

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390053

研究課題名(和文)細胞間RNA干渉伝播のメカニズムの解析

研究課題名(英文)Molecular analysis of systemic RNAi spreading across cells

研究代表者

三谷 昌平(Mitani, Shohei)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：90192757

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,300,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子機能は転写と翻訳を介して機能蛋白分子となる。近年の研究では、非コードRNAの存在が注目され、その典型的な例としてRNA干渉という現象が良く知られている。RNAiは細胞間を伝播することが知られており、これをsystemic RNAiと呼んでいる。線虫では顕著であるが、哺乳類細胞でも類似の現象が観察されている。我々は、線虫を用いてsystemic RNAiに異常が起こる遺伝子のスクリーニングを行い、rsd-3を見出した。rsd-3は生殖腺でのみ働くと思われていたが、体細胞でも働くこと、局在は、trans Golgi networkおよびエンドソームであることを見出した。

研究成果の概要(英文)：Gene functions exert by serial actions of transcription and translation, resulting functional proteins. Recently, it is known that non-coding RNAs are very important for these processes. As an example, RNA interference (RNAi) often suppresses gene expression and regulates chromatin structures. In *Caenorhabditis elegans*, in which RNAi was found for the first time, a phenomenon systemic RNAi has been known: effects of RNAi transmits from one cell to others and the whole body. This phenomenon is also known to exert in mammalian bodies. We used *C. elegans* to search for genes defective in systemic RNAi and found that rsd-3 is required for the spread of RNAi between cells. rsd-3 was described to be required for systemic RNAi in germ cells but not in somatic cells. We found that rsd-3 is required for both germ cells and somatic cells. rsd-3 was expressed ubiquitously and localized to endosomes and trans Golgi network. We suggest that rsd-3 acts for systemic RNAi via vesicular transport.

研究分野：分子遺伝学、細胞生理学

キーワード：RNAi 線虫 伝播 rsd-3

## 1. 研究開始当初の背景

RNAi (RNA 干渉) は、今日の生命科学において、最も多用されている技術の1つである。多くの場合には、細胞への投与はリポフェクション法などを用いている。一方で、RNAi が発見された 1998 年当初より、RNAi の効果が細胞間を伝播することが知られており、生体内では、一種の信号伝達系として用いられていると考えられる。これは、近年、miRNA が免疫細胞などでは、細胞間で移動して作用することが確認されつつあることで重要度が高くなっている。一方で、このような小分子 RNA がどのようにして細胞から放出され、どのようにして、別の細胞に取り込まれるのかは良く分かっていない。本研究では、全身性 RNAi (systemic RNAi) が良く起こる線虫をモデル系に、このような生命現象に関わる分子とその作用機序を明らかにする。

## 2. 研究の目的

RNAi (RNA 干渉) という現象は、線虫で発見され、Fire と Mello らによって発表された当初から、特定の細胞で起こった mRNA の分解が他の細胞に伝播することが知られていた (Nature, 1998)。この現象は、mRNA の分解にとどまらず、広い意味では、microRNA (miRNA) の作用や生体内でクロマチンの構造・機能の調整に使われる内在性 RNAi とも共通することが Mello 研と我々の共同研究によって示され、広く認められるに至っている (Cell, 2006)。従って、発生制御や発癌などに関わる RNAi の生体内での本来の機能は着実に解明されつつあるが、初期から知られていた細胞間の伝播については、まだあまり解析が進んでいない。これは線虫だけでなく、哺乳類などで、同様の現象が知られるようになった報告はあるが (Knapp ら、J. Neurochem, 2006; Valadi ら、Nature Cell Biol., 2007)。未だにそのメカニズムについてはごくわずしか解明されていない。細胞間の伝播の理解のためには、(1) 細胞からの二本鎖 RNA の放出機構 (2) 放出された二本鎖 RNA が細胞内へ取り込み機構が解明されることが重要である。

現在までに、いくつかのグループが二本鎖 RNA の取り込みについての論文を発表しているが、重要な知見としては、取り込みメカニズムに関わるものが知られている (Andino ら、Nature Cell Biol. 2006)。その結果は、ショウジョウバエの細胞を用いたスクリーニングで、クラスリンや Rab7 などのエンドサイトーシスに関わる分子が重要とされている。一方では、Hunter らのグループは、SID-1 という膜蛋白質分子が RNAi 伝播に必要なことを、線虫を用いて明らかにし (Hunter ら、Science, 2002) 哺乳類にもオースログと思われる分子が存在し、それが二本鎖 RNA を選択的に通すチャンネル分子であると主張している (Hunter ら、RNA, 2011)。これらの報告は、矛盾があるかのように思え

るし、Hunter のグループ以外では、チャンネル説は認められていない。我々は、線虫をモデルとして、トランスジェニック解析、feeding RNAi 解析 (餌の大腸菌に二本鎖 RNA を発現させて線虫に食べさせることで RNAi を起こすことができる) および遺伝子欠失変異体の分離をシステムティックに行う技術を持っているので、上記の二本鎖 RNA の放出と取り込みのメカニズムを線虫を用いて解明し、そのメカニズムのどこが哺乳類細胞で保存されているのかを調べて、このような現在まで解明されていない矛盾点に対して、分子・細胞レベルでのメカニズムを明らかにする実験を進めることにした。

エンドサイトーシス仮説に対しては、Andino らは、クラスリン、クラスリンアダプタ、Rab7 分子などが必須であることを根拠にしている。予め、RNAi を用いて、RNAi に必要な分子をロックダウンしておき、その後、別の遺伝子に対して RNAi を施すことで候補遺伝子が systemic RNAi に必要であるかどうかを検証する方法である。しかし、この方法には、最初の RNAi 処理の時点で、systemic RNAi に必要な分子が減少することで、RNAi が起こり難くなる欠点があり、スクリーニングとしては良いが、決定的な証拠としては不十分である。

そこで、我々は、線虫の rab-7 遺伝子変異体に対して RNAi を行うことで検証を行った。rab-7 遺伝子変異体は、不妊となり、エンドサイトーシスそのものはもちろんのこと、二次的な種々の表現型を呈するが、ヘテロ接合体から生まれたホモ接合体は成虫まで発生するので、体細胞への RNAi の効果を調べることが可能である。rab-7 変異体は、体細胞への複数種の遺伝子に対しての RNAi の効果は、ことごとく野生型と同じであり、必要ないことが明らかになった。さらに、エンドサイトーシスメカニズムとして最も代表的な遺伝子である rab-5 の変異体を分離したところ、胚性致死表現型を呈した。この変異体に、rab-5 遺伝子を導入し、染色体外ミニクロモソーム・トランスジェニックとすると、致死表現型が回復した。rab-5 遺伝子とマーカーである DsRed を持つミニクロモソームが一定の頻度で脱落することを利用し、rab-5 遺伝子の有無と、RNAi の取り込み機能を GFP に対する RNAi を用いてモザイク解析を行った。その結果、rab-5 分子の発現が起こっているか否かに関わらず、GFP に対しての systemic RNAi が起こっていることが示された。

これらの事実は、上記の 2 つの仮説はどちらも容易に信じ難いことを示している。そこで、我々は、様々な小胞輸送に関わる可能性のある分子に対して、上記のような RNAi スクリーニングを行うことにした。すなわち、筋肉に GFP をトランスジェニック発現させておいた野生型バックグラウンドの線虫に対して、予め、約 200 種類の候補遺伝子の

RNAi クローンで feeding RNAi 処理しておき、次に GFP に対する feeding RNAi を加える。GFP に対する二本鎖 RNA は腸管から分泌され、擬体腔（細胞外液）を介して、筋肉に取り込まれると効果を発揮する。もし、systemic RNAi が起こらないと、GFP に対する RNAi が無効となるはずである。スクリーニングの結果、エンドサイトーシスの中でも、カベオリン依存性の経路とマクロピノサイトーシス経路に関わる分子が複数個得られた。一方、最も良く知られているクラスリン依存性経路に関わる分子では、systemic RNAi は野生型と同様であった。それ以外にも、機能未知の小胞輸送関連分子ホモログが複数得られた。予備的ではあるが、取り込み経路に関しては、変異体を用いた実験で再現性が得られている。

本研究では、(1) これらの候補分子が二本鎖 RNA の放出経路あるいは、取り込み経路に関わっているか、変異体を用いて確認データを取得すること、(2) 現象としては再現性があるが、分子機構としてメカニズムが未解明の SID-1 分子との関連を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) systemic RNAi に関わる分子の小胞輸送経路の特定とメカニズムの解析

RNAi スクリーニングによって得られた小胞輸送関連分子の変異体で、モザイク解析およびコンディショナルノックアウト法を用いて放出と取り込みのどちらに関わるかを明らかにする。

(2) 候補分子が SID-1 と関連してどのように働いているかのメカニズムの解析

候補分子の欠失変異体と種々の遺伝子に対しての systemic RNAi への効果を解析すると同時に、sid-1 変異体のサプレッサースクリーニングにより、新たな SID-1 関連分子を取得する。

### 4. 研究成果

遺伝子機能は基本的にはゲノム DNA から mRNA へ転写され、その後、蛋白質へ翻訳されて機能分子となることで達成されている。近年の研究では、非コード RNA の存在が注目され、その典型的な例として RNA 干渉という現象が良く知られており、また、生命科学実験で多用されるに至っている。RNA 干渉は、二本鎖 RNA が細胞に入ると、同じ配列の mRNA を分解する現象である。線虫を用いた研究で発見されたが、その当初から特定の細胞で起こると細胞間を伝播し、別の細胞の同じ遺伝子の mRNA を分解することで全身性の作用に至ることが知られていた。これを systemic RNAi と呼んでいる。線虫では、特に顕著であるが、哺乳類細胞でも類似の現象が観察されている。我々は、線虫を用いて systemic RNAi に異常が起こる遺伝子のスクリーニングを行った。小胞輸送関連の分子の変異体に feeding RNAi を行い、RNAi に抵抗性の変異体を見出した。スクリーニングに使用した変

異体遺伝子としては、ctbp-1 と呼ばれる遺伝子であったが、レスキュー実験を行った結果、実際の表現型を呈しているのは別の変異であることが疑われた。そこで、該当ストレインよりゲノム DNA を抽出し、Ion Torrent という次世代シーケンサーで変異体の全ゲノムシーケンス解析を行った。その結果、rsd-3 と呼ばれる遺伝子に欠失が入っていることが分かった。rsd-3 の欠失変異体の追加の欠失変異体を分離したところ、同一の表現型を呈したことから、スクリーニングに使用した株の ctbp-1 変異と rsd-3 変異を分離した結果、ctbp-1 変異には表現型がなく、rsd-3 変異には表現型があったこと、rsd-3 のトランスジェニックによりこの変異の表現型が野生型に回復したことから、原因遺伝子は rsd-3 であることが確立した。RSD-3 の局在は、trans Golgi network およびエンドソームであることなどを記載し、論文を投稿中である。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 38 件)

(1) Imae R, Inoue T, Nakasaki Y, Uchida Y, Ohba Y, Mitani S and Arai H: LYCAT, a homologue of *C. elegans* acl-8, acl-9 and acl-10, determines the fatty acid composition of phosphatidylinositol in mice. *J. Lipid Res.*, 53(3): 335-47 (2012).

(2) Kuwahara T, Tonegawa R, Mitani S, Iwatsubo T: Phosphorylation of  $\alpha$ -synuclein at Ser129 reduces neuronal dysfunction by lowering its membrane-binding property in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem.*, Mar 2, **287**(10):7098-109 (2012).

(3) Murata D, Nomura KH, Dejima K, Mizuguchi S, Kawasaki N, Matsuishi-Nakajima Y, Ito S, Gengyo-Ando K, Kage-Nakadai E, Mitani S and Nomura K: GPI anchor synthesis in the distal tip cells is indispensable for development and differentiation of germline cells of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Mol. Biol. Cell*, **23** (6): 982-995 (2012).

(4) Billi AC, Alessi AF, Khivansara V, Han T, Freeberg M, Mitani S and Kim JK: The *Caenorhabditis elegans* HEN1 ortholog, HENN-1, methylates and stabilizes select subclasses of germline small RNAs. *PLoS Genetics*, 2012 Apr 19, **8** (4) e102617.

(5) Yoshina S, Sakaki K, Yonezumi-Hayashi A, Gengyo-Ando K, Inoue H, Iino Y & Mitani S: Identification of a novel ADAMTS9/GON-1 function for protein transport from the ER to the Golgi. *Mol. Biol. Cell*, **23**, 1728-1741 (2012).

(6) Sakaki K, Yoshina S, Xiaohua S, DeSantis MR, Xiao M, Mitani S and

- Kaufman R: RNA surveillance-associated genes are required for endoplasmic reticulum homeostasis. *Proc.N.A.S.* **109** (21), 8079-8084 (2012).
- (7) Matunaga Y, Gengyo-Ando K, Mitani S, Iwasaki T and Kawano T: Physiological function, expression pattern, and transcriptional regulation of a *Caenorhabditis elegans* insulin-like peptide, INS-18. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2012 Jul 6; **423**(3):478-483.
- (8) Mapes J, Chen Y-Z, Kim A, Mitani S, Kang B-H and Xue D: CED-1, CED-7, and TTR-52 Regulate Surface Phosphatidylserine Expression on Apoptotic and Phagocytic Cells. *Curr. Biol.* 2012 Jul 24, **22**, 1267-1275.
- (9) Zhang Y, Wang H, Kage-Nakadai E, Mitani S and Wang X: *C. elegans* Secreted Lipid-Binding Protein NRF-5 Mediates PS Appearance on Phagocytes for Cell Corpse Engulfment. *Curr. Biol.*, 2012 Jul 24, **22**, 1276-1284.
- (10) Nawa M, Kage-Nakadai E, Aiso S, Okamoto K, Mitani S, and Matsuoka M: Reduced Expression of BTBD10, an Akt activator, Drives Impairment of Motor Function. *Cell Death and Differentiation*, 2012 Aug; **19**(8):1398-1407.
- (11) Hagiwara K, Nagamori S, Umemura YM, Ohgaki R, Tanaka H, Murata D, Nakagomi S, Nomura KH, Kage-Nakadai E, Mitani S, Nomura K, Kanai Y: NRFL-1, the *C. elegans* NHERF Orthologue, Interacts with Amino Acid Transporter 6 (AAT-6) for Age-Dependent Maintenance of AAT-6 on the Membrane. *PLoS One*, **7**(8), e43050 (2012).
- (12) Lee H-C, Kubo T, Kono N, Kage-Nakadai E, Gengyo-Ando K, Mitani S, Inoue T, Arai H: Depletion of mboa-7, an enzyme that incorporates polyunsaturated fatty acids into phosphatidylinositol (PI), impairs PI-3-phosphate signaling in *C. elegans*. *Genes to Cells*, **17**, 748-757 (2012).
- (13) Tada M, Gengyo-Ando K, Kobayashi T, Fukuyama M, Mitani S, Kontani K, Katada T: The neuronally expressed Ras-family GTPase Di-Ras modulates neurotransmitter release in *Caenorhabditis elegans*. *Genes to Cells*, **17**, 778-789 (2012).
- (14) Geng X, Harry B, Zhou Q, Skeen-Gaar, RR, Ge X, Lee ES, Mitani S, Ge X, and Xue D: Hepatitis B Virus X protein targets the Bcl-2 protein CED-9 to induce intracellular Ca<sup>2+</sup> increase and cell death in *C. elegans*. *Proc.N.A.S.* 109, 18465-18470 (2012).
- (15) The *C. elegans* Deletion Mutant Consortium (Barstead R, Moulder G, Cobb B, Frazee S, Henthorn D, Holmes J, Jerebie D, Landsdale M, Osborn J, Pritchett C, Robertson J, Rummage J, Stokes E, Vishwanathan M, Mitani S, Gengyo-Ando K, Funatsu O, Hori S, Imae R, Kage-Nakadai E, Kobuna H, Machiyama E, Motohashi T, Otori M, Suehiro Y, Yoshina S, Moerman D, Edgley M, Adair R, Allan BJ, Au V, Chaudhry I, Cheung R, Dadivas O, Eng S, Fernando L, Fisher A, Flibotte S, Gilchrist E, Hay A, Huang P, Hunt RW, Kwitkowski C, Lau J, Lee N, Liu L, Lorch A, Luck C, Maydan J, McKay S, Miller A, Mullen G, Navaroli C, Neil S, Hunt-Newbury R, Partridge M, Perkins J, Rankin A, Raymant G, Rezanian N, Rogula A, Shen B, Stegeman G, Tardif A, Taylor J, Veiga M, Wang T and Zapf R): Large scale screening for targeted knockouts in the *C. elegans* genome. *G3: genes, genomes and genetics.* **2**, 1415-1425 (2012).
- (16) Matunaga Y, Nakajima K, Gengyo-Ando K, Mitani S, Iwasaki T and Kawano T: A *Caenorhabditis elegans* Insulin-like Peptide, INS-17: Its Physiological Function and Expression Pattern. *Biosci. Biotech. Biochem.* **76**, 2168-2172 (2012).
- (17) Li X, Chen B, Yoshina S, Cai T, Yang F, Mitani S, and Wang X: Inactivation of *Caenorhabditis elegans* aminopeptidase DNPP-1 restores endocytic sorting and recycling in tat-1 mutants. *Mol. Biol. Cell*, **24**, 1163-1175. (2013)
- (18) Ohba Y, Sakuragi T, Kage-Nakadai E, Tomioka NH, Kono N, Imae R, Inoue A, Aoki J, Ishihara N, Inoue T, Mitani S and Arai H: Mitochondria-type GPAT is required for mitochondrial fusion. *EMBO J*, **32**, 1265-1279 (2013).
- (19) Sasaki A, Nakae I, Nagasawa M, Hashimoto K, Abe F, Saito K, Fukuyama M, Gengyo-Ando K, Mitani S, Katada T and Kontani K: Arl8/ARL-8 functions in apoptotic cell removal by mediating phagolysosome formation in *Caenorhabditis elegans*. *Mol. Biol. Cell*, **24**, 1584-1592 (2013).
- (20) Ding Y-H, Du Y-G, Luo S, Li Y-X, Li T-M, Yoshina S, Wang X, Klage K, Mitani S, Ye K, Dong M-Q: Characterization of PUD-1 and PUD-2, Two Proteins Up-Regulated in a Long-Lived daf-2 Mutant. *PLoS One* **8** (6), e67158, June 2013.
- (21) Smith CJ, O'Brien T, Chatzigeorgiou M, Spencer WC, Feingold-Link E, Husson SJ, Husson SJ, Hori S, Mitani S, Gottschalk A, Schafer WR, Miller DM III:

- Sensory Neuron Fates Are Distinguished by a Transcriptional Switch that Regulates Dendrite Branch Stabilization. *Neuron* 79, 266-280, July 24, 2013
- (22) Xie C, Miyasaka T, Yoshimura S, Hatsuta H, Yoshina S, Kage-Nakadai E, Mitani S, Murayama S, Ihara Y: The homologous carboxyl-terminal domains of microtubule-associated protein 2 and Tau induce neuronal dysfunction and have differential fates in the evolution of neurofibrillary tangles. *PLoS One*, 9 (2) e89796, 2014
- (23) Kage-Nakadai E, Imae R, Yoshina S, Mitani S. Methods for single/low-copy integration by ultraviolet and trimethylpsoralen treatment in *Caenorhabditis elegans*. *Methods*. 2014 Aug 1;68(3):397-402. doi: 10.1016/j.ymeth.2014.02.036.
- (24) Wu Y, Cheng S, Zhao H, Zou W, Yoshina S, Mitani S, Zhang H, Wang X. PI3P phosphatase activity is required for autophagosome maturation and autolysosome formation. *EMBO Rep*. 2014 Sep;15(9):973-81. doi: 10.15252/embr.201438618.
- (25) Akiyoshi S, Nomura KH, Dejima K, Murta D, Matsuda A, Kanaki N, Takagi T, Mihara H, Nagaishi T, Furukawa S, Gengyo-Ando K, Yoshina S, Mitani S, Suzuki Y, Shikanai T, Narimatsu H, Nomura K: RNAi screening of all human glycogene orthologs in the nematode *Caenorhabditis elegans* and the construction of the *C. elegans* glycogene database (CGGDB). *Glycobiology*. 015 Jan;25(1):8-20. doi:10.1093/glycob/cwu080. Epub 2014 Aug 4.
- (26) Nakamura F, Kumeta K, Hida T, Isono T, Nakayama Y, Kuramata-Matsuoka E, Yamashita N, Uchida Y, Ogura K, Gengyo-Ando K, Mitani S, Ogino T, Goshima Y. Amino- and carboxyl-terminal domains of Filamin-A interact with CRMP1 to mediate Sema3A signalling. *Nat Commun*. 2014 Oct 31;5:5325. doi: 10.1038/ncomms6325.
- (27) Kage-Nakadai E, Imae R, Suehiro Y, Yoshina S, Hori S, Mitani S. A Conditional Knockout Toolkit for *Caenorhabditis elegans* Based on the Cre/loxP Recombination. *PLoS One*. 2014 Dec 4;9(12):e114680. doi: 10.1371/journal.pone.0114680.
- (28) Kikuchi T, Shibata Y, Kim HS, Kubota Y, Yoshina S, Mitani S, Nishiwaki K. The BED finger domain protein MIG-39 halts migration of distal tip cells in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*. 2015 Jan 15;397(2):151-61. doi: 10.1016/j.ydbio.2014.10.008.
- (29) Uehara T, Kage-Nakadai E, Yoshina S, Imae R, Mitani S. The Tumor Suppressor BCL7B Functions in the Wnt Signaling Pathway. *PLoS Genet*. 2015 Jan 8;11(1):e1004921. doi: 10.1371/journal.pgen.1004921.
- (30) Tsai HY, Chen CC, Conte D Jr, Moresco JJ, Chaves DA, Mitani S, Yates JR 3rd, Tsai MD, Mello CC: A Ribonuclease Coordinates siRNA Amplification and mRNA Cleavage during RNAi. *Cell*. 2015 Jan 29;160(3):407-19. doi: 10.1016/j.cell.2015.01.010.
- (31) Moteki Y, Onda H, Kasuya H, Yoneyama T, Okada Y, Hirota K, Mukawa M, Nariai T, Mitani S, Akagawa H. Systematic Validation of RNF213 Coding Variants in Japanese Patients With Moyamoya Disease. *J Am Heart Assoc*. 2015 May 11;4(5). pii: e001862. doi: 10.1161/JAHA.115.001862.
- (32) Yoshina S, Mitani S. Loss of *C. elegans* GON-1, an ADAMTS9 Homolog, Decreases Secretion Resulting in Altered Lifespan and Dauer Formation. *PLoS One*. 2015 Jul 28;10(7):e0133966. doi: 10.1371/journal.pone.0133966.
- (33) Chen AT, Guo C, Itani OA, Budaitis BG, Williams TW, Hopkins CE, McEachin RC, Pande M, Grant AR, Yoshina S, Mitani S, Hu PJ. Longevity Genes Revealed by Integrative Analysis of Isoform-Specific daf-16/FoxO Mutants of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 2015 Oct;201(2):613-29. doi: 10.1534/genetics.115.177998.
- (34) Liu K, Jian Y, Sun X, Yang C, Gao Z, Zhang Z, Liu X, Li Y, Xu J, Jing Y, Mitani S, He S, Yang C. Negative regulation of phosphatidylinositol 3-phosphate levels in early-to-late endosome conversion. *J Cell Biol*. 2016 Jan 18;212(2):181-98. doi: 10.1083/jcb.201506081.
- (35) Tanji T, Nishikori K, Haga S, Kanno Y, Kobayashi Y, Takaya M, Gengyo-Ando K, Mitani S, Shiraishi H, Ohashi-Kobayashi A. Characterization of HAF-4 and HAF-9-localizing organelles as distinct organelles in *Caenorhabditis elegans* intestinal cells. *BMC Cell Biol*. 2016 Jan 27;17(1):4. doi: 10.1186/s12860-015-0076-2.
- (36) Miyasaka T, Xie C, Yoshimura S, Shinzaki Y, Yoshina S, Kage-Nakadai E, Mitani S, Ihara Y. Curcumin improves tau-induced neuronal dysfunction of nematodes. *Neurobiol Aging*. 2016 Mar;39:69-81. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.11.004.
- (37) Yoshina S, Suehiro Y, Kage-Nakadai E &

Mitani S: Locus-specific integration of extrachromosomal transgenes in *C. elegans* with the CRISPR/Cas9 system. *BBRep* 2016 Mar; 5, 70-76. doi: 10.1016/j.bbrep.2015.11.017

Zhao P, Zhang Z, Lv X, Zhao X, Suehiro (38) Y, Jiang Y, Zhang M, Zhao G, Wang X, Mitani S, Gong H and Xue D: One-step homozygosity in gene editing by an improved CRISPR/Cas9 system. *Cell Res* 26: 633-636 (2016 May). doi:10.1038/cr.2016

〔学会発表〕(計 2 件)

Hori S, Oda S, Suehiro Y, Iino Y, Mitani S: Combination of optogenetics and reverse genetics: novel behavior screening for regulators of neural differentiation. 19th International *C. elegans* Meeting (2013 Jun).

三谷昌平, 吉名佐和子, 堀沙耶香, 末廣勇司, 出嶋克史, 岩田悟, 本橋智子: NBRP「線虫」: 遺伝子機能解析のための欠失変異体の収集・保存・提供、第 37 回日本分子生物学会 (2014 Nov).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.twmu.ac.jp/Basic/physiol2/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

三谷 昌平 (MITANI, Shohei)

東京女子医科大学医学部教授

研究者番号 : 90192757

(2)研究分担者

該当せず ( )

研究者番号 :

(3)連携研究者  
該当せず ( )

研究者番号 :