

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19580116

研究課題名（和文） ペプチドホルモン調節系の起原と分子進化

研究課題名（英文） The origin and molecular evolution of peptide hormone-signaling system

研究代表者

齊田 要（SAIDA KANAME）

独立行政法人産業技術総合研究所・バイオニクス研究センター・主任研究員

研究者番号：00357055

研究成果の概要：

ヒトに存在するペプチドホルモン、エンドセリン(ET-1)は、血管収縮ペプチドとして発見された。ヒトとげっ歯類ではペプチド3種(ET-1, ET-2, ET-3)が遺伝子ファミリーを形成し、受容体2種と共に ET ペプチドホルモン調節系を構成し、系として多彩な機能を担っている。ET ファミリーに関する論文は多数あるが、げっ歯類以前では ET 調節系の詳細は、ヒト ET の下等動物に対する薬理的効果を除き、ほとんど未解明である。そこで本研究では、ET 調節系の遺伝子群の起原や分子進化を解明する。動物界における血管収縮ペプチド ET ファミリー3種の分布と配列・構造の多様性を解析するために、各種動物(哺乳類から魚類まで)の遺伝子・蛋白質データベースから関連・類似配列を探索した。データベースがないあるいは探索できない動物に関しては、遺伝子クローニングを実施した。塩基配列解析からペプチド配列を明らかにし、前駆体蛋白質の全長を明らかにした。NJ法(解析ソフト)等で、哺乳類から魚類に至るペプチド前駆体遺伝子の分子進化を解析した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	1,600,000	408,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：ライフサイエンス

科研費の分科・細目：応用生物化学

キーワード：遺伝子、進化、生体分子

1. 研究開始当初の背景

ヒトに存在するペプチドホルモン、エンドセリン(ET-1)は、血管収縮ペプチドとして発見された。ヒトとげっ歯類ではペプチド3種(ET-1, ET-2, ET-3)が遺伝子ファミリーを形成し、受容体2種と共にETペプチドホルモン調節系を構成し、系として多彩な機能を担っている。ETファミリーに関する論文はPubmed検索で約19,000件(2006年9月当時。2009年6月現在では22,000件)出てくるが、げっ歯類以前ではET調節系の詳細は、ヒトETの下等動物に対する薬理的効果を除き、ほとんど未解明である。

2. 研究の目的

そこで本研究では、ET調節系の動物界における分布を調査し、この遺伝子群の起原や分子進化を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

動物界における血管収縮ペプチドETファミリー3種の分布と配列・構造の多様性を解析するために、各種動物(哺乳類から魚類まで)の遺伝子・蛋白質データベースから関連・類似配列を探索した。データベースがないあるいは探索できない動物に関しては、遺伝子クローニングを実施した。特異的な遺伝子のクローニング法の1つRACE(Rapid Amplification of cDNA Ends)法を用いた。

4. 研究成果

RACE法を改変して、既知動物の配列を元にゲスマー(guess oligo primers)を順次設計・改良しながら、動物の脳腸組織等からmRNAを抽出しcDNA(ライブラリー)に変換し、ゲスマーでPCRクローニングを行った。進化の過程を遡りながら関連cDNA断片を単離し、塩基配列解析からペプチド配列を明らかにした。ETの成熟ペプチドが見出されたDNA断片に関しては、さらに、5'cDNA Endと3'cDNA Endをそれぞれ増幅し、塩基配列を決定して、cDNAを繋ぎ合せて、全長を取得し、その解析からペプチドの前駆体蛋白質の全長を明らかにした。NJ法(解析ソフト)等で、哺乳類から魚類に至るペプチド前駆体遺伝子の分子進化を解析した。まとめると「活性を有する原始エクソンが誕生し、エクソン重複により原始遺伝子が生成し、起原動物から哺乳類に至るゲノム重複によって、ファミリーとして構造の多様性や特異性を獲得して来た」と思われた。

位置付け：ETペプチドファミリーにおいて、本研究のような取り組みは、国内外で初めてと思われた。インパクト：基礎研究としても、またペプチドやアンタゴニストの応用研究の為にも、本研究は重要と思われた。展望：遺伝子起源に関しては、さらに下等な魚類の解析を続行して解明することが必要、と思われた。

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 4 件)

Kozakai T, Sakate M, Saida K. Regulation of endothelin-1 expression and function by nutrient stress in mouse colon epithelia.

Scand J Gastroenterol. 2008;43(7):886-94.

PMID: 18584528 査読有

Kotake-Nara E, Saida K. Characterization of CoCl₂-induced reactive oxygen species (ROS): Inductions of neurite outgrowth and endothelin-2/vasoactive intestinal contractor in PC12 cells by CoCl₂ are ROS dependent, but those by MnCl₂ are not.

Neurosci Lett. 2007 Jul 18;422(3):223-7.

Epub 2007 Jun 22. PMID: 17629402 査読有

Adur J, Takizawa S, Uchide T, Casco V, Saida K. High doses of ultraviolet-C irradiation increases vasoactive intestinal contractor/endothelin-2 expression in keratinocytes of the newborn mouse epidermis. Peptides. 2007

May;28(5):1083-94. Epub 2007 Mar 27.

PMID: 17449143 査読有

Kotake-Nara E, Takizawa S, Saida K.

Endothelin-2/vasoactive intestinal contractor via ROCK regulates transglutaminase 1 on differentiation of mouse keratinocytes. Biochem Biophys Res Commun. 2007 May 25;357(1):168-73. Epub 2007 Mar 28. 査読有

[学会発表] (計 2 件)

endothelin-2/VIC via ROCK regulates TG 1 on differentiation of mouse keratinocytes. Kotake-Nara E., Takizawa S., Saida K. Bergamo, Italy, 2007,9 17, ET-10

High doses of ultraviolet-C irradiation increases vasoactive intestinal contractor/endothelin-2 expression in keratinocytes of the newborn mouse epidermis. Adur J, Takizawa S, Uchide T, Casco V, Saida K. Bergamo, Italy, 2007,9 17, ET-10

[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]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齊田 要 (SAIDA KANAME)

独立行政法人産業技術総合研究所・バイオ
ニクス研究センター・主任研究員

研究者番号：00357055

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

打出 毅 (UCHIDE TSUYOSHI)

北里大学 / 獣医畜産学部 / 講師

(現：酪農学園大学 / 獣医学部 / 教授)

研究者番号：20327456