

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H05548・20K20460

研究課題名（和文）細胞外マトリックスナノ構造の生物学的構築原理の解明

研究課題名（英文）Biogenesis of extracellular nano structures

研究代表者

林 茂生（Hayashi, Shigeo）

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：60183092

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：昆虫クチクラはナノレベルの微細構造が構造色、超撥水性などの機能性を帯びることによって多機能性を実現させる。細胞外マトリックスであるクチクラのナノパターン構築の仕組みを解明するためにショウジョウバエ嗅覚器官のナノポア構造構築の仕組みを追求した。クチクラ形成が開始する蛹化二日目の嗅覚器官を三次元電子顕微鏡（FIB-SEM）により解析し、非感覚細胞に比べて大幅に発達した小胞体ネットワークを見出した。gore-tex遺伝子の変異体では小胞体ネットワークに乱れが生じ、ナノポア形成が不全となった。Gore-tex分子は細胞内膜器官に局在して、小胞体に作用することでクチクラナノパターンを制御するものと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

構造色などを示すナノレベルの表面構造は鳥類、昆虫、植物など広く生物界に観察され、バイオミメティクスとして生体を模倣する工業素材の開発を促してきた。しかしこれらの構造の生物学的形成基盤は不明なため生体材料を用いた機能的ナノ構造の構築は実現していない。本研究で解明された昆虫嗅覚器官のナノポアは多糖であるキチンを主成分とするクチクラに構築される。ショウジョウバエで発達している遺伝子操作技術でナノポア形成を操ることで、生物適合性のある素材で機能的ナノ構造を構築し、生体に応用する手法への手がかりが得られたと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Insect cuticles are multifunctional by building nano-level structures that enable structural coloration and superhydrophobicity. To elucidate the mechanism of nano-pattern formation in the cuticle extracellular matrix, we investigated the mechanism of nano-pore formation in the olfactory organ of the fruit fly. We analyzed the olfactory organ on the second day of pupariation using three-dimensional electron microscopy (FIB-SEM). We discovered a network of endoplasmic reticulum (ER) significantly developed compared to non-sensory cells. In mutants of the gore-tex gene, disturbances in ER resulted in incomplete nano-pore formation. It is believed that the Gore-tex molecule localizes to intracellular membrane organelles and acts on the vesicles to control cuticle nano-patterns.

研究分野：発生生物学

キーワード：昆虫 クチクラ 細胞外マトリックス ナノ構造 嗅覚器官 FIB-SEM

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

構造色、超撥水性などの機能的素材は鳥類、昆虫、植物など広く生物界に観察される。例えば特定の波長の光を選択的に反射する構造色は孔雀の羽、タマムシの外骨格、ヤブミョウガの果実など系統的に遠く離れた生物種に見られ、組織表面にあるナノメートルレベルの微細構造が様々な物理的しくみを介して光の波長選択性に関わることが知られている。これらの生物素材の構造にヒントを得た工業製品がバイオミメティクスと呼ばれる工業分野をなしている。しかし有機的素材(ケラチン、キチン、セルロース)のナノ構造がどのようにして生物的に生合成されるかのしくみは不明であった。そのために生体適合性のバイオミメティクス製品の開発は実現していない。

昆虫の嗅覚器官では細胞外基質のクチクラ層に構築される口径 50-200nm の穴(ナノポア)を通して匂い分子を感知する。ナノポアはクチクラの強靱性を保持したまま昆虫の超高感度な嗅覚受容を可能にする。我々が報告した膜貫通型分子 Gore-tex は嗅覚毛の細胞に特異的に発現し、その変異体ではクチクラ形成は正常なものの、ナノポアが失われ嗅覚の低下が見られた (Ando et al., Curr. Biol. 2019)。クチクラナノ構造形成の理解促進のためには Gore-tex 遺伝子の機能解析が急務であった。

### 2. 研究の目的

Gore-tex 分子の作用機構を追求し、その結果を手がかりとして昆虫クチクラナノパターン形成機構の理解を深める事を目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究ではキイロショウジョウバエを材料にナノポアの構築機構の遺伝的、発生学のおよび分子生物学的な理解を深める事を目的とした。透過型電子顕微鏡とイオンビーム連続切削型電子顕微鏡(FIB-SEM)を用いた三次元的細胞内構造解析、酵素タグした分子マーカーによる細胞内分子局在の電子顕微鏡解析、超解像顕微鏡による分子局在解析、によりナノメートルレベルの細胞構造と分子局在の分析をすすめた。またショウジョウバエ個体を用いて正常型個体と gore-tex 変異体においてナノポアの発生過程を観察する事で gore-tex 変異体におけるナノポア喪失がどのようなプロセスを経て起きるのかを追求した。

### 4. 研究成果

成虫クチクラの形成が始まる蛹化 2 日目固体に対する透過電子顕微鏡と FIB-SEM による解析により、嗅覚器官においては管状の小胞体ネットワークが大量に発達することがわかった。また細胞膜が多数の箇所へ陥入構造を作り、その陥入位置はナノポアの形成位置に一致していた。非感覚細胞で同様な解析をしたところ、発達した小胞体ネットワークと細胞膜の陥入は見られなかった。APEX2 で酵素タグされた Gore-tex 分子を透過電子顕微鏡で観察したところ小胞体とそこから細胞膜に向かう膜構造体での局在が確認された。gore-tex 変異体の嗅覚器官細胞では小胞体ネットワークが過剰に発達し、細胞膜の陥入は消失した。さらに小胞体の融合に関わる分子 Atrastin の変異体では嗅覚器官細胞に限ってクチクラ形成が阻害された。これらの研究から 1) 適度に発達した小胞体ネットワークは嗅覚器官細胞における適切な細胞膜への物質輸送に必須である事、2) この輸送がクチクラ形成に必須である事、3) Gore-tex は小胞体ネットワークの発達を細胞膜近傍でオートファジーを通じて制限することでナノポア形成を促進することが判明した。これらの成果から昆虫特異的分子 Gore-tex は小胞体とオートファジーを介

して細胞膜輸送の制御をすることで、クチクラの微細構造を制御するモデルが考えられた．現在このモデルを証明する研究が進行中である．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kentaro Yoshida, Shigeo Hayashi	4. 巻 150
2. 論文標題 Epidermal growth factor receptor signaling protects epithelia from morphogenetic instability and tissue damage in Drosophila	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/dev.201231	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Taira Yuki, Wada Housei, Hayashi Shigeo, Kageyama Yuji	4. 巻 26
2. 論文標題 polished rice mediates ecdysone dependent control of Drosophila embryonic organogenesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 269 ~ 281
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/gtc.12841	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chu Wei-Chen, Hayashi Shigeo	4. 巻 31
2. 論文標題 Mechano-chemical enforcement of tendon apical ECM into nano-filaments during Drosophila flight muscle development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 1366 ~ 1378.e7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cub.2021.01.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Shigeo, Ogura Yosuke	4. 巻 63
2. 論文標題 ERK signaling dynamics in the morphogenesis and homeostasis of Drosophila	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Genetics & Development	6. 最初と最後の頁 9 ~ 15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.gde.2020.01.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogura Yosuke, Sami Mustafa M., Wada Housei, Hayashi Shigeo	4. 巻 24
2. 論文標題 Automated FRET quantification shows distinct subcellular ERK activation kinetics in response to graded EGFR signaling in <i>Drosophila</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 297 ~ 306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12679	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ando Toshiya, Sekine Sayaka, Inagaki Sachi, Misaki Kazuyo, Badel Laurent, Moriya Hiroyuki, Sami Mustafa M., Itakura Yuki, Chihara Takahiro, Kazama Hokto, Yonemura Shigenobu, Hayashi Shigeo	4. 巻 29
2. 論文標題 Nanopore Formation in the Cuticle of an Insect Olfactory Sensillum	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 1512 ~ 1520.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2019.03.043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Baskar Raju, Bahkrat Anna, Otani Tetsuhisa, Wada Housei, Davidov Geula, Pandey Himanshu, Gheber Larisa, Zarivach Raz, Hayashi Shigeo, Abdu Uri	4. 巻 286
2. 論文標題 The plus tip tracking and microtubule stabilizing activities of Javelin like regulate microtubule organization and cell polarity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 3811 ~ 3830
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.14944	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo Takefumi, Hayashi Shigeo	4. 巻 8
2. 論文標題 Two-step regulation of trachealess ensures tight coupling of cell fate with morphogenesis in the <i>Drosophila</i> trachea	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 45145-x
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.45145	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 13件）

1. 発表者名 板倉由希
2. 発表標題 細胞外での分子の自己組織化による感覚器官の形づくり
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉田健太郎
2. 発表標題 Epidermal growth factor receptor signaling protects epithelia from developmental instability during Drosophila embryogenesis
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 稲垣幸
2. 発表標題 Trafficking through the ER network controls plasma membrane invaginations and ECM nanostructures essential for olfaction in Drosophila
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuki Itakura
2. 発表標題 Cuticle nano-patterning of insect olfactory hairs by self-organizing extracellular matrix proteins
3. 学会等名 The 3rd Franco-Japanese Developmental Biology meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Nano-level morphogenesis of insect cuticle
3. 学会等名 Molecular and Developmental Biology of Drosophila, EMBO Workshop (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Shaping ECM nanostructures of the olfactory organ by dynamic plasma membrane invaginations and ECM nanostructures essential for olfaction in Drosophila
3. 学会等名 Dynamics of Cell Polarity, Cell Polarity Signaling, Gordon Research Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 板倉由希
2. 発表標題 Shaping ECM nanostructures of the olfactory organ by dynamic plasma membrane invaginations and ECM nanostructures essential for olfaction in Drosophila
3. 学会等名 日本ショウジョウバエ研究集会 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 林 茂生
2. 発表標題 Shaping ECM nanostructures of the olfactory organ by dynamic plasma membrane invaginations and ECM nanostructures essential for olfaction in Drosophila
3. 学会等名 日本ショウジョウバエ研究集会 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Inagaki Sachi, Itabashi Takeshi, Onoue Kenta, Okayama Satoko, Yonemura Shigenobu, Iwane Atsuko, Hayashi Shigeo
2. 発表標題 Ultrastructural studies of nano-level ECM assembly during olfactory organ development in Drosophila
3. 学会等名 第54回 日本発生学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Itakura Yuki, Sun Zhengkuan, Inagaki Sachi, Wada Housei, Hayashi Shigeo
2. 発表標題 Nano-patterning of insect cuticle by self-organization of apical ECM molecules
3. 学会等名 第54回 日本発生学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Itakura Yuki, Sun Zhengkuan, Inagaki Sachi, Wada Housei, Hayashi Shigeo
2. 発表標題 Self-organization of apical ECM molecules underlies insect cuticle nano-patterning
3. 学会等名 RIKEN BDR Symposium 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 孫正寛
2. 発表標題 多様な微小構造を持つショウジョウバエの感覚受容器におけるOsirisファミリー遺伝子の発現
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 板倉由季
2. 発表標題 マトリックス分子の自己集合と細胞内輸送による外骨格ナノ構造の構築
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Wei-Chen Chu
2. 発表標題 Mechano-chemical enforcement of tendon apical ECM into nano-filaments during Drosophila flight muscle development
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関根 清薫
2. 発表標題 管状組織内腔面での迅速なアクチンクラスター不等分離による周径アクチンリングの形成
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平 雄樹
2. 発表標題 polished rice遺伝子が介するエクジソンによる時間的制御は、ショウジョウバエ胚発生期の気管細胞の分化に関与している
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 林 茂生
2. 発表標題 ショウジョウバエ外骨格のナノ構造形成に関わるOsiris 遺伝子群の発現と機能
3. 学会等名 構造色研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 茂生
2. 発表標題 ECM morphogenesis: nano-scopic universe of biological functions
3. 学会等名 上海工科大学 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 茂生
2. 発表標題 ECM morphogenesis: nano-scopic universe of biological functions
3. 学会等名 青島海洋大学 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fu-Lai Wen, Housei Wada, Katsuhiko Sato, Hisao Honda, Tatsuo Shibata, Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Modeling and experimental analysis of epithelial tube elongation in Drosophila revealed distinct biomechanical properties of tubes
3. 学会等名 Annual Meeting of Japan Society for Deveopmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuki Itakura, Sachi Inagaki, Housei Wada, Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Trynity controls epidermal barrier function and respiratory tube maturation in Drosophila by modulating apical extracellular nanopatterning
3. 学会等名 Annual Meeting of Japan Society for Developmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigeo Hayashi, Toshiya Ando, Sayaka Sekine, Sachi Inagaki, Kazuyo Misaki, Laurent Badel, Hiroyuki Moriya, Mustafa Sami, Takahiro Chihara, Hokuto Kazama, Shigenobu Yonemura
2. 発表標題 Nanopore formation in the cuticle of the insect olfactory sensillum
3. 学会等名 Annual Meeting of Japan Society for Developmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mustafa Sami, Yosuke Ogura, Housei Wada, Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Automated FRET quantification reveals distinct subcellular ERK activation kinetics in response to graded EGFR signaling in Drosophila
3. 学会等名 Annual Meeting of Japan Society for Developmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wei-Chen Chu, Xiaorei Sai, Shigeo Hayashi
2. 発表標題 Force-dependent tendinous ECM remodeling during flight muscle Development
3. 学会等名 Annual Meeting of Japan Society for Developmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

上皮組織の連続性を保つしくみ - EGFR受容体シグナルの新しい機能 -  
<https://www.bdr.riken.jp/ja/news/research-news/2023/research20230517.html>  
細胞外マトリックスの構築の仕組み - 筋肉と骨格をつなぐ細胞外基質の強靱な繊維化 -  
[https://www.riken.jp/press/2021/20210312\\_3/index.html](https://www.riken.jp/press/2021/20210312_3/index.html)  
Proteins enable tendons and muscles of ...  
[https://www.riken.jp/en/news\\_pubs/research\\_news/rrr/20210507\\_2/index.html](https://www.riken.jp/en/news_pubs/research_news/rrr/20210507_2/index.html)  
昆虫の外骨格にナノサイズの穴が開く仕組み - 生物はどうやって体表面を微細加工しているのか -  
[https://www.riken.jp/press/2019/20190419\\_1/index.html](https://www.riken.jp/press/2019/20190419_1/index.html)  
動物の発生において形と機能を調和させる仕組みを発見  
[https://www.riken.jp/press/2019/20190829\\_1/index.html](https://www.riken.jp/press/2019/20190829_1/index.html)  
運命が先か、かたかが先か、それが問題だ  
<https://www.bdr.riken.jp/jp/news/2019/research019.html>  
A place for every cell and every cell in its place  
[elifesciences.org/digests/45145/a-place-for-every-cell-and-every-cell-in-its-place](http://elifesciences.org/digests/45145/a-place-for-every-cell-and-every-cell-in-its-place)  
Laboratory for Morphogenetic Signaling home page.  
<http://signaling.riken.jp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岩根 敦子  (Iwane Atsuko)  (30252638)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー   (82401)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	稲垣 幸  (Sachi Inagaki)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------