

南極センチュウ *Panagrolaimus davidi*、および乾燥耐性クマムシ *Ramazzottius varieornatus* の乾燥耐性タンパク質の機能解析

鹿児島 浩^{1,2}、國枝 武和³

¹新領域融合研究センター、²国立遺伝学研究所、³東京大学

Functional analysis of anti-desiccation proteins from Antarctic nematode, *Panagrolaimus davidi*, and Japanese anhydrobiotic tardigrade, *Ramazzottius varieornatus*

Hiroshi KAGOSHIMA^{1,2}, Takekazu KUNIEDA³

¹Transdisciplinary Research Integration Center, ²National Institute of Genetics, ³The University of Tokyo

Antarctica is an extreme environment for life. Antarctic nematode must remain either frozen or dry for much of the year, and they can grow only during short period when liquid water is available from melting snow in the summer. Even then, they are exposed to periodical freeze-thaw and dehydration-rehydration. Terrestrial tardigrades are also able to tolerate complete dehydration by reversibly switching to an ametabolic state. Dehydrated tardigrades showed extraordinary tolerance against various physical extremes. We aim to elucidate the molecular basis of these tolerant abilities to the extreme environment, using two animals, Antarctic nematode, *Panagrolaimus davidi*, and Japanese anhydrobiotic tardigrade, *Ramazzottius varieornatus*.

We analyzed 50,000 cDNA sequences from *P. davidi* and found that they constitutively expressed high level of stress response genes, such as anti-desiccation gene, *lea-1*. The LEA proteins are proposed to function in preventing protein-aggregation by interacting with desiccation-sensitive proteins in a dehydrated condition. *P. davidi* has two canonical- and four highly diverged-LEA protein family genes. Recent biochemical study on an anhydrobiotic tardigrade, *R. varieornatus*, identified two novel protein families, Cytoplasmic Abundant Heat Soluble (CAHS) and Secretory Abundant Heat Soluble (SAHS)*. They showed no significant similarity with LEA proteins, however changed their conformation to an α -helical structure in water-deficient conditions as LEA proteins do. Interestingly, a diverged-type LEA protein of *P. davidi* has intermediate feature between canonical LEA protein and CAHS proteins, suggesting that CAHS were evolved from canonical LEA through divergent LEA. We are going to introduce LEA/CAHS/SAHS genes into a model organism, *Caenorhabditis elegans*, and examine if these gene can confer anti-desiccation tolerance to this desiccation sensitive nematode.

南極は生命にとっての極限環境である。南極に生息するセンチュウは一年の大半を凍結、または乾燥した状態で過ごし、雪氷が溶け液体の水が得られる短い夏の間だけ成長する。しかも、夏期においてすら、この生物は凍結-再融解、および乾燥-加水される環境に耐えなくてはならない。陸上のクマムシもまた、完全な乾燥に対する耐性を持ち、その時の環境によって潜在生命状態と活動状態を何度も切り替えることが出来る。乾燥状態にあるクマムシは様々な物理的ストレスに対し強力な耐性を発揮する。我々は、南極センチュウ *Panagrolaimus davidi*、および日本産の乾燥耐性クマムシ *Ramazzottius varieornatus* の二種類の生物を用いて、これらの耐性の分子的機構を明らかにしたいと考えている。

我々は、*P. davidi* の 5 万の cDNA 配列を解析し、*lea-1* 遺伝子などの耐性遺伝子が恒常的に高いレベルで発現していることを見出した。LEA タンパク質は細胞が乾燥に曝された場合に、乾燥に弱いタンパク質に結合し、沈殿の形成を阻害することで細胞質タンパク質の安定化を行っていると考えられている。*P. davidi* は 2 種の典型的な LEA タンパク質と、4 種類の非典型的な LEA タンパク質を持つ。最近の研究で、強い乾燥耐性を持つ乾燥耐性クマムシ *R. varieornatus* から、CAHS (細胞質型熱安定性タンパク質)、SAHS (分泌型熱安定性タンパク質) の 2 種類の新規タンパク質が同定された*。これらは LEA タンパク質とは有意な相同性を持たないが、水が減少した場合に、LEA で見られるような α -ヘリックス構造への構造変換を起こすことが示されている。興味深いことに、*P. davidi* の非典型的な LEA は、典型的な LEA とクマムシの CAHS の中間的な配列を持っており、これらの進化的な関係が示唆された。我々は、LEA/CAHS/SAHS 遺伝子を、実験モデル生物 *Caenorhabditis elegans* に導入し、これらの遺伝子が乾燥に弱い生物である *C. elegans* に対し、耐性能を付与するかどうかについて検討する。

*Reference: Yamaguchi A. et al. (2012) PLoS ONE 7: e44209