

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

●相垣 敏郎¹⁾ ◆林 茂生²⁾ ◆上田 龍³⁾

1) 首都大学東京・大学院理工学研究科 2) 理化学研究所・CDB

3) 国立遺伝学研究所・系統生物研究センター

<研究の目的と進め方>

遺伝子機能を解明するためには、遺伝子を破壊、改変し、それらの結果生ずる表現型を手がかりにして、詳細な解析を進める。表現型の判定には体色、酵素アイソザイムなど単純なものから、遺伝子発現（マイクロアレイ）、組織形態、行動などより複雑かつ高次の生命機能まで様々である。一方で、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正確に判断し、新奇の機能を発見するためには、表現型測定を精度を上げることが肝要である。そこで、本研究課題では、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開発を行う。具体的には、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目的とする。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の連携によって推進する。また、新奇の機能をもつことが推定される遺伝子については、詳細な機能解析を行う。

<研究開始時の研究計画>

ショウジョウバエ翅の表現型と胚発生の表現型を解析の対象とする。それぞれの研究計画と研究分担は以下のとおりである。

1) 翅の表現型

研究代表者（相垣）と研究分担者（上田）は、それぞれGS系統、およびRNAi系統を用いて、標的遺伝子の強制発現、あるいは機能をノックダウンする方法で変異体を作製する。翅原基でGAL4を発現するsd-Gal4系統に交配し、そのF1個体の翅標本を作製し、画像データとして収集する。計算機を使って翅の形状をあらわす指標を求める。翅の大きさをあらわす指標として、前後軸方向、遠近軸方向、およびそれらの比を指標とする（本領域の東大・森下真一博士との共同研究）。強制発現、あるいはRNAiにより顕著な表現型を示した新規の遺伝子については、より詳細な解析を行なう。強制発現、あるいはRNAiにより顕著な表現型を示した新規の遺伝子については、より詳細な解析を行なう。特に、翅の大きさに影響を与えた遺伝子については、翅の大きさに影響を与えた遺伝子について、翅以外の組織の大きさに及ぼす影響を検討する。また、機能的関連性が示唆されているインスリン経路、酸化ストレス感受性、寿命との表現型との関連を検討する。

2) 胚発生の表現型

研究分担者（林）は、Gene Search スクリーンによって得られた形態形成の制御因子の解析を進める。また、胚の細胞イメージングの技術を高めることを通じて形態形成の定量的・数理解析の基盤を作る。ショウジョウバエ胚の各種組織を用いて、アクチン繊維、ミオシン、カドヘリンなどの分布をタイムラプス撮影し、

4次元画像のデジタル化、表現型の定量化の方法を検討する。生物資料特有の像のばらつきを評価するために多検体サンプルの同時撮影の系を立ちあげる。気管上皮の陥入過程をタイムラプス撮影で記録して手動で様々な測定を試みる。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（生命システム班員大浪修一氏のグループとの共同研究による）。これらの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引き続き進める（本多久夫 兵庫大学教授との共同研究）。

3) ショウジョウバエゲノムの転写開始点の解析：GS系統を用いた強制発現、および誘導型RNAi法は、何れも既存のアノテーションに基づいて、強制発現される遺伝子の予測や、ノックダウン対象遺伝子の選択をおこなっている。しかし、ゲノムのアノテーションは依然として不完全であり、特に転写開始点の情報が不足しているのが実情である。そこで、本領域の東大・森下班員、および橋本班員との共同研究として、ショウジョウバエゲノムの転写開始点タグをゲノムワイドに収集するとともに、発生段階、および老化に伴う転写活性の変化を解析する。GS系統を用いた強制発現によって生じた表現型の原因遺伝子をより正確に推定するために、ショウジョウバエゲノムの転写開始点の情報を取得する。さらに、ショウジョウバエゲノムの転写開始点タグをゲノムワイドに収集した。発生段階、および老化に伴う転写活性の変化を解析する。また、P-elementの挿入位置と転写開始点が高い相関関係があることが知られている。GSベクターを含めた全てのP-elementベクターについて、挿入位置と転写開始点との関係を解析する（本領域の東大・森下班員、橋本班員との共同研究）。

<研究期間の成果>

2005 年度

1) 翅の表現型

ショウジョウバエのゲノム情報がアップデートされたため、各GS系統におけるマップ情報の大幅な見直しを行った。同時に、ベクター挿入サイトを決定するために用いたベクター隣接配列を見直し、信頼性が低いものを選択的に取り除く作業を実施した。ベクター隣接部位のゲノム配列を決定するために、Ligation-mediated-PCR法を確立した。この方法では、挿入系統のゲノムDNAを抽出し、制限酵素で切断したあと、ベクター配列を含む断片を特異的に増幅する。従来の方法に比べて効率よく、ハイスループとで隣接配列の情報を取得できるようになった。マッピングを試みた約16,000系統のうち、約11,000系統について、高い信頼性で挿入位置を決定することができた。LM-PCR法の詳細、および個々の系統情報は、ベクター隣接配列、GAL4存在下で強制発現される遺伝子（センスあるいはアンチセンス）を、DGSPのデータベース（<http://gsdb.biol.metro-u.ac.jp/%7Edclust/>）に公開した。

GS系統をsd-GAL4系統に交配して、GSベクター下流の遺伝子を強制発現させたときの翅画像を、各系統あたり、雌雄それぞれ

れ10個体の翅画像を取得した。計算機による画像解析の利点は定量的に測定できることである。特に、組織の大きさ³⁾は、目視による観察では検出することが非常に困難な形態情報であるため、これまで極端な違いを示すものしか扱うことができなかった。翅のサイズに関わることがわかっているインスリンシグナリング経路で正の因子として機能する、PDK1、およびS6K遺伝子について調べたところ、いずれも強制発現によってサイズが大きくなっていることが確認された。逆に、アンチセンス方向に強制発現が起こるものでは、翅のサイズを小さくなっていることを検出することがわかった。

RNAi系統については、sd-GAL4系統と交配し、翅画像データの取得を行なった(東京大学分生研、多羽田博士との共同研究)。現在までに、4,704遺伝子について交配を行ない、そのうち1,444遺伝子(30.7%)について、少なくとも一つの系統で、28℃か25℃のどちらかで、adultの翅の「顕著な」形態異常が観察された。

2) 胚発生の表現型

GS系統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。これらはいずれも機能が重複する複数の遺伝子がかかわっているものである。具体的には、1)上皮細胞接着の制御：カドヘリン活性を制御する原癌遺伝子Srcのホモログとして、Src42A、Src64Bの二つの遺伝子が存在し、ともに広く発現する。2)膜蛋白質Notchの制御：HECT型ユビキチンリガーゼNedd4。これにはSu(dx),smurfの類似遺伝子がある。3)細胞間認識：神経形成にかかわる膜蛋白Capriciousの脚の分節化の機能解析。類似遺伝子にはTartanがある。これらはいずれも関連する遺伝子の機能すべてを破壊しないと解釈可能な明瞭な表現型が得られないことがわかった。

2006年度

1) 翅の表現型

強制発現ベクター挿入系統を用いて、翅原基で強制発現させ、表現型を画像データとして収集した。画像データの解析では、支脈の長さ以外に、翅の細毛数をカウントする方法について検討した。翅の大きさをあらわす指標として、前後軸方向、遠近軸方向、およびそれらの比をとり、約2,000系統の中から、トップ50を選び出し、それぞれに系統において強制発現された遺伝子をゲノムの挿入位置から推定した。大きくする方向に働いた遺伝子の中には、体の大きさに影響を与えることがすでにわかっているインスリンシグナル経路のコンポーネントが含まれていた。上記の3種パラメーター値で、Top 50にランクされた原因遺伝子について、対応するRNAi系統の選別を行ない、表現型情報を取得した。

個別遺伝子の研究では、雌不妊を引き起こす変異体として同定したsraについて、遺伝子ターゲティングによる機能破壊変異体を作製し、表現型を詳細に解析した。その結果、sra遺伝子はヒトダウン症関連遺伝子として知られているDSCR1のホモログであり、カルシニューリン(カルシウムカルモジュリン依存性フォスファターゼ)の制御因子として機能しているものと考えられる。機能破壊変異体は、雌の減数分裂を完了することができず、第1分裂後期でとどまることがわかった。また、表現型は不妊だけでなく、寿命や行動に著しい異常が認められ、遺伝子の機能が多岐にわたっていることが判明した。その他、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。

RNAi系統については、約7,000遺伝子に対応する系統を樹立した(13,600系統)。このうち、4,700遺伝子について(sd-GAL4で)翅の形態変化を調べたところ、1,460遺伝子(31%)では致死や極度の形態異常を示し、本研究における画像解析に適しない

ことが判明した。すなわち、およそ7割の遺伝子でその機能の検定が期待される。またRNAi系統のデータベースは<http://www.shigen.nig.ac.jp/fly/nigfly/>で公開した。

2) 胚発生の表現型

Gene Searchスクリーンによって得られた上皮形成に関わる因子IKKεの解析を行った。その結果IKKεがカスパーゼシグナリングを通じて細胞骨格系を制御し、細胞の形態形成と分化を制御する新規なメカニズムを担う事が明らかになった。また新規核内因子ChnがEGFRとNotchの下流において働く転写抑制因子であること、Chnが哺乳動物で知られていた神経分化抑制分子NRSFに類似な働きを持つことを示した。また、胚の上皮の移動現象(dorsal closure)と翅成虫原基の陥入と後方移動におけるインテグリン依存的細胞間接着の機構をイメージング技術と遺伝学を用いて解析した。

2007年度

1) 翅の表現型

GS系統、およびRNAi系統を用いて、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。画像データを解析し、各種パラメータを取得した。翅の大きさは細胞の増殖や成長と密接な関連にあり、少なくとも、大きさに影響を与える遺伝子の中には、インスリン/IGFシグナル系に関わる遺伝子が含まれていた。インスリンシグナルは、組織の大きさを制御するとともに、ストレス耐性や寿命とも関わっていることが知られている。そこで、遺伝子強制発現による酸化ストレス耐性の表現型と翅の大きさとの関連を解析した。比較的安定したストレス耐性を示すものとして、約20個の遺伝子を同定した。これらについて、翅の大きさにどのように影響があるかを調べたところ、95%の系統において翅を小さくする方向に作用しており、体の大きさと逆相関が認められた。原因遺伝子がインスリン経路といかなる関係にあるかは不明であるが、少なくともこれらの系統では、体の大きさを小さくするとともに、ストレス耐性を強化したと考えられる。

個別遺伝子の研究としては、チオレドキシンファミリーに属する3つの遺伝子(*Trx-2*, *dhd*, *Trx-T*)について、機能解析をおこなった。*Trx-2*は、過剰発現で酸化ストレス耐性が上昇する遺伝子として同定した。この遺伝子の強制発現により、ショウジョウバエのパarkinソン病モデルの表現型が改善されることが判明した。また、その機能は、他の二つの遺伝子を強制発現しても同様の効果が認められた。その機能には、*Trx-2*のシャペロン活性が重要であることを示した。一方、*Trx-2*の機能欠損変異体は、酸化ストレス高感受性となるが、*dhd*および*Trx*の変異体では、ストレス耐性に変化は見られなかった。これは、二つの遺伝子の発現が主に生殖細胞に限られていることによるものと考えられる(Tsuda et al., 2007)。

2) 胚発生の表現型

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。細胞間マトリクスレセプターであるインテグリンの変異体におけるタイムラプス解析から、変異体はいったん深刻な上皮の開裂が起きるがその後損傷部位の修復反応が活性化されて最終的な表現型は比較的軽度に戻ることがわかった(Wada et al., 2007)。この結果はインテグリンがこれまで考えられていた外胚葉上皮の伸展運動ではなく胚体外細胞層との接着に主要な機能を持つという新しい発見につながった。ショウジョウバエ胚外胚葉から陥入した翅成虫原基が体腔内で気管に接着して後方に移動する事を見いだした。この移動には翅原基特異的なラミニンアイソ

フォームの発現が必要とされており、異種組織間の相互作用と細胞移動にインテグリンシグナル が関与している事を示すはじめての報告となった (Inoue and Hayashi 2007)。ショウジョウバエの気管は二次元平面である外胚葉上皮が陥入して三次元の管腔系に転換される事で開始する。我々はこの陥入プロセスを撮影し、上皮細胞の変形、細胞相互の位置変化 (cell intercalation)、そして細胞分裂のパターンを定量的に評価した。その結果陥入開始以前に気管原基内では細胞の再配列と細胞境界の平滑化がおき、その動きにはミオシン分子の細胞接着部位における濃縮が伴っていることを見いだした。ミオシン濃縮は円環状に中心から周囲に拡大し、そのパターンは EGFR シグナルの活性の伝播パターンと一致した。この結果は EGFR が円環状の列をなして活性化することで気管原基における陥入活動を統合する事を意味する。この結果は陥入における細胞運動を制御するシグナルの伝播を可視化したはじめての仕事である (Nishimura et al., 2007)。影山裕二博士 (奈良先端大、現基礎生物学研究所) と協力して新奇遺伝子 Pri の機能解析を行った。Pri は最短で 11 アミノ酸の複数のペプチドをコードするポリシストロニックな遺伝子で進化的に保存されていた。気管と表皮分化のタイムラプス解析により Pri の機能はアクチン繊維の編成を制御する事が明らかとなった (Kondo et al., 2007)。

3) ショウジョウバエゲノムの転写開始点情報の収集

ショウジョウバエの各発生段階から RNA を調整し、オリゴキャップ法による 5' SAGE 解析、および Solexa によって取得した転写開始点タグの解析を開始した。

2008 年度

1) 翅の表現型

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。それぞれの翅から形態パラメータを取得した。翅の大きさは細胞の増殖や成長と密接に関連にあり、多様な遺伝子が大きさに影響を与える。たとえば、インスリン / IGF シグナル経路は、体のサイズを正に制御していることが知られている。今回、解析したサンプルの中で、インスリン受容体 (InR) や PDK1 など既知のインスリンシグナル経路を構成する遺伝子が含まれていたが、それ以外の多くの遺伝子が翅のサイズに影響を及ぼした。インスリンシグナルの低下は、ストレス抵抗性が增大することが知られているが、これらの関係が一般化できるかどうか不明である。そこで、約 3,000 の GS 系統については、酸化ストレスに対する抵抗性について測定を行い、それらの表現型と翅の大きさとの関連を解析した。比較的安定したストレス抵抗性を示すものとして、約 20 個の遺伝子を同定した。これらについて、翅の大きさに及ぼす影響との関係を調べたところ、95% の系統において翅を小さくする方向に作用していた。このことは、原因遺伝子がインスリン経路といかなる関係にあるかは不明であるが、体の大きさとストレス抵抗性の間に負の相関関係があることを示唆した。

また、上記のスクリーニングで得られた新規遺伝子の一つについて、インスリン経路ではたらく遺伝子との相互作用を調べた。インスリンシグナルとの直接の相互作用は認められなかったが、タンパク質合成系の遺伝子との相互作用が認められた。また、RNAi 系統を使って、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。

2) 胚発生の表現型

ライブイメージング技術を駆使して、を駆使して以下の成果を得た。i) 原癌遺伝子 Src のショウジョウバエホモログの機能解析を行った。まず相垣班員の確立した GS 系統を用いたスクリーニングで細胞接着を不安定化する因子として Src を同定した。そし

て Src が細胞接着分子の動的な入れ替わりに関わる事を生体内における定量的蛍光イメージング技術 (FRAP) を用いて明らかにした。また Src が Armadillo (beta-catenin) と共同して細胞接着を維持する機構を明らかにした (Shindo et al., 2008)。この結果は Src が癌化だけではなく正常発生においても細胞接着制御に深く関わることを示すものである。ii) 気管の融合は球形の先端細胞がトラス型 (ドーナツ型) への形態変換を起こすことで可能になる。この構造変換は細胞膜のトポロジーの変換に相当する。我々はこのプロセスにおいて特異的に発現する因子 Arl3 を同定し、これがトポロジーの変換に必須であることを示した。Arl3 は低分子量 G 蛋白質で細胞内膜系の形態制御に関わる事がわかった。これらの結果は細胞内膜系の制御により細胞膜のトポロジーを変化させうる事を示している (Kakihara et al 2008)。iii) 動物個体を用いたタイムラプスイメージングには蛍光の褪色、組織のランダムな動きによる ROI の移動、大量の三次元像の扱いの難しさなどの問題がある。これらの問題について議論し、解決策となりうる画像処理ツールを開発した (Kato and Hayashi, 2008)。これらのツールは理研のサイトから一般に公開した (<http://www.cdb.riken.jp/signal/>)。iv) 細胞形態の定量的解析技術を確認するために上皮プラコードの陥入をモデルとして定量化・モデル化を行っている。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 (生命システム班員大浪修一氏のグループとの共同研究による)。これにより細胞の頂点、面積、などの時空間的データが得られた。これらの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行っている (本多久夫 兵庫大学教授との共同研究)。

2009 年度

1) 翅の表現型

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。画像の自動解析ができなかったものがあったため、解析ソフトウェア改良を行った (森下班員との共同研究)。翅の形態のパラメーターを詳細に定義して用いていたが、実験研究者の立場からは、むしろ大まかな指標を用いたほうが直感的にとらえやすいことから、各区画の面積、翅脈の長さ、前後軸方向、遠近軸方向の長さを用いた翅形態の分類を試みた。その結果、全部あるいは後部区画特異的に大きさに影響を与える遺伝子群を見いだした。個別遺伝子の研究としては、クロマチン修飾因子ヒストンメチル転移酵素の活性が酸化ストレス感受性と密接に関連することを示した。RNAi 系統を使って、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い、画像データをデータベース化した。

2) 胚発生の表現型

ライブイメージング技術を駆使して、Src が細胞接着分子の動的な入れ替わりに関わる事、気管の融合過程において特異的に発現する因子 Arl3 がトポロジーの変換に必須であることを示した。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。

3) ショウジョウバエゲノムの転写開始点

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た。データベースを作製し、公開した (本領域の森下班員との共同研究、Ahsan et al., 2009)。

<国内外での成果の位置づけ>

Gene Search 強制発現系統、および RNAi 系統は研究代表者 (相垣)、および分担者 (上田) によって作成されたオリジナルコレクションであり、これらを使って、大規模に表現型情報を収集・

計算機による解析、データベース化する試みは他に類をみない。従来の直接観察法では見逃されていた多くの遺伝子について、それらの機能解析の糸口を与えるものと期待される。分担者（林）のタイムラプス撮影技術は国際的に最高水準にある。その技術を活用することでこれまで固定標本では不明であった詳細な表現型を明らかにして新奇の遺伝子機能の解明できたと考えている。Pri ペプチドの発見は Nature Cell Biology の表紙を飾ると共に review で取り上げられ、国内の新聞でも報道された。ゲノムワイドな転写開始点の収集については、世界的に期待される情報である。

IKK ϵ の研究（東京大学薬学部三浦正幸教授との共同研究）はカスパーゼシグナルの新しい機能の発見として Cell, Current Biology, Science (STKE) などのミニレビューで取り上げられた。

本研究課題のように、実験科学者と情報科学者とが本格的に連携して取り組むプロジェクトは、生命システムを解析する上で不可欠なアプローチとなることは自明であり、本課題はその先駆的なものであると評価される。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

画像データの取得法や収集法、計算機を用いた基本的な形態パラメータの取得はできるようになったが、全体の分類体系にどのように利用するかという点では、非常に多くの選択肢があり、最善のものを模索中である。これらのデータを利用する立場にある実験科学者の視点を重視するとともに、情報科学者にも利用価値の高いものにするのが目標であるが、まだそこまで達していない。

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い、画像データをデータベース化した、今後データの表示法検討する必要がある。

転写開始点の解析については、TSS タグだけでは、既存の転写単位との関連性が不明であるため、注釈付けされた遺伝子との関係が必ずしも明確でない。サンプル間の TSS 分布の違い、トランスポゾン挿入地点と TSS の関係について解析を試みたが、タグ数が少なく、明確な結論をうるには至っていない。

<今後の課題、展望>

表現型情報は遺伝子の機能を表す情報として極めて重要である。突然変異体の表現型を定量的に扱えるようになることで、ゲノムの遺伝子の新規機能の発見が期待される。

様々な種類の大規模データが収集されており、データベース化されているが、それらな有効な活用を図るには、利用者の視点に立って、見やすい、わかりやすい、使いやすいものを作ること意識しておかなければならない。

実験科学者と画像解析の専門家との共同研究は、お互いに良い刺激の場となっている。このような共同研究をさらに進めていきたい。

<研究期間の全成果公表リスト>

1. 0901131436 (論文)

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.

2. 0912031228 (論文)

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. 0912031235 (論文)

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. 0912031240 (論文)

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. 0911091021 (論文)

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. 0912012000 (論文)

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. 0912012014 (論文)

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. 0901131451 (データベース)

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.

9. 0901161031 (論文)

Horiuchi J, Yamazaki D, Naganos S, Aigaki T, Saitoe M., Protein kinase A inhibits a consolidated form of memory in *Drosophila*., *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 105,20976-20981(2008)

10. 0901161046 (論文)

Harada E, Haba D, Aigaki T, Matsuo T., Behavioral analyses of mutants for two odorant-binding protein genes, Obp57d and Obp57e, in *Drosophila melanogaster*., *Genes Genet Syst.*, 83,257-264 (2008)

11. 0901161127 (論文)

Olivier L, Togawa T, Tsuda M, Matsuo T, Loic E and Aigaki T., Overexpression of grappa encoding a histone methyltransferase enhances stress resistance in *Drosophila*, *Hereditas*, in press (2009)

12. 0805011101 (論文)

Nishimura,M., Inoue,Y., Hayashi,S., A wave of EGFR signaling determines cell alignment and intercalation in the *Drosophila* tracheal placode, *Development*, 134(23):4273-4282

13. 0805011104 (論文)

Shindo,M., Wada,H., Kaido,M., Tateno,M., Aigaki,T., Tsuda,L., Hayashi,S., Dual function of Src in the maintenance of adherens junction during epithelial morphogenesis, *Development*, 135(7):1355-64

14. 0805011106 (論文)
Kakihara, K., Shinmyozu, K., Kato, K., Wada, H., Hayashi, S.,
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
15. 0805011107 (論文)
Kato, K., Hayashi, S., Practical guide of live imaging for
developmental biologists, *Development, Growth and
Differentiation*, doi:10.1111/j.1440-169x.2008.01029.x
16. 0801281816 (論文)
Takahashi, A, Takahashi, K, Ueda, R, and Takano-Shimizu, T.,
Natural variation of ebony gene controlling thoracic pigmentation
in *Drosophila melanogaster*., *Genetics*, 177(2), 1233-1237(2007)
17. 0805191752 (論文)
Picot, M., Cusumano, P., Klarsfeld, A., Ueda, R., and Rouyer, F.,
Light Activates Output from Evening Neurons and Inhibits
Output from Morning Neurons in the *Drosophila* Circadian Clock.,
PLoS Biol, 5(11): e315 (2007)
18. 0901161118 (論文)
Yano, T., Mita, S., Ohmori, H., Oshima, Y., Fujimoto, Y., Ueda,
R., Takada, H., Goldman, W.E., Fukase, K., Silverman, N.,
Yoshimori, T., and Kurata, S., Autophagic control of listeria
through intracellular innate immune recognition in *Drosophila*., *Nat
Immunol.*, 9(8), 908-916 (2008)
19. 0901161139 (論文)
Yoshida, H., Fuwa, T., Arima, M., Hamamoto, H., Sasaki, N.,
Ichimiya, T., Osawa, K-I., Ueda, R. and Nishihara, S.,
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 (2008)
20. 0708091126 (論文)
Matsuo, T., Sugaya, S., Yasukawa, J., Aigaki, T., Fuyama, Y.,
Odorant-binding proteins OBP57d and OBP57e affect taste
perception and host-plant preference in *Drosophila sechellia*.,
PLoS Biol., 5, e118 (2007)
21. 0708091133 (論文)
Umeda-Kameyama, Y., Tsuda, M., Ohkura, C., Matsuo, T., Namba,
Y., Ohuchi, Y. and Aigaki, T., Thioredoxin suppresses Parkin-
associated Endothelin Receptor-like Recepto-induced
neurotoxicity and extends longevity in *Drosophila*., *J. Biol.
Chem.*, 282, 11180-11187 (2007)
22. 0801291203 (論文)
Yao, Y., Wu, Y., Yin, C., Ozawa, R., Aigaki, T., Wouda, R.R.,
Noordermeer, J.N., Fradkin, L.G., Hing, H., Antagonistic roles of
Wnt5 and the Drl receptor in patterning the *Drosophila* antennal
lobe., *Nat Neurosci.*, 10, 1423-1432 (2007)
23. 0801291210 (論文)
Tsuda M, Sugiura T, Ishii T, Ishii N, Aigaki T., A mev-1-like
dominant-negative SdhC increases oxidative stress and reduces
lifespan in *Drosophila*., *Biochem Biophys Res Commun.*, 363, 342-
346. (2007)
24. 0708081620 (論文)
Inoue, Y., Hayashi, S., Tissue-specific laminin expression
facilitates integrin-dependent association of the embryonic wing
disc with the trachea in *Drosophila*., *Developmental Biology*,
304:90-101 (2007)
25. 708081621 (論文)
Kondo, T., Hashimoto, T., Kato, K., Inagaki, S., Hayashi, S., Kageyama,
Y., Small peptide regulators of actin-based cell morphogenesis
encoded by a polycistronic mRNA, *Nature Cell Biology*, 9(6):660-
665(2007)
26. 0708081709 (論文)
Sakurai T, K., Kojima, T., Aigaki, T., Hayashi, S., 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
27. 0705061734 (論文)
Chertemps, T., Duportets, L., Labeur, C., Ueda, R., Takahashi,
K., Saigo, K., and Wicker-Thomas, C., 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 (2007)
28. 0708081419 (論文)
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
29. 0801281809 (論文)
Okamura, T, Shimizu, H, Nagao, T, Ueda R, and Ishii, S., ATF-2
regulates fat metabolism in *Drosophila*., *Mol Biol Cell*, 18(4),
1519-1529(2007)
30. 0601311955 (論文)
Laviolette, M.J., Nunes, N., Peyre, J.B., Aigaki, T. and Stewart,
B. A., A Genetic screen for suppressors of *Drosophila* NSF2
neuromuscular junction overgrowth, *Genetics*, 170, 779-792
(2005)
31. 0608081156 (論文)
Takeo, S., Tsuda, M., Akahori, S., Matsuo, T. and Aigaki, T., The
calcineurin regulator Sra plays an essential role in female meiosis
in *Drosophila*, *Current Biology*, 16, 1435-1440 (2006)
32. 0608081239 (論文)
Tsuda, M., Seong K.-H. and Aigaki, T., POSH, a scaffold protein
for JNK signaling, binds to ALG-2 and ALIX in *Drosophila*,
FEBS letters, 580, 3296-300 (2006)
33. 0608081320 (論文)
Hozumi, S., Maeda, R., Taniguchi, K., Kanai, M., Shirakabe, S.,
Sasamura, T., Speder, P., Noselli, S., Aigaki, T., Murakami, R.
and Matsuno, K., An unconventional myosin in *Drosophila*
reverses the default handedness in visceral organs, *Nature*, 440,
798-802 (2006)
34. 0601201321 (論文)
Shinza-Kameda, M., Takasu, E., Sakurai, K., Hayashi, S. and
Nose, A., Regulation of Layer-Specific Targeting by Reciprocal
Expression of a Cell Adhesion Molecule, *Capricious*, *Neuron*,
49:205-213 (2006)
35. 0612251549 (論文)
Kuranaga, E., Kanuta, H., Tonoki, A., Takemoto, K., Tomioka,
T., Kobayashi, M., Hayashi, S., and Miura, M., *Drosophila* IKK-
Related Kinase Regulates Nonapoptotic Function of Caspases via
Degradation of IAPs, *Cell*, 126:583-596(2006)
36. 0612251551 (論文)

- Oshima, K., Takeda, M., Kuranaga, E., Ueda, R., Aigaki, T., Miura, M., and Hayashi, S., IKK ϵ Regulates F Actin Assembly and Interacts with Drosophila IAP1 in Cellular Morphogenesis, *Current Biology*, 16:1531-1537(2006)
37. 0612251554 (論文)
Tsuda, L., Kaido, M., Young-Mi Lim., Kato, K., Aigaki, T., and Hayashi, S., An NRSF/REST-like repressor downstream of Ebi/SMRTER/Su(H) regulates eye development in Drosophila, *The EMBO Journal*, 25: 3191-3202(2006)
38. 0701221549 (論文)
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. Differential microarray analysis of Drosophila mushroom body transcripts using chemical ablation., *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(39), 14417-22(2006)
39. 0701221727 (論文)
Yamamoto M, Ueda R, Takahashi K, Saigo K, and Uemura T., Control of axonal sprouting and dendrite branching by the Nrg-Ank complex at the neuron-glia interface., *Curr Biol.*, 16(16), 1678-83 (2006)
40. 0701221758 (論文)
Awasaki, T., Tatsumi, R., Takahashi, K., Arai, K., Nakanishi, Y., Ueda, R., and Ito, K., Essential role of the apoptotic cell engulfment genes draper and ced-6 in programmed axon pruning during Drosophila metamorphosis., *Neuron*, 49 855-67 (2006)
41. 0701221833 (論文)
Kambris Z, Brun S, Jang IH, Nam HJ, Romeo Y, Takahashi K, Lee WJ, Ueda R, Lemaitre B., Drosophila immunity: a large-scale in vivo RNAi screen identifies five serine proteases required for Toll activation., *Curr Biol.*, 16, 808-813 (2006)
42. 0601311911 (論文)
Horiuchi, T. and Aigaki, T. (2006) Alternative trans-splicing: a novel mode of pre-mRNA processing. *Biol. Cell*, 98, 135-140
43. 0601310915 (論文)
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
44. 0601311919 (論文)
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
45. 0601311920 (論文)
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
46. 0601311936 (論文)
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
47. 0601311955 (論文)
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
48. 0601311927 (論文)
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
49. 0601311936 (論文)
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
50. 0508111436 (論文)
Akimoto, A., Wada, H., Hayashi, S. (2005) Enhancer Trapping With a Red Fluorescent Protein Reporter in Drosophila. *Developmental Dynamics* 233, 993-997
51. 0601201345 (論文)
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
52. 0602051820 (論文)
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
53. 0602051804 (論文)
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
54. 0602051810 (論文)
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
55. 0602051815 (論文)
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
56. 0602201924 データベース
<http://gsdb.biol.metro-u.ac.jp/%7Edclust/GSベクター挿入系統のマップ情報、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。GS系統番号、遺伝子名、あるいは染色体領域名で検索することができる。>
57. 0602201919 特許
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 出願番号：特願2005-324980 出願日：2005年11月9日 発明者：相垣敏郎 出願人：首都大学東京