

自己評価報告書

平成23年 4月 5日現在

機関番号：82648

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2012

課題番号：20370091

研究課題名 (和文) 上皮細胞の形態を制御する短鎖ペプチドの機能

研究課題名 (英文) Functional analysis of *Drosophila polished rice* gene.

研究代表者

影山 裕二 (KAGEYAMA YUJI)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構 (岡崎共通研究施設)・統合バイオサイエンスセンター・
特任助教

研究者番号：90335480

研究分野：分子遺伝学

科研費の分科・細目：生物化学・発生生物学

キーワード：ショウジョウバエ、器官形成、遺伝子発現制御、短鎖ペプチド

1. 研究計画の概要

(1) 成虫原基における *pri* 遺伝子の生理機能

pri 遺伝子は変態期の成虫原基に強く発現しており、成虫原基における *pri* の機能欠失は、剛毛や微小毛などの細胞突起の欠損を引き起こすことが明らかになっている。成虫原基における *pri* 遺伝子産物の作用点を明らかにする。

(2) 細胞内における PRI ペプチドの挙動

PRI ペプチドに対する抗体を作製し、あるいは PRI ペプチドを各種分子タグとの融合ペプチドとして発現するトランスジーンシステムを用いることにより、胚発生後期あるいは成虫原基細胞における PRI ペプチドの細胞内における挙動を解析する。

(3) PRI ペプチドと相互作用する因子の同定

PRI ペプチドに対する抗体を用いた免疫沈降法により、あるいは上述したタグ融合遺伝子を用いたアフィニティークロマトグラフィーにより PRI 結合タンパク質を部分精製し、マスマスペクトログラフィーによりその同定を行う。また、PRI 結合タンパク質をコードする遺伝子について突然変異システムを作製し、その表現型の解析を行うことにより、上皮細胞の形態形成における PRI ペプチドの分子機能を明らかにする。

2. 研究の進捗状況

(1) 成虫原基における *pri* 遺伝子の生理機能

pri 変異体の形態学な表現型解析は終了し、剛毛の欠損以外に、体表クチクラの黒変および変態期特異的な発生の停止が見られることが明らかになった。また、*pri* 遺伝子の発現が脱皮ホルモンであるエクジソンに依存

しており、*pri* 変異体ではエクジソン応答遺伝子の発現が顕著に低下していることから、エクジソン応答において *pri* 遺伝子が重要な役割を果たすことが明らかとなった。

(2) 細胞内における PRI ペプチドの挙動

ウサギおよびラットを免疫動物として PRI ペプチドに対する抗体を作製し、免疫染色を行ったが、内在性 *pri* 遺伝子の発現様式と一致する染色像を示す抗体は得られなかった。また、PRI ペプチドに HA および FLAG を付加したトランスジーンシステムを作成し、当該タグに対する抗体でウェスタンブロットおよび免疫染色による解析を行ったが、トランスジーン由来と考えられる翻訳産物は検出されなかった。これらの原因としては、個体内において PRI ペプチドが不安定である可能性が考えられ、現在培養細胞で *pri* 遺伝子を高発現する安定株を作成中であり、これを用いた解析を予定している。

(3) PRI ペプチドと相互作用する因子の同定

抗体および分子タグを用いた解析が不調であったため、*pri* 遺伝子と遺伝学的に相互作用する因子の解析を行った。培養細胞を用いた実験により、転写因子である SVB の転写活性化能が、*pri* 遺伝子の活性に依存して変化することを明らかにした。また、SVB は PRI ペプチド存在下で限定分解を受け、転写抑制因子から転写活性化因子に変換されることを明らかにした。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進捗している。

いくつかの点においては期待される結果が得られなかったが、計画を修正することに

より当初の目的は果たしつつある。

4. 今後の研究の推進方策

遺伝学的な解析の順調な進展に比して、生化学的な解析が不足しており、今後の研究計画もそれを補うようシフトする予定である。

5. 代表的な研究成果

(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2件)

① Takefumi Kondo, Plaza, S., Zanet, J., Benrabah, E., Valenti, P., Hashimoto, Y., Kobayashi, S., Payre, F. and Kageyama, Y. Small peptides switch the transcriptional activity of Shavenbaby during *Drosophila* Embryogenesis. *Science* 329: 336-339.

(2010) 査読あり

② Yoshiko Hashimoto, Kondo, K. and Kageyama, Y. Lilliputians get into the limelight - novel class of small peptide genes in morphogenesis. *Develop. Growth Diff.* 50: S269-276. (2008) 査読あり

[学会発表] (計8件)

① 近藤武史, Serge Plaza, Jennifer Zanet, Emilie Benrabah, Philippe Valenti, 橋本祥子, 小林悟, François Payre, 影山裕二 短鎖ペプチドによる転写因子の活性制御 第12回日本RNA学会年会 2010年7月 東京

② Yoshiko Hashimoto, Kondo, T. and Kageyama, Y. *polished rice* functions in ecdysone signaling. 50th Annual *Drosophila* Research Conference, Ecdysone Workshop, Chicago (USA), March 2009.

③ Yuji Kageyama, Hashimoto, Y. and Kondo, T. *polished rice*, a versatile gene regulator in *Drosophila* development. 50th Annual *Drosophila* Research Conference, March 2009, Chicago (USA)

④ Takefumi Kondo, Hashimoto, Y. and Kageyama, Y. *polished rice* that encodes 11 and 32 aa-peptide regulates subnuclear localization and activity of transcription factor Shavenbaby in denticle formation. 50th Annual *Drosophila* Research Conference, March 2009, Chicago (USA)

⑤ 影山裕二 Coding vs. Non-coding: Lessons from *Drosophila*. 第30回日本分子生物学会シンポジウム 2008年12月 神戸

⑥ 影山裕二、稲垣幸、橋本祥子 ショウジョウバエ *MRE32* RNA は雌特異的に羽化のタイミングを制御している 第10回日本RNA学会年会 札幌 2008年7月

⑦ Yoshiko Hashimoto, Kondo, T. and Kageyama, Y. A short peptide gene *polished rice* controls *Drosophila* metamorphosis through intercellular communication. 第41回日本発生生物学会年会 2008年5月 徳島

⑧ 近藤武史、橋本祥子、影山裕二 上皮形態形成を制御する短鎖ペプチド 第41回日本発生生物学会年会サテライトシンポジウム 2008年5月 徳島

[図書] (計1件)

影山裕二 共立出版 分子昆虫学-ポストゲノムの昆虫研究- 畠山正統他 編 2009年 pp. 68-79、pp. 118-128.