inoue, K. Takamura, H. Yamae, N. Ise, M. Kawakami, Y. Tabuse, J. Miwa, and Y. Yamaguchi: *Caenorhabditis elegans* DAF-21 (HSP90) is characteristically and predominantly expressed in germline cells: Spatial and temporal analysis. *Develop. Growth Differ.* **45**, 369-376 (2003)
 - 11) D.A. Birnby, E.M. Link, J.J. Vowels, H. Tian, P.L. Colacurcio, and J.H. Thomas: A transmembrane guanylyl cyclase (DAF-11) and Hsp90 (DAF-21) regulate a common set of chemosensory behaviors in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **155**, 85-104 (2000)
 - 12) F. Piano, A.J. Schetter, M. Mangone, L. Stein, and K.J. Kemphues: RNAi analysis of genes expressed in the ovary of *Caenorhabditis elegans*. *Curr. Biol.* **10** (24), 1619-22 (2000)
 - 13) E.M. Hedgecock, J.G. Culotti, and D.H. Hall: The *unc-5*, *unc-6*, and *unc-40* genes guide circumferential migration of pioneer axons and mesodermal cells on the epidermis of *C. elegans*. *Neuron* **4**, 61-85 (1990)
 - 14) K. Nishiwaki: Mutations Affecting Symmetrical Migration of Distal Tip Cells in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **152**, 985-997 (1999)
 - 15) M. Su, D.C. Merz, M.T. Killeen, Y. Zhou, H. Zheng, J.M. Kramer, E.M. Hedgecock, and J.G. Culotti: Regulation of the UNC-5 netrin receptor initiate the first reorientation of migrating distal tip cells in *Caenorhabditis elegans*. *Development* **127**, 585-594 (2000)
 - 16) K. Nishiwaki, N. Hisamoto, and Matsumoto: A metalloprotease disintegrin that controls cell migration in *Caenorhabditis elegans*. *Science* **288**, 2205-2208 (2000)
 - 17) K. Konfeld: Vulval development in *Caenorhabditis elegans*. *Trends Genet.* **13**, 55-61 (1997)
 - 18) S.W. Emmons: From cell fates to morphology: developmental genetics of the *Caenorhabditis elegans* male tail. *Bioessays* **14**, 309-316 (1992)
 - 19) S. Brenner: The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **77**, 71-94 (1976)
 - 20) I. Maeda, Y. Kohara, M. Yamamoto, and A. Sugimoto: Large-scale analysis of gene function in *Caenorhabditis elegans* by high-throughput RNAi. *Curr. Biol.* **11**, 11-6 (2001)
 - 21) B.K. Eustace, T. Sakurai, J.K. Stewart, D. Yimlamai, C. Unger, C. Zehetmeier, B. Lain, C. Torella, S.W. Henning, G. Beste, B.T. Scroggins, L. Neckers, L.L. Ilag, and D.G. Jay: Functional proteomic screens reveal an essential extracellular role for hsp90 alpha in cancer cell invasiveness. *Nat. Cell Biol.* **6**, 507-514 (2004)
 - 22) R. Blelloch, and J. Kimble: Control of organ shape by a secreted metalloprotease in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **399**, 586-590 (1999)
 - 23) T.W. Schulte, M.V. Blagosklonny, L. Romanova, L. J.F. Mushinski, B.P. Monia, J.F. Johnston, P. Nguyen, J. Trepel, and L.M. Neckers: Destabilization of Raf-1 by geldanamycin leads to disruption of the Raf-1-MEK-Mitogen-Activated-Protein kinase signaling pathway. *Mol. Cell. Biol.* **16**, 5839-5845 (1996)

線虫 *C. elegans* *daf-21/Hsp90* 異常の体細胞分化への影響

- 24) T. Doniach: Activity of the sex-determining gene TRA-2 is modulated to allow spermatogenesis in the *C. elegans* hermaphrodite. *Genetics* **114**, 53-76 (1986)
- 25) P. Workman: Overview: translating Hsp90 biology into Hsp90 drugs. *Curr. Cancer Drug Targets*. **3**, 297-300 (2003)
- 26) A. Kamal, L. Thao, J. Sensintaffar, L. Zhang, M.F. Boehm, L.C. Fritz. and F.J. Burrows: A high-affinity conformation of Hsp90 confers tumor selectivity on Hsp90 inhibitors. *Nature* **425**, 407-410 (2004)

Annu. Rep. Fac. Life Sci. Biotechnol., Fukuyama Univ. (4), 1-9 (2005)

**Identification of somatic phenotypes caused by
daf-21/Hsp90 mutation in *Caenorhabditis elegans***

Tadao Inoue, Sonoko Aoshima, and Yasunori Yamaguchi

Department of Biotechnology, Faculty of Life Science and Biotechnology, Fukuyama University, Fukuyama,
Hiroshima 729-0292, Japan

Hsp90 is one of the major heat shock protein families and is known to chaperone various kinds of target proteins during normal development. Although many client proteins that require the function of Hsp90 have been identified, the effect of Hsp90 impairment for cellular function is poorly understood. We here describe that a novel phenotype for *daf-21* (*C. elegans* Hsp90) mutant strain, which showed the following abnormalities; 1) distal tip cells (DTCs) migration defect, 2) vulval development defect, and 3) male tail morphological defect. Whereas DTC migration defect was observed in both *daf-21* (*p673*) mutant strain and *daf-21* (*RNAi*) animals, the latter two defects were only seen in *daf-21* (*RNAi*) animals. Together, DAF-21/Hsp90 plays multiple roles during somatic lineage development.

Key words: DAF-21, Hsp90, *C. elegans*, RNAi, DTCs