

平成21年6月15日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18370093
 研究課題名(和文) 転写コリプレッサー複合体による細胞増殖と分化の制御メカニズム解析
 研究課題名(英文) A molecular study of the co-repressor complex in the regulation of cellular growth and differentiation
 研究代表者
 津田 玲生 (TSUDA LEO)
 国立長寿医療センター(研究所)・老化機構研究部・室長
 研究者番号:30333355

研究成果の概要：

ショウジョウバエ複眼を用いて転写コリプレッサー複合体である Ebi が G1 期制御にどのように働いているのかを検討した。その結果、G1 期制御に重要な機能を持つ転写因子である E2F に対して Ebi は①E2F の転写、②E2F 自身の転写活性、③E2F の蛋白質安定性という3つの異なる機能を有していることが明らかになった。このように1つの分子が E2F に対して多様に作用している例は報告が無く、G1 期の制御における新規の調節メカニズムであると考えられる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成18年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
平成19年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
平成20年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
年度			
年度			
総計	11,300,000	3,390,000	14,690,000

研究分野：発生遺伝学

科研費の分科・細目：生物科学・発生物学

キーワード：細胞増殖、G1 期抑制、シグナル伝達、ショウジョウバエ、転写コリプレッサー

1. 研究開始当初の背景

研究開始当初までに、ショウジョウバエ複眼形成において G1 期抑制に関与する因子 *ebi* を見いだしていた (Genes&Dev13, 954-965, 1999; Cell 110, 625-637, 2002)。Ebi は進化的に保存された分子であることから、機能解析から G1 期制御における新規の調節メカニズムの解明を期待して研究を行った。

2. 研究の目的

多細胞生物が形成する過程では、細胞増殖と分化が厳密に制御されていることが必須である。この細胞増殖と分化の相関を解明することは、多細胞生物の発生を理解するのに重要であるばかりではなく、幹細胞の分化制御機構にも関わってくると考えられ、再生医療等の応用医学においても重要である。本研究では、ショウジョウバエを用いて細胞増殖と

分化の制御に関わる分子機構の解明を目的とした。

3. 研究の方法

ショウジョウバエ複眼形成過程では全ての細胞は一旦 G1 期に抑制され、次に S 期に向かう細胞群と分化する細胞群に分けられている。このとき、上皮増殖因子(EGF)の活性化により S 期の細胞が増加し、分化細胞が減少する現象が明らかになっている。この系を用いて G1 期における *ebi* の機能を *in vivo* で検討した。さらに、生化学的手法を用いることにより E2F 自身の転写制御活性について E2F と共役する因子である RBF との複合体形成を検討した。さらに、E2F 自身の蛋白質安定性に Ebi がどのように働いているかについても検討を行った。

4. 研究成果

①EbiによるE2Fの転写制御

*ebi*の変異体ではE2F自身の発現減少が観察された。E2Fの転写制御については、これまでにポリコム群(PcG)による直接の発現抑制が報告されていることから、*ebi*とPcGとの関係を検討した結果、*ebi*はPcGの機能に対して抑制的に働くことによりE2Fの発現維持に働いていることが明らかになった(論文投稿準備中)。

②EbiとE2Fによる転写抑制作用

*ebi*の変異体ではE2Fの標的遺伝子の一部が発現上昇していることが明らかになった。生化学的な解析の結果、EbiはE2Fと共役して働くRBF(ショウジョウバエRbホモログ)と複合体を形成して、転写抑制に働いていることが明らかになった。

③EbiによるE2Fの安定性制御

*ebi*の変異体ではE2Fの蛋白質安定性が上昇し、反対に*ebi*の過剰発現ではE2Fの安定性の減少が観察された。詳しい解析の結果、EbiはCul-4と複合体を形成することによりE2Fにたいするユビキチンリガーゼとして機能していることが明らかになった。

以上の結果から、G1期制御に重要な機能を持つ転写因子であるE2Fに対してEbiは①E2Fの転写、②E2F自身の転写活性、③E2Fの蛋白質安定性という3つの異なる機能を有していることが明らかになった。このように1つの分子がE2Fに対して多様に作用している例は報告が無く、G1期の制御における新規の調節メカニズムであると考えられる。

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 5 件)

○ 主要文献

原著論文

1. Shindo, M., Wada, H., Kaido, M., Tateno, M., Aigaki, T., Tsuda, L., and Hayashi, S. Dual function of Src in the maintenance of adherens junction during tracheal epithelial morphogenesis. *Development* 135, 1355-1364, 2008.
2. Sugiyama, S., Moritoh, S., Furukawa, Y., Mizuno, T., Lim, Y.M., Tsuda, L., and Nishida, Y. Involvement of the mitochondrial protein translocator component Tim50 in growth, cell

proliferation and the modulation of respiration in *Drosophila*. *Genetics* 176, 927-936 (2007).

3. Tsuda, L. (Corresponding author), Kaido, M., Lim, Y.M., Kato, K., Aigaki, T., and Hayashi, S.* An NRSF/REST-like repressor under negative control of Su(H)/SMRTER/Ebi repressor complex regulates eye development in *Drosophila*. *EMBO J.* 25, 3191-3202 (2006).

著書

1. 津田玲生、ショウジョウバエをモデルとした老化・加齢性神経疾患の研究-ケミカルジェネティクスによるアプローチ、**基礎老化研究** 32, 7-14, 基礎老化学会 (2008).
 2. 津田玲生、感覚細胞の生存維持からみた老人性難聴、**ファルマシア** 43, 456-789, 日本薬学会 (2007).
[学会発表] (計 4 件)
 1. 林永美、ショウジョウバエ NRSF/REST 様因子 charlatan の翻訳後修飾と核内局在の調節機構、第 31 回日本分子生物学会、2008 年 12 月 10 日、神戸
 2. Leo Tsuda, A nuclear factor, *ebi*, inhibits G1-S transition by regulating E2F activity during photoreceptor cells development in *Drosophila*, 41st Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biology, May 28, 2008, Tokushima
 3. 山崎泰豊、ショウジョウバエにおける NRSF/REST 様転写因子 Charlatan の神経分化における機能、30 回日本分子生物学会、2007 年 12 月 12 日、横浜
 4. 林永美、ショウジョウバエ NRSF/REST 様因子 Charlatan の神経分化における制御メカニズム解析、30 回日本分子生物学会、2007 年 12 月 13 日、横浜
[図書] (計 1 件)
- 津田玲生、ショウジョウバエを用いた老化研究、「脳内老化制御とバイオマーカー-基礎研究と食品食材-」大澤俊彦、丸山和佳子監修、シーエムシー出版、pp33~pp45, 2009.

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

津田 玲生

国立長寿医療センター(研究所)・老化機構研究部・室長

30333355

(2) 研究分担者

林 永美(2006年～2007年)

国立長寿医療センター(研究所)・老化機構研究部・研究員

60421898

山崎泰豊(2008年)

国立長寿医療センター(研究所)・老化機構研究部・研究員

90435876

(3) 連携研究者

なし