

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成26年 4月 25日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 : 独立行政法人 放射線医学総合研究所
職 名 : 主任技術員
研究代表者 : 塚本 智史
勤務先所在地 : 〒263-8555
千葉県千葉市稲毛区穴川 4-9-1
電 話 番 号 : 043-206-3059 (内:3430)
ファックス番号 : 043-206-4093
E - メ - ル : s_tsuka@nirs.go.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:11022)

1. 共同研究課題名	マウス個体における脂質代謝の制御メカニズムの解析			
2. 共同研究目的	脂肪滴の動態を個体レベルで可視化することができる脂肪滴可視化マウスを使用し、生殖細胞や組織レベルでの脂肪滴形成や分解の動態を明らかにする。			
3. 共同研究期間	平成25年 4月 1日 ~ 平成 26年 3月 31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	年齢	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者) 塚本 智史	35	研究基盤センター 生物研究推進課	主任技術員	脂肪滴可視化マウスを使った生殖細胞における脂肪滴の動態解析
(分担研究者)				
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	細胞構造分野		氏 名 佐藤 健

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

これまでの共同研究で開発した全身の脂肪滴が緑色蛍光タンパク質で標識される脂肪滴可視化マウスを用いて生殖細胞、特に卵子や受精卵における脂肪滴の動態を中心に解析を行った。

- ・脂肪滴可視化マウスの卵巣内卵子の形成や成熟過程における脂肪滴の動態を解析する。
卵巣切片や卵巣から各ステージの卵を採取することで脂肪滴の動態を顕微鏡下で観察した。
- ・脂肪滴可視化マウスの卵子を使って受精前後の脂肪滴の動態をライブセルイメージング技術で観察する。
これまでは固定したサンプルで経時的に観察していたが、イメージング装置を使って生きた状態の細胞で脂肪滴の動態観察を行った。
- ・細胞内メンブレントラフィック機構が卵子や受精卵の脂肪滴動態に与える影響を RNAi やドミナントネガティブ変異体の発現やノックアウトマウスを用いて解析する。
受精後にはエンドサイトーシスやオートファジーなどが活性化することから、これらの機能阻害下における脂肪滴の動態観察を実施した。

7. 共同研究の成果

昨年度までの共同研究によって、受精前後の卵細胞質で脂肪滴がダイナミックに変化することを明らかにしたが、今年度はさらにライブイメージング技術を活用することによって卵成熟や受精卵の発生段階における脂肪滴の動態変化がより詳細に明らかになった。また脂肪滴の動態変化には細胞内輸送に関わる経路が深く関与することが示唆された。これらの成果は現在論文投稿に向けて取りまとめている段階である。また当初計画していた絶食や高脂肪食負荷時における脂肪滴の動態解析については、より専門的な知識と実験系が必要となるために今後生体調節研究所の教員と連携して進める予定である。これまでの研究から、我々が開発した脂肪滴可視化マウスではほぼ全身の組織や細胞で脂肪滴が緑色蛍光タンパク質 GFP で標識されることが分かった。これによって、これまで観察が困難であった組織や細胞(特に本研究では生殖細胞に焦点を当てた)で脂肪滴の動態が可視化することが可能となった。さらに個体レベルで可視化できるために、今後は肥満や糖尿病などの代謝性疾患モデルマウスと組み合わせて活用することで、脂肪滴が関係する発症機構などが明らかになる可能性がある。脂肪滴可視化マウスは共同利用の成果として生体調節研究所へ導入することで、今後幅広く活用されることが期待される。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくと記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

(論文) (*: correspondence author)

・**Tsukamoto S***, Hara T, Yamamoto A, Kito S, Minami N, Kubota T, Sato K, Kokubo T.
Fluorescence-based visualization of autophagic activity predicts mouse embryo viability.
Scientific Reports. 2014 (4)4533

・**Tsukamoto S***, Yamamoto A
The role of autophagy in early mammalian embryonic development
J Mam Ova Res. 2013 30(3):86-94

(学会発表)

・**Tsukamoto S**, Hara T, Yamamoto A, Kito S, Minami N, Sato K, Kokubo K.
Monitoring of autophagic activity in the developing mouse preimplantation embryo
The EMBO Meeting 2013、2013/9/20~2013/9/26、アムステルダム

・**塚本智史**、**原太一**、山本篤、鬼頭靖司、南直治郎、佐藤健、小久保年章
オートファゴソームマーカーGFP-LC3のマウス受精卵での急速な分解に関する研究
第60回日本実験動物学会、2013/5/15~2013/5/17、つくば国際会議場

・**原太一**、山本正道、堀居拓郎、角田美佳、**塚本智史**、神吉康晴、井上剛、金木清美、畑田出穂、佐藤健
マウス初期胚発生過程における分子選別装置 Rer1 の生理的役割、
第36回日本分子生物学会、2013/12/3~2013/12/6、神戸ポートアイランド