

平成22年4月27日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17017032

研究課題名（和文） ショウジョウバエゲノムの改変による表現型情報の統合的解析

研究課題名（英文） Systems genomics in *Drosophila*

研究代表者

相垣 敏郎 (AIGAKI TOSHIRO)

首都大学東京 大学院理工学研究科 教授

研究者番号：80150870

研究成果の概要（和文）：

ゲノムの全遺伝子の3分の2は、機能を破壊しても顕著な表現型の変化を伴わないものと推定されている。類似の機能をもつ他の遺伝子や他の経路によって、補完されていると考えられる。しかし、その実態はほとんど解明されていない。遺伝子の多彩な機能を正確に解明し、新規の遺伝子や既知遺伝子の新規の機能を発見するためには、表現型測定の精度を上げることが肝要である。そこで、本研究課題では、ショウジョウバエの翅画像データを使った形態計測技術、および胚発生過程のライブイメージングによる4次元形態計測の基盤的技術の開発を行った。いずれにおいても、計算機を用いた情報科学的アプローチが不可欠であり、本研究領域の班員や他のグループと連携して研究を推進した。また、新規の機能をもつ遺伝子をスクリーニングするための変異体リソースとして、遺伝子強制発現系統（GS 系統）および遺伝子ノックダウン系統（RNAi 系統）コレクションの情報を整備するとともに、それらを利用して、発生、ストレス感受性、寿命等に関わる新規の遺伝子を同定し、それらの機能を詳細に解析した。

研究成果の概要（英文）：

Drosophila melanogaster is a model organism that have been extensively studied for their genes' functions through both forward and reverse genetic approaches. However, it has been estimated that only one-third of all genes in the genome could be mutated to easily detectable phenotypes, such as lethality, sterility or morphological abnormality. In order to reveal novel gene functions that may not be revealed with conventional approaches, we develop methods involving computational image analyses of adult wings and time-lapse confocal microscopic images of embryogenesis. To screen and identify new genes and/or new functions of known genes, we established and utilized a library of Gene Search (GS) lines and inducible RNAi lines as a resource to screen gain-of-function and reduction-of-function mutations. We identified and characterized various genes that include those involved in morphogenesis, immune response, stress resistance and longevity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	36,000,000	0	36,000,000

2006年度	34,700,000	0	34,700,000
2007年度	34,600,000	0	34,600,000
2008年度	35,300,000	0	35,300,000
2009年度	37,400,000	0	37,400,000
総計	178,000,000	0	178,000,000

研究分野：ライフサイエンス

科研費の分科・細目：ゲノム科学

キーワード：ゲノム、遺伝子、表現型、データベース、ショウジョウバエ

1. 研究開始当初の背景

ゲノムの遺伝子には、機能を破壊しても顕著な表現型の変化を伴わないものが多数含まれている。ショウジョウバエでは、ゲノムの全遺伝子のうち約3分の2が該当すると推定されている。類似の機能をもつ他の遺伝子、あるいは類似の機能を発揮する他の経路によって、補なわれていると考えられる。しかし、その実態はほとんど解明されていない。遺伝子の多彩な機能をを正確に判断し、新規の遺伝子あるいは既知遺伝子の新規の機能を発見するためには、表現型測定精度を上げることが肝要である。

2. 研究の目的

定量性に優れた精度の高い表現型情報を取得するための技術として、ショウジョウバエの翅画像データを使った形態計測技術、および胚発生過程のライブイメージングによる4次元形態計測の基盤的技術の開発を行う。また、変異体リソースとして、遺伝子強制発現システム（GSシステム）および遺伝子ノックダウンシステム（RNAiシステム）コレクションの情報を整備するとともに、それらを利用して、発生、ストレス感受性、寿命等に関わる新規の遺伝子を同定し、それらの機能を詳細に解析する。

3. 研究の方法

上記の研究手法を開発するためには、計算機を用いた情報科学的アプローチが不可欠であり、本研究領域の班員（東大・森下博士）や他のグループ（兵庫大・本多博士）と連携して研究を推進する。

4. 研究成果

2005：GSシステムについては、ショウジョウバエゲノムの最新の情報に基づいてマップ情報の大幅な見直しを行った。RNAiシステムについては、翅画像データの取得を行なった。GSシステムのスクリーンで同定したショウジョウバエの組織形態を制御する遺伝子の機能を解析にとり組んだ。

2006: GSシステムを用いて、翅原基で強制発現させた表現型を画像データとして収集した。RNAi

システムについては、約7,000遺伝子に対応するシステムを樹立した。細胞死や個体の寿命に関わるPOSH遺伝子と相互作用するタンパク質として、AIP1 およびALIXを同定した。上皮形成に関わる因子IKKεの解析を行った。

2007: GSシステム、およびRNAiシステムを用いて、遺伝子強制発現、およびノックダウンしたときの翅画像の収集を行った。チオレドキシニンファミリーに属する3つの遺伝子について、機能解析をおこなった。ライブイメージング技術を駆使して、ショウジョウバエ胚において外胚葉と胚体外細胞層(amnioserosa)の組織間相互作用を解析した。

2008: 表現型翅画像データの収集を行い、形態パラメータを取得し、インスリン経路との関連を解析した。気管陥入を撮影した画像データをもとに細胞境界を抽出するプログラムを開発した。

2009: 翅画像の収集を行った。画像の自動解析のためのソフトウェア改良を行った。アポトーシス関連遺伝子のスクリーニングとその機能の比較解析を行った。気管陥入を撮影した画像データをもとに三次元多面体モデルに適用し気管陥入のコンピュータモデリングを試みた。ショウジョウバエのゲノムの転写開始点(TSS)情報を収集し、ゲノム上にマップし、データベースを作製、公開した。

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54件、査読有)

- Ahsan, B., Saito, T.L., Hashimoto, S., Muramatsu, K., Tsuda, M., Sasaki, A., Matsushima, K., Aigaki, T. and Morishita, S. (2009) MachiBase: a *Drosophila melanogaster* 5'-end mRNA transcription database. *Nucleic Acids Res.* 37, D49-53.
- Tsubouchi, A., Tsuyama, T., Fujioka, M., Kohda, H., Okamoto-Furuta, K., Aigaki, T., and Uemura, T. (2009) Mitochondrial Protein

- Preli-like Is Required for Development of Dendritic Arbors and Prevents Their Regression in the *Drosophila* Sensory Nervous System. *Development*, 136, 3757-3766.
3. Sakai, T., Kasuya, J., Kitamoto, T., Aigaki, T. (2009) The *Drosophila* TRPA channel, Painless, regulates sexual receptivity in virgin females. *Genes Brain Behav.* 8, 546-557
 4. Suzuki, E., Zhao Y., Ito, S., Sawatsubashi, S., Murata, T., Furutani, T., Shirode, Y., Yamagata, K., Tanabe, M., Kimura, S., Ueda, T., Fujiyama, S., Lim, J., Matsukawa, H., Kouzmenko, AP., Aigaki, T., Tabata, T., Takeyama, KI., and Kato, S. (2009) Aberrant E2F activation by polyglutamine expansion of androgen receptor in SBMA neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 106, 3818-3822.
 5. Kaido, M., Wada, H., Shindo, M. and Hayashi, S. (2009) Essential requirement for RING finger E3 ubiquitin ligase Hakai in early embryonic development of *Drosophila*. *Genes to Cells*. 14:1067-1077
 6. Wu, Y., Brock, A. R., Wang, Y., Fujitani, K., Ueda, R. and Galko, M. J. (2009) A Blood-Borne PDGF/VEGF-like Ligand Initiates Wound-Induced Epidermal Cell Migration in *Drosophila* Larvae. *Curr. Biol.*, 19, 1-5.
 7. Umemori, M., Habara, O., Iwata, T., Maeda, K., Nishinoue, K., Okabe, A., Takemura, M., Takahashi, K., Saigo, K., Ueda, R. and Adachi-Yamada, T. (2009) RNAi-Mediated Knockdown Showing Impaired Cell Survival in *Drosophila* Wing Imaginal Disc. *Gene Regulation and Systems Biology*, 3, 11-20.
 8. Horiuchi, J., Yamazaki, D., Naganos, S., Aigaki, T., Saitoe, M. (2008) Protein kinase A inhibits a consolidated form of memory in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 20976-20981
 9. Harada, E., Haba, D., Aigaki, T., Matsuo, T. (2008) Behavioral analyses of mutants for two odorant-binding protein genes, Obp57d and Obp57e, in *Drosophila melanogaster.*, *Genes Genet Syst*, 83, 257-264
 10. Olivier, L., Togawa, T., Tsuda, M., Matsuo, T., Loic, E. and Aigaki, T. (2009) Overexpression of grappa encoding a histone methyltransferase enhances stress resistance in *Drosophila*, *Hereditas*. 146, 19-28
 11. Nishimura, M., Inoue, Y., Hayashi, S. (2008) A wave of EGFR signaling determines cell alignment and intercalation in the *Drosophila* tracheal placode, *Development*, 134(23): 4273-4282
 12. Shindo, M., Wada, H., Kaido, M., Tateno, M., Aigaki, T., Tsuda, L., Hayashi, S. (2008) Dual function of Src in the maintenance of adherens junction during epithelial morphogenesis, *Development*, 135(7): 1355-64
 13. Kakihara, K., Shinmyozu, K., Kato, K., Wada, H., Hayashi, S. (2008) Conversion of plasma membrane topology during epithelial tube connection requires Arf-like 3 small GTPase in *Drosophila*, *Mechanisms of Development*, 125(3-4): 325-336
 14. Kato, K., Hayashi, S. (2008) Practical guide of live imaging for developmental biologists, *Development, Growth and Differentiation*, doi: 10.1111/j.1440-169x.2008.01029.x
 15. Takahashi, A., Takahashi, K., Ueda, R. and Takano-Shimizu, T. (2007) Natural variation of ebony gene controlling thoracic pigmentation in *Drosophila melanogaster.*, *Genetics*, 177(2), 1233-1237
 16. Picot, M., Cusumano, P., Klarsfeld, A., Ueda, R. and Rouyer, F. (2007) Light Activates Output from Evening Neurons and Inhibits Output from Morning Neurons in the *Drosophila* Circadian Clock. *PLoS Biol.* 5(11): e315
 17. Yano, T., Mita, S., Ohmori, H., Oshima, Y., Fujimoto, Y., Ueda, R., Takada, H., Goldman, WE., Fukase, K., Silverman, N., Yoshimori, T. and Kurata, S. (2009) Autophagic control of listeria through intracellular innate immune recognition in *Drosophila.*, *Nat Immunol.* 9(8), 908-916
 18. Yoshida, H., Fuwa, T., Arima, M., Hamamoto, H., Sasaki, N., Ichimiya, T., Osawa, K-I., Ueda, R. and Nishihara, S., (2008) Identification of the *Drosophila* core 1 β 1,3-galactosyltransferase gene that synthesizes T antigen in the embryonic central nervous system and hemocytes., *Glycobiology*. 18(12), 1094-1104
 19. Matsuo, T., Sugaya, S., Yasukawa, J., Aigaki, T., Fuyama, Y. (2007) Odorant-binding proteins OBP57d and OBP57e affect taste perception and host-plant preference in *Drosophila sechellia.*, *PLoS Biol.* 5, e118
 20. Umeda-Kameyama, Y., Tsuda, M., Ohkura, C., Matsuo, T., Namba, Y., Ohuchi, Y. and Aigaki, T. (2007) Thioredoxin suppresses Parkin-associated Endothelin Receptor-like Recepto-induced neurotoxicity and extends longevity in *Drosophila*. *J. Biol. Chem.*, 282, 11180-11187
 21. Yao, Y., Wu, Y., Yin, C., Ozawa, R., Aigaki, T., Wouda, R.R., Noordermeer, J.N., Fradkin, L.G., Hing, H. (2007) Antagonistic roles of Wnt5 and the Drl receptor in patterning the

- Drosophila* antennal lobe., *Nat Neurosci.*, 10, 1423-1432
22. Tsuda M, Sugiura T, Ishii T, Ishii N, Aigaki T. (2007) A mev-1-like dominant-negative SdhC increases oxidative stress and reduces lifespan in *Drosophila*., *Biochem Biophys Res Commun.*, 363, 342-346.
 23. Inoue, Y., Hayashi, S. (2007) Tissue-specific laminin expression facilitates integrin-dependent association of the embryonic wing disc with the trachea in *Drosophila*., *Developmental Biology*, 304: 90-101
 24. Kondo, T., Hashimoto, T., Kato, K., Inagaki, S., Hayashi, S., Kageyama, Y. (2007) Small peptide regulators of actin-based cell morphogenesis encoded by a polycistronic mRNA, *Nature Cell Biology*, 9(6): 660-665
 25. Sakurai, T.K., Kojima, T., Aigaki, T., Hayashi, S. (2007) Differential control of cell affinity required for progression and refinement of cell boundary during *Drosophila* leg segmentation, *Developmental Biology*, doi: 10.1016/j.ydbio.2007.07.001
 26. Chertemps, T., Duportets, L., Labeur, C., Ueda, R., Takahashi, K., Saigo, K., and Wicker-Thomas, C. (2007) A female-biased expressed elongase involved in long-chain hydrocarbon biosynthesis and courtship behavior in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(11) 4273-4278
 27. Akira Matsumoto*, Maki Ukai-Tadenuma, Rikuhiko G. Yamada, Jerry Houl, Kenichiro D. Uno, Takeya Kasukawa, Brigitte Dauwalder, Taichi Q. Itoh, Kuniaki Takahashi, Ryu Ueda, Paul E. Hardin, Teiichi Tanimura and Hiroki R. Ueda*(* corresponding authors), A functional genomics strategy reveals clockwork orange as a transcriptional regulator in the *Drosophila* circadian clock, *Genes and Development*, 21(13), 1687-1700
 28. Okamura, T., Shimizu, H., Nagao, T., Ueda, R. and Ishii, S. (2007) ATF-2 regulates fat metabolism in *Drosophila*., *Mol Biol Cell*, 18(4), 1519-1529
 29. Laviolette, M.J., Nunes, N., Peyre, J.B., Aigaki, T. and Stewart, B. A. (2005) A Genetic screen for suppressors of *Drosophila* NSF2 neuromuscular junction overgrowth, *Genetics*, 170, 779-792
 30. Takeo, S., Tsuda, M., Akahori, S., Matsuo, T. and Aigaki, T. (2006) The calcineurin regulator Sra plays an essential role in female meiosis in *Drosophila*, *Current Biology*, 16, 1435-1440
 31. Tsuda, M., Seong K.-H. and Aigaki, T. (2006) POSH, a scaffold protein for JNK signaling, binds to ALG-2 and ALIX in *Drosophila*, *FEBS letters*, 580, 3296-300
 32. Hozumi, S., Maeda, R., Taniguchi, K., Kanai, M., Shirakabe, S., Sasamura, T., Speder, P., Noselli, S., Aigaki, T., Murakami, R. and Matsuno, K. (2006) An unconventional myosin in *Drosophila* reverses the default handedness in visceral organs, *Nature*, 440, 798-802
 33. Shinza-Kameda, M., Takasu, E., Sakurai, K., Hayashi, S. and Nose, A. (2006) Regulation of Layer-Specific Targeting by Reciprocal Expression of a Cell Adhesion Molecule, *Capricious.*, *Neuron*, 49,205-213
 34. Kuranaga, E., Kanuta, H., Tonoki, A., Takemoto, K., Tomioka, T., Kobayashi, M., Hayashi, S. and Miura, M. (2006) *Drosophila* IKK-Related Kinase Regulates Nonapoptotic Function of Caspases via Degradation of IAPs, *Cell*, 126:583-596
 35. Oshima, K., Takeda, M., Kuranaga, E., Ueda, R., Aigaki, T., Miura, M. and Hayashi, S. (2006) IKK ϵ Regulates F Actin Assembly and Interacts with *Drosophila* IAP1 in Cellular Morphogenesis, *Current Biology*, 16:1531-1537
 36. Tsuda, L., Kaido, M., Young-Mi Lim., Kato, K., Aigaki T. and Hayashi, S. (2006) An NRSF/REST-like repressor downstream of Ebi/SMRTER/Su(H) regulates eye development in *Drosophila*, *The EMBO Journal*, 25: 3191-3202
 37. Kobayashi M, Michaut L, Ino A, Honjo K, Nakajima T, Maruyama Y, Mochizuki H, Ando M, Ghangrekar I, Takahashi K, Saigo, K., Ueda, R., Gehring, W. J. and Furukubo-Tokunaga, K. (2006) Differential microarray analysis of *Drosophila* mushroom body transcripts using chemical ablation., *Proc Natl Acad Sci USA*. 103(39), 14417-22
 38. Yamamoto, M., Ueda, R., Takahashi, K., Saigo, K. and Uemura, T. (2006) Control of axonal sprouting and dendrite branching by the Nrg-Ank complex at the neuron-glia interface. *Curr Biol*, 16(16), 1678-83
 39. Awasaki, T., Tatsumi, R., Takahashi, K., Arai, K., Nakanishi, Y., Ueda, R. and Ito, K. (2006) Essential role of the apoptotic cell engulfment genes *draper* and *ced-6* in programmed axon pruning during *Drosophila* metamorphosis., *Neuron*, 49 855-67
 40. Kambris, Z., Brun, S., Jang, I.H., Nam, H.J., Romeo, Y., Takahashi, K., Lee, W.J., Ueda, R., Lemaitre, B. (2006) *Drosophila* immunity: a large-scale in vivo RNAi screen identifies five serine proteases required for Toll activation., *Curr Biol.*, 16, 808-813

41. Horiuchi, T. and Aigaki, T. (2006) Alternative trans-splicing: a novel mode of pre-mRNA processing. *Biol. Cell*, 98, 135-140
42. Katsuyama, T., Sugawara, T., Tatsumi, M., Oshima, Y., Gehring, W., Aigaki, T. and Kurata, S. (2005) Involvement of winged eye encoding a chromatin-associated bromo-adjacent homology domain protein in disc specification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 15918-15923
43. Kanuka, H., Hiratou, T., Igaki, T., Kanda, H., Kuranaga, E., Sawamoto, K., Aigaki, T., Okano, H., and Miura, M. (2005) Gain-of-function screen identifies a role of the Sec61alpha translocon in *Drosophila* postmitotic neurotoxicity. *Biochim. Biophys. Acta* 1726, 225-237
44. Tsuda, M., Langmann, C., Harden, N. and Aigaki, T. (2005) The RING finger-scaffold protein POSH targets TAK1 to control immunity signaling in *Drosophila*. *EMBO reports* 6, 1082-1087
45. Takeo, S., Akiyama, T., Firkus, C., Aigaki, T. and Nakato, H. (2005) Expression of a secreted form of Dally, a *Drosophila* glypican, induces overgrowth phenotype by affecting action range of Hedgehog. *Dev. Biol.* 284, 204-218
46. Laviolette, M.J., Nunes, N., Peyre, J.B., Aigaki, T. and Stewart, B. A. (2005) A Genetic screen for suppressors of *Drosophila* NSF2 neuromuscular junction overgrowth. *Genetics* 170, 779-792
47. Orihara-Ono, M., Suzuki, M., Saito, M., Yoda, Y., Aigaki, T. and Hama, C. (2005) The slender lobes gene, identified by retarded mushroom body development, is required for proper nucleolar organization in *Drosophila*. *Dev. Biol.* 281, 121-133
48. Kotani, N., Kitazume, S., Kamimura, K., Takeo, S., Aigaki, T., Nakato, H. and Hashimoto, Y. (2005). *Drosophila* orthologues of human b-secretase induce the secretion of a Golgi-resident transferase, heparan sulfate 6-O-sulfotransferase. *J. Biochem.* 137, 315-22
49. Akimoto, A., Wada, H., Hayashi, S. (2005) Enhancer Trapping With a RedFluorescent Protein Reporter in *Drosophila*. *Developmental Dynamics* 233, 993-997
50. Shinza-Kameda, M., Takasu, E., Sakurai, K., Hayashi, S. and Nose, A. (2006) Regulation of Layer-Specific Targeting by Reciprocal Expression of a Cell Adhesion Molecule, Capricious. *Neuron* 49,205-213
51. Hirota, Y., Sawamoto, K., Takahashi, K., Ueda, R., and Okano, H. (2005) The transmembrane protein, Tincar, is involved in the development of the compound eye in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Genes Evol.*, 215, 90-96
52. Adachi-Yamada, T., Harumoto, T., Sakurai, K., Ueda, R., Saigo, K., O'Connor, M. B., and Nakato, H. (2005) Wing-to-leg homeosis by Spineless causes an apoptosis regulated by Fish-lips, a novel Leucine-Rich Repeats transmembrane protein. *Mol. Cell. Biol.*, 25, 3140-3150
53. Kleino, A., Valanne, S., Ulvila, J., Kallio, J., Myllymaki, H., Enwald, H., Stoven, S., Poidevin, M., Ueda, R., Hultmark, D., Lemaitre, B., and Ramet, M. (2005) Inhibitor of apoptosis 2 and TAK1-binding protein are components of the *Drosophila* Imd pathway. *The EMBO J.* 24, 3423-3434
54. Ishimoto, H., Takahashi, K., Ueda, R., and Tanimura, T. (2005) G-protein gamma subunit 1 is required for sugar reception in *Drosophila*. *The EMBO J.* 24, 3259-3265
- [学会発表] (計 111 件以上)
1. Tsuda, M., Y. Kishita, T., Kaneuchi and T, Aigaki (2009) Mutations in Lipoyltransferase(lipB) exhibits shorten life span and metabolic disorder in *Drosophila*. JDRC. 7月6日～7月8日. 静岡
 2. Kishita, Y., Tsuda, M. and Aigaki, T. (2009) Loss of lipoyltransferase (lipB) disrupts key metabolic pathways for energy production and leads to shortened lifespan in *Drosophila*. EDRC2009, November18-21, Nice, France
 3. Tsuda, M., T, Aigaki (2009) *Drosophila* sex-peptide: functional dissection and evolution. 第32回日本分子生物学会. 2009年12月9日～12月12日. 横浜
- [図書] (計 2 件)
1. 相垣敏郎 (2008) 老化・老年病研究のため 動物実験ガイドブック72-77 ショウジョウバエモデル 日本基礎老化学会編 アドスリー丸善
- [産業財産権] 出願状況 (計 1 件)
- 名称: 遺伝子探索ベクター隣接ゲノム配列の同定方法、及び酸化ストレス感受性変異体
 発明者: 相垣敏郎
 権利者: 首都大学東京
 種類: 特許
 番号: 2005-324980
 出願年月日: 2005年11月9日
 国内外の別: 国内
- [その他] データベース
<http://gsdb.biol.metro-u.ac.jp/%7Edclust/>
 GSベクター挿入システムのマップ情報、挿入サイトのゲノム配列、近傍の遺伝子、強制発現さ

れる遺伝子、特定の GAL4 を使って強制発現を誘導した時に生じる表現型情報が登録されている。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

相垣 敏郎 (AIGAKI TOSHIRO)
首都大学東京・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：80150879

(2) 研究分担者

林 茂生 (HAYASHI SHIGEO)
理化学研究所・CDB・グループディレクター(研究職)
研究者番号：60183092

上田 龍 (UEDA RYU)
国立遺伝学研究所・系統生物センター・教授
研究者番号：40353429