

Title	棘皮動物イトマキヒトデにおける個性の確立と維持
Sub Title	Establishment and maintenance of individuality in the starfish, <i>Patiria pectinifera</i> .
Author	古川, 亮平(Furukawa, Ryohei)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>本研究は、イトマキヒトデにおいて個性が確立される変態過程において免疫系が担う役割を、幼生の炎症制御システムとの比較解析によって明らかにするものである。</p> <p>まず、幼生におけるMIFを中心とした炎症制御システムを明らかにするために、酵母Two-Hybrid法によるMIF受容体の探索を計画していたが、残念ながら陽性クローンが一つも得られなかった。そこで方針を変え、架橋剤を用いてHisTag融合MIFと幼生の免疫細胞の膜タンパク質の架橋を試み、HisTagに対するアフィニティークロマトグラフィーによる受容体探索を行った。その結果、クラスB Gタンパク質共役受容体 (GPCR) ファミリーに属するタンパク質が候補として得られた。このタンパク質の遺伝子配列をもとに、タンパク質の翻訳阻害剤であるモルフォリノアンチセンスオリゴを設計して受容体候補をノックダウンしたところ、2種のMIFのうち、免疫細胞に対する走化性因子として機能するApMIF2のノックダウンと同じ表現型が得られた。また、先行研究で取得済みの、2種のMIFで刺激した免疫細胞の時系列トランスクリプトームデータを用いて、MIFの下流シグナルを探索したところ、Rho GTPase、ERK、JNK、Notch等のシグナル経路が有意に活性化されている可能性が示唆された。</p> <p>一方、変態過程の時系列トランスクリプトームデータから、変態の最初期で活性化される遺伝子群を抽出し、エンリッチメント解析を行った。その結果、GPCR ligand binding、MAPK signaling pathway等のGO termがエンリッチされた。さらに、得られたタンパク質-タンパク質相互作用ネットワークにおいて、notch遺伝子がネットワークのハブとして機能していることが示唆された。</p> <p>これらの結果から、幼生の炎症反応と変態初期過程の遺伝子発現は、ある程度似ていることが推測された。今後、両現象の相違について、いくつかの遺伝子の機能解析を行いながらさらに追求していく予定である。</p> <p>The aim of this study is to clarify the role of the immune system in the metamorphosis process in which individuality is established in <i>Patiria pectinifera</i> by comparative analysis with the larval inflammation control system.</p> <p>First, in order to clarify the MIFs-driven inflammatory response in larvae, we planned to search for the MIF receptors by the yeast Two-Hybrid system, but unfortunately no positive clones were obtained. Therefore, we attempted to crosslink HisTag recombinant MIFs and the membrane protein of larval immune cells using a cross-linking agent, and searched for the receptors by affinity chromatography on HisTag. As a result, proteins belonging to the class B G protein-coupled receptor (GPCR) family were obtained as candidate. Based on the gene sequence of this protein, we designed a morpholino antisense oligo, which is a protein translation inhibitor, and knocked down the receptor candidate. The knockdown phenotype was similar to that of ApMIF2, which functions as a chemotactic factor for immune cells. In addition, when the downstream signals of MIF were searched using the time-series transcriptome data of immune cells stimulated with two types of MIF acquired in the previous study, it was suggested that the signal pathways related to Rho GTPase, ERK, JNK, and Notch were significantly activated by the MIFs.</p> <p>On the other hand, we extracted genes activated at the earliest stage of metamorphosis from the time-series transcriptome data of the metamorphosis process, and performed an enrichment analysis. As a result, GO terms such as GPCR ligand binding and MAPK signaling pathway were enriched. Furthermore, it was suggested that notch gene functions as a network hub in the obtained protein-protein interaction (PPI) network.</p> <p>Taken together, it was inferred that the inflammatory response in larva and the gene expression in the early stage of metamorphosis are similar to some extent. In the future, we plan to further investigate the differences between the two phenomena while analyzing the functions of hub genes in the PPI network.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000009-20200046

保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	文学部	職名	助教	補助額	1,272 千円
	氏名	古川 亮平	氏名（英語）	Ryohei Furukawa		
研究課題（日本語）						
棘皮動物イトマキヒトデにおける個性性の確立と維持						
研究課題（英訳）						
Establishment and maintenance of individuality in the starfish, <i>Patiria pectinifera</i> .						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
古川亮平（Ryohei Furukawa）		文学部・生物学教室・助教				
田口瑞姫（Mizuki Taguchi）		文学部・生物学教室・助教				
1. 研究成果実績の概要						
<p>本研究は、イトマキヒトデにおいて個性性が確立される変態過程において免疫系が担う役割を、幼生の炎症制御システムとの比較解析によって明らかにするものである。</p> <p>まず、幼生における MIF を中心とした炎症制御システムを明らかにするために、酵母 Two-Hybrid 法による MIF 受容体の探索を計画していたが、残念ながら陽性クローンが一つも得られなかった。そこで方針を変え、架橋剤を用いて HisTag 融合 MIF と幼生の免疫細胞の膜タンパク質の架橋を試み、HisTag に対するアフィニティークロマトグラフィーによる受容体探索を行った。その結果、クラス B G タンパク質共役受容体(GPCR)ファミリーに属するタンパク質が候補として得られた。このタンパク質の遺伝子配列をもとに、タンパク質の翻訳阻害剤であるモルフォリノアンチセンスオリゴを設計して受容体候補をノックダウンしたところ、2 種の MIF のうち、免疫細胞に対する走化性因子として機能する ApMIF2 のノックダウンと同じ表現型が得られた。また、先行研究で取得済みの、2 種の MIF で刺激した免疫細胞の時系列トランスクリプトームデータを用いて、MIF の下流シグナルを探索したところ、Rho GTPase、ERK、JNK、Notch 等のシグナル経路が有意に活性化されている可能性が示唆された。</p> <p>一方、変態過程の時系列トランスクリプトームデータから、変態の最初期で活性化される遺伝子群を抽出し、エンリッチメント解析を行った。その結果、GPCR ligand binding、MAPK signaling pathway 等の GO term がエンリッチされた。さらに、得られたタンパク質-タンパク質間相互作用ネットワークにおいて、notch 遺伝子がネットワークのハブとして機能していることが示唆された。</p> <p>これらの結果から、幼生の炎症反応と変態初期過程の遺伝子発現は、ある程度似ていることが推測された。今後、両現象の相違について、いくつかの遺伝子の機能解析を行いながらさらに追求していく予定である。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>The aim of this study is to clarify the role of the immune system in the metamorphosis process in which individuality is established in <i>Patiria pectinifera</i> by comparative analysis with the larval inflammation control system.</p> <p>First, in order to clarify the MIFs-driven inflammatory response in larvae, we planned to search for the MIF receptors by the yeast Two-Hybrid system, but unfortunately no positive clones were obtained. Therefore, we attempted to crosslink HisTag recombinant MIFs and the membrane protein of larval immune cells using a cross-linking agent, and searched for the receptors by affinity chromatography on HisTag. As a result, proteins belonging to the class B G protein-coupled receptor (GPCR) family were obtained as candidate. Based on the gene sequence of this protein, we designed a morpholino antisense oligo, which is a protein translation inhibitor, and knocked down the receptor candidate. The knockdown phenotype was similar to that of ApMIF2, which functions as a chemotactic factor for immune cells. In addition, when the downstream signals of MIF were searched using the time-series transcriptome data of immune cells stimulated with two types of MIF acquired in the previous study, it was suggested that the signal pathways related to Rho GTPase, ERK, JNK, and Notch were significantly activated by the MIFs.</p> <p>On the other hand, we extracted genes activated at the earliest stage of metamorphosis from the time-series transcriptome data of the metamorphosis process, and performed an enrichment analysis. As a result, GO terms such as GPCR ligand binding and MAPK signaling pathway were enriched. Furthermore, it was suggested that notch gene functions as a network hub in the obtained protein-protein interaction (PPI) network.</p> <p>Taken together, it was inferred that the inflammatory response in larva and the gene expression in the early stage of metamorphosis are similar to some extent. In the future, we plan to further investigate the differences between the two phenomena while analyzing the functions of hub genes in the PPI network.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
田口瑞姫、田中啓介、佐藤晴香、志波優、伊藤武彦、古川亮平	イトマキヒトデの変態初期過程のトランスクリプトーム解析	日本動物学会 第 91 回大会	2020 年 9 月			