

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation
- 研究開発課題名： (日本語) 上皮組織の形状変化を介したメカノフィードバックによる器官形成機構の解明
(英語) Molecular mechanisms of mechano-feedback from epithelial architecture in organogenesis
- 研究開発担当者 (日本語) 京都大学大学院生命科学研究科 特定助教 近藤武史
所属 役職 氏名： (英語) Kyoto University, Graduate school of Biostudies, Program-Specific Assistant Professor, Takefumi Kondo
- 実施期間： 平成 28 年 10 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語)
開発課題名： (英語)
- 研究開発分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

我々の体は適切な「形」と「機能」をもった器官がうまく組み合わさることによって成り立っている。近年、幹細胞を用いて器官の形成を生体外で再現する人工器官製作の技術開発が進んでおり、再生医療のみならず疾患モデルや創薬にも貢献すると期待されている。本研究では、この器官形成の頑強性を保証するメカニズムの一端明らかにするために、ショウジョウバエの胚発生をモデル系として、細胞が上皮組織形状の変化という物理的情報を感知することで自身の分化を制御する機構の解明を目指して研究を進めている。それにより、器官の「形」と「機能」を正確に整合させるための新たなメカノフィードバックシステムについて分子レベルで明らかにすることを全研究期間の目的とする。

ショウジョウバエ器官形成過程で作用する新規メカノバイオロジー機構を解明するための足掛かりを得るために、ショウジョウバエ遺伝学の利点を生かして個体レベルでの変異体スクリーニングを行い、細胞の組織形状感知に関わる新規候補遺伝子を同定することを計画している。これまでの解析により、ショウジョウバエ発生過程において管状上皮組織ではエンハンサーとして作用し、シート状上皮組織ではリプレッサーとして作用すると考えられる新規遺伝子発現調節領域を同定している。そこで、エチルメタンスルホン酸（EMS）を変異原とした突然変異系統を網羅的に作成し、その中からこの遺伝子発現調節領域が管状上皮組織形状において活性化しない、もしくはシート状組織形状で異所的に活性化してしまう変異体をスクリーニングする。本年度はまずスクリーニングに必要となるショウジョウバエ系統を樹立すると同時に、顕微鏡等の必要な機器を導入し遺伝学スクリーニングを遂行するための準備を整えた。そして、EMSによる突然変異誘発と変異系統樹立のパイプラインを確立し、まず345の突然変異系統を確立した。そのうち230系統はホモ接合体致死となり、115系統はホモ接合体が生存した。ホモ接合体が生存する系統について、幼虫および成虫での遺伝子発現制御領域の活性を解析したが、その活性が変化する変異系統は同定できなかった。ホモ接合体致死となる系統については胚のライブイメージングによる解析を進めている。

Our bodies are composed of multiple organs that have proper shape and functions. Recently, technologies to reproduce the formation of organs *ex vivo* using stem cells have achieved an amazing development and these organoids are expected to contribute not only to regenerative medicine, but also for disease models and drug development. In this project, by using *Drosophila* embryogenesis as a model system, I am trying to uncover molecular and cellular mechanisms that ensure the robustness of organogenesis. Especially, I am focusing on mechano-sensing mechanisms by which cells respond to the change of epithelial tissue architecture and adjust their gene expression during organogenesis. In the end, I aim at uncovering the novel mechano-feedback system to harmonize tissue architecture with cellular functions precisely at molecular levels.

To get clues, by taking the great advantage of *Drosophila* genetics, I planned to do genetic screening to identify novel candidate genes that contribute to this novel mechano-feedback system. I had identified a gene regulatory element that supposedly functioned as an enhancer in tubular epithelial tissues but as a repressor in sheet epithelial tissues. Therefore, I have conducted EMS mutagenesis and screened for mutant strains that show the loss of enhancer activity of this element in tubular tissues, or abnormal enhancer activity in sheet tissues. In this fiscal year, I prepared fly strains to start EMS screening, and introduced necessary equipment such as a microscope. Then, I established the experimental pipeline for EMS mutagenesis and obtained 345 mutant strains. Out of 345 strains, 230 strains were homozygous lethal and 115 strains were viable. For these viable strains, I analyzed the activity of the regulatory element by using larvae and adult flies, but I identified no mutant strains that showed abnormal activity of the gene regulatory element. For homozygous lethal strains, live-imaging analysis of embryos is proceeding.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）
該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. A positive transcriptional feedback coordinates tissue architecture with cell fate during tubulogenesis, 口頭,
Takefumi Kondo and Shigeo Hayashi
Joint Meeting of the German and Japanese Societies of Developmental Biologist, 2017/3/15-18, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし