

自己評価報告書

平成23年4月25日現在

機関番号：82401
研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）
研究期間：2008～2012
課題番号：20112002
研究課題名（和文）mRNA局在と翻訳制御における細胞質RNP顆粒動態
研究課題名（英文）Cytoplasmic RNA granules for intracellular mRNA localization and translational control
研究代表者
中村 輝（NAKAMURA AKIRA）
独立行政法人理化学研究所・生殖系列研究チーム・チームリーダー
研究者番号：90323245

研究分野：発生生物学

科研費の分科・細目：

キーワード：ショウジョウバエ，生殖質，生殖顆粒，生殖細胞，RNA局在，RNP，翻訳制御，細胞骨格

1. 研究計画の概要

細胞の極性は、しばしば mRNA の細胞質内局在と、RNA 局在と連携した翻訳制御によって確立される。このような RNA 局在と翻訳制御との連携機構の解明は、発生・細胞生物学上の最重要課題の1つである。しかし、その分子基盤はいまだ良くわかっていない。本研究では、細胞極性、RNA 局在、翻訳制御、RNP 動態制御を包括的に研究する上で理想的なモデル系の一つである、ショウジョウバエ生殖質形成を対象として、RNA レベルで行われる制御の普遍的分子基盤の実体解明を目指す。具体的には、ショウジョウバエ母性 RNP 複合体の新規構成タンパク質として同定した Edc3 ホモログについて、突然変異体を作成し分子機能解析を進めた。また、生殖質の局在に異常を示す突然変異体の原因遺伝子として *CG8683* (酵母 *mon2* ホモログ) を同定し、その解析を進めた。

2. 研究の進捗状況

生殖質とは、生殖細胞形成分化に係わる母性 RNA と蛋白質が集積した細胞質領域であり、生殖顆粒と呼ばれる特異的 RNP が形成される。この過程では、*oskar* (*osk*) RNA の翻訳制御と卵母細胞後極への局在、Osk を核とした RNP アッセムブリとその維持が重要である。*osk* RNP 複合体の新規構成タンパク質として同定した Edc3 について、突然変異体を作成し解析を進めた。その結果、*edc3* を欠く卵母細胞において、*osk* RNA や Osk 蛋白質の異所的集積が観察された。さらに、Edc3 は既同定の *osk* 翻訳制御因子と生化学的、及び遺伝学的に相互作用を示し、足場タンパク質 (scaffold) として、構成タンパク質間の相互

作用の安定化や、因子の入れ替わりを仲立ちする機能を持っていると推定された。

一方、生殖質の卵母細胞後極への局在に異常を示す突然変異体原因遺伝子として同定した *mon2* についても解析を進めた。*mon2* 突然変異クローンを詳細に解析した結果、Mon2 は Oskar の活性に応答して卵母細胞皮層から細胞質へと伸長するアクチン繊維束の形成に必要であり、F アクチンに依存して繫留されていると考えられる生殖質が後極皮層から拡散してしまっていることを見出した。すなわち、Mon2 は Oskar の下流で生殖質繫留に機能する新規の因子であった。興味深いことに、Mon2 は、ゴルジ体及びエンドソーム膜上に局在することを明らかにした。さらに、Mon2 がアクチン重合因子 (actin nucleator) である Cappuccino, Spire と複合体を形成していること、これら重合因子の活性を制御する GTPase である Rho1 の卵母細胞後極側への蓄積に関わっていることを見出した。一方、Osk がエンドゾーム経路を活性化することを見出し過去に報告してきた。以上の結果から、Mon2 は Osk によって活性化されるエンドゾーム上において、アクチン骨格のリモデリングを制御することで、生殖質の卵母細胞後極皮層への繫留を指揮していると考えられた。

3. 現在までの達成度

③やや遅れている

(理由)

現在までのところ想定範囲を逸脱するような重篤な問題は生じていない。一方、研究進展のペースに関しては、予定よりも複雑な掛け合わせ実験等が必要となり、当初の見込みよりも多少遅延している。また、Mon2 の

論文に関して、結果として複数の雑誌に投稿することとなり reviewing にかなり時間がかかってしまった。今後、研究期間内に出来るだけ質の高い論文を複数発表するように、要領よく効率的な実験の実施に努めていく。

4. 今後の研究の推進方策

突然変異体の表現型から、Edc3 は母性 RNP 顆粒内で足場タンパク質 (scaffold) として、構成タンパク質間の相互作用の安定化や、因子の入れ替わりを仲立ちする機能を持っていると予想している。そのような観点から、母性 RNP 構成タンパク質間相互作用の塩濃度依存性や密度勾配超遠心法などを用いた解析を進めていく。また、*edc3* 突然変異体では母性 RNP の輸送に遅延が起きているように観察されることから、RNP 輸送に係わることが知られているキネシンと Edc3 との相互作用について検討する。

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 9 件)

- ①. Tanaka, T, Kato, Y., Hanyu-Nakamura, K., Matsuda, K. and Nakamura, A. *Drosophila* Mon2 couples Oskar-induced endocytosis with actin remodeling for cortical anchorage of the germ plasm. *Development* in press. 査読有り
- ②. Yamada, K., Fuwa, T., Ayukawa, T., Tanaka, T., Nakamura, A., Baron, M. and Matsuno, K. Roles of *Drosophila* Deltex in Notch receptor endocytic trafficking and activation. *Genes Cells* 16, 1365-2443. 査読有り
- ③. Nakamura, A., Shirae-Kurabayashi, M. and Hanyu-Nakamura, K. (2010). Repression of early zygotic transcription in the germline. *Curr. Opin. Cell Biol.* 22, 709-714. (総説) 査読有り
- ④. Abe, M., Setoguchi, Y., Tanaka, T., Awano, W., Takahashi, K., Ueda, R., Nakamura, A. and Goto, S. (2009). Membrane protein localization-dependent regulation by PI3K(III) and Rabenosyn-5 in *Drosophila* wing cells. *PLoS ONE* 査読有り 4, e7306.
- ⑤. Nakamura, A. and Seydoux, G. (2008). Less is more: specification of the germline by transcriptional repression. *Development* 135, 3817-3827. (総説) 査読有り

[学会発表] (計 15 件)

- ①. Nakamura, A. Repression of early zygotic transcription in *Drosophila* primordial germ cells. 2010 SDB-JSDB Joint Meeting (The 69th Annual Meeting of the Society of Developmental Biology), Satellite

Symposium on "Germ Cells" 2010.8.5-9. Albuquerque, New Mexico, USA. (招待講演)

- ②. Nakamura, A. Roles of the endocytic pathway in the polarized transport and cortical anchoring of germ cell determinants in the *Drosophila* oocyte. The 2nd Joint Meeting of the French and Japanese Societies for Developmental Biology on "From Cells to Organs" 2010.5.26-28. Paris, France. (招待講演)
- ③. Nakamura, A. Repression of zygotic transcription and maternal RNA degradation in *Drosophila* primordial germ cells. The 19th CDB meeting on "RNA Sciences in Cell and Developmental Biology" 2010.5.10-12. Kobe, Hyogo. (招待講演)
- ④. 中村 輝, ショウジョウバエ *oskar* mRNA の局在と生殖質形成におけるエンドソーム経路を介した F-アクチン再編. 第 82 回日本生化学会年会, 2009.10.21-24. ポートアイランド, 神戸. (招待講演)
- ⑤. Nakamura, A. Roles of the endocytic pathway in *oskar* mRNA localization and germ plasm anchoring. FASEB Summer Research Conferences on "Intracellular mRNA Transport and Localized Translation" 2009.7.12-17. Saxtons River, Vermont, USA. (招待講演)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

http://www.cdb.riken.jp/jp/02_research/0202_creative05.html