慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	棘皮動物イトマキヒトデにおけるマクロファージ遊走阻止因子受容体の同定
Sub Title	Identification of macrophage migration inhibitory factor receptor in Patiria pectinifera.
Author	田口, 瑞姫(Taguchi, Mizuki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2022
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究では、イトマキヒトデ幼生の間充織細胞の免疫行動を制御する２種類のマクロファージ遊走阻止因子（MIF）の受容体を探索した。先行研究によりヒトデMIF受容体の候補としてN末端側の長さが異なる２種類が得られているため、これら候補分子のN末端配列に特異的なモルフォリノアンチセンスオリゴ（MO）を設計し、卵に注射することで翻訳阻害実験を行った（Short-MO、Long-MO）。MOを注射した個体は、コントロール個体に比べて有意に個体サイズが小さく、発生が遅れる傾向がみられたが、形態的に大きな差は認められなかった。この特徴は、MIFを翻訳阻害した場合にみられるものと酷似していた。 幼生に油滴を注射し、異物に対する間充織細胞の動態を観察したところ、コントロール個体では間充織細胞が油滴に集積し全体を包囲化したが、受容体候補を翻訳阻害したShort-MO個体では、間充織細胞は油滴に向かって遊走し接着はするものの包囲化には至らなかった。Long-MO個体では間充織細胞は幼生体内をランダムに動き回ったが、方向性を持った遊走はみられず、油滴への接着も観察されなかった。間充織細胞の遊走を促進するMIF2の受容体を翻訳阻害した場合、異物への積極的な遊走は観察されなくなると予想されるため、本研究で検証した候補分子がMIF受容体の可能性が考えられる。一方で、遊走を抑制するMIF1の受容体を翻訳阻害した場合には、抑制因子を欠くために異物への激しい細胞遊走を生じると予想されるが、本研究ではそのような挙動は観察されなかった。 今後は、受容体の可能性が示された分子について、２つのタンパク質間相互作用を検出することができる酵母Two-Hybrid法を用いてヒトデMIFと結合しうるかを検証する予定である。また、その他受容体候補を探索するために再度ヒトデ幼生の膜タンパク質とMIF融合タンパク質との複合体をSDS-PAGEにより分離し、質量分析計で解析する。 In this study, we searched the receptors of two macrophage migration inhibitory factors (MIFs) that regulate the immune behavior of larvae of Patiria pectinifera. In previous study, two types of candidate molecules with different length on the N-terminal side were obtained. To knockdown these genes expression, two morpholino antisense oligonucleotides (Short-MO, Long-MO), which are specific for each N-terminal sequence, were injected into eggs, respectively. The larvae injected with each MO were significantly smaller in size than the control larvae and tended to be delayed in development, but no morphological difference was observed. These phenotypes were similar with that of MIFs-knockdown larvae. Next, we injected oil droplet into the larvae to observe the dynamics of the mesenchyme cells to foreign substances. In the control larvae, the mesenchyme cells encapsulated the oil droplet. In Short-MO injected larvae, mesenchyme cells migrated toward the oil droplet and adhered to it, but they did not encapsulated it. In Long-MO injected larvae, mesenchyme cells randomly moved around, but directional migration and adhesion to the oil droplet were not observed. Knockdown of the receptor for MIF2, which is a factor that promotes migration of mesenchyme cells, is expected to cause the inhibition of active migration of the mesenchyme cells toward to foreign substances. Therefore, it is possible that the candidate molecules verified in this study is the MIF2 receptors. On the other hand, inhibition of the receptor for MIF1, which is a migration inhibitory factor for mesenchyme cells, is expected to cause the excessive migration of the mesenchyme cells toward the foreign material, but such behavior was not observed in this study. In the future, we plan to verify whether these candidate molecules could actually bind to starfish MIFs using the yeast Two-Hybrid method, which detect the interaction between two proteins. In addition, to explore other receptor candidates, especially MIF1 receptor candidate, we also plan to perform the affinity chromatography with recombinant MIF proteins and the larval membrane proteins again.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2021000003-20210178

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。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.

2022 年 4 月 5 日

2021 年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	文学部	職名	助教（有期）（自然科学）	補助額	200 （B）千円
	氏名	田口 瑞姫	氏名（英語）	Mizuki Taguchi		

研究課題（日本語）

棘皮動物イトマキヒトデにおけるマクロファージ遊走阻止因子受容体の同定

研究課題（英訳）

Identification of macrophage migration inhibitory factor receptor in Patiria pectinifera.

１．研究成果実績の概要

本研究では、イトマキヒトデ幼生の間充織細胞の免疫行動を制御する２種類のマクロファージ遊走阻止因子（MIF）の受容体を探索した。先行研究によりヒトデ MIF 受容体の候補として N 末端側の長さが異なる２種類が得られているため、これら候補分子の N 末端配列に特異的なモルフォリノアンチセンスオリゴ（MO）を設計し、卵に注射することで翻訳阻害実験を行った（Short-MO、Long-MO）。MO を注射した個体は、コントロール個体に比べて有意に個体サイズが小さく、発生が遅れる傾向がみられたが、形態的に大きな差は認められなかった。この特徴は、MIF を翻訳阻害した場合にみられるものと酷似していた。

幼生に油滴を注射し、異物に対する間充織細胞の動態を観察したところ、コントロール個体では間充織細胞が油滴に集積し全体を包囲化したが、受容体候補を翻訳阻害した Short-MO 個体では、間充織細胞は油滴に向かって遊走し接着はするものの包囲化には至らなかった。Long-MO 個体では間充織細胞は幼生体内をランダムに動き回ったが、方向性を持った遊走はみられず、油滴への接着も観察されなかった。間充織細胞の遊走を促進する MIF2 の受容体を翻訳阻害した場合、異物への積極的な遊走は観察されなくなると予想されるため、本研究で検証した候補分子が MIF 受容体の可能性が考えられる。一方で、遊走を抑制する MIF1 の受容体を翻訳阻害した場合には、抑制因子を欠くために異物への激しい細胞遊走を生じると予想されるが、本研究ではそのような挙動は観察されなかった。

今後は、受容体の可能性が示された分子について、2つのタンパク質間相互作用を検出することができる酵母 Two-Hybrid 法を用いてヒトデ MIF と結合しうるかを検証する予定である。また、その他受容体候補を探索するために再度ヒトデ幼生の膜タンパク質と MIF 融合タンパク質との複合体を SDS-PAGE により分離し、質量分析計で解析する。

２．研究成果実績の概要（英訳）

In this study, we searched the receptors of two macrophage migration inhibitory factors (MIFs) that regulate the immune behavior of larvae of Patiria pectinifera. In previous study, two types of candidate molecules with different length on the N-terminal side were obtained. To knockdown these genes expression, two morpholino antisense oligonucleotides (Short-MO, Long-MO), which are specific for each N-terminal sequence, were injected into eggs, respectively. The larvae injected with each MO were significantly smaller in size than the control larvae and tended to be delayed in development, but no morphological difference was observed. These phenotypes were similar with that of MIFs-knockdown larvae.

Next, we injected oil droplet into the larvae to observe the dynamics of the mesenchyme cells to foreign substances. In the control larvae, the mesenchyme cells encapsulated the oil droplet. In Short-MO injected larvae, mesenchyme cells migrated toward the oil droplet and adhered to it, but they did not encapsulated it. In Long-MO injected larvae, mesenchyme cells randomly moved around, but directional migration and adhesion to the oil droplet were not observed. Knockdown of the receptor for MIF2, which is a factor that promotes migration of mesenchyme cells, is expected to cause the inhibition of active migration of the mesenchyme cells toward to foreign substances. Therefore, it is possible that the candidate molecules verified in this study is the MIF2 receptors. On the other hand, inhibition of the receptor for MIF1, which is a migration inhibitory factor for mesenchyme cells, is expected to cause the excessive migration of the mesenchyme cells toward the foreign material, but such behavior was not observed in this study.

In the future, we plan to verify whether these candidate molecules could actually bind to starfish MIFs using the yeast Two-Hybrid method, which detect the interaction between two proteins. In addition, to explore other receptor candidates, especially MIF1 receptor candidate, we also plan to perform the affinity chromatography with recombinant MIF proteins and the larval membrane proteins again.

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）