

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 30 年 4 月 27 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻
職 名 准教授
研究代表者 佐々木 成江

下記のとおり平成29年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:17018)

1. 共同研究課題名	C. elegansを用いたミトコンドリア DNA 欠乏症候群発生機序の解明		
2. 共同研究目的	エネルギー代謝異常を引き起こすミトコンドリア DNA 欠乏症候群の発生機序を解明するために、線虫 C.elegansを用いて各組織におけるミトコンドリア DNA 量の変動をリアルタイムに解析する。		
3. 共同研究期間	平成 29 年 4 月 1 日 ~ 平成 30 年 3 月 31 日		
4. 共同研究組織			
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者) 佐々木 成江	理学研究科生命理学専攻	准教授	研究実施、総括
(分担研究者) 佐々木 妙子	理学研究科生命科学専攻	博士課程	研究実施
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	生体膜機能分野	氏 名 佐藤 美由紀

※ 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

ミトコンドリアは、細胞の中でエネルギー代謝の中心的な働きをするオルガネラであり、独自の DNA を持つ。細胞内のミトコンドリア DNA 量は厳密に調整されているが、減少した場合、ミトコンドリア内のエネルギー代謝が維持できなくなり、ミトコンドリア DNA 欠乏症候群と呼ばれる疾患が生じることが知られている。しかし、その症状や発症部位は多岐に渡り、発症機序もほとんどわかっていない。本研究では、ミトコンドリア DNA 欠乏症候群の発生機序を解明するために、様々な臓器でミトコンドリア DNA を可視化し、ミトコンドリア DNA 量をリアルタイムでモニタリングできる系を立ち上げ、ミトコンドリア DNA 欠乏症候群様症状を引き起こした際の臓器におけるミトコンドリア DNA 量の変動をリアルタイムで解析することを目指す。そのために、観察に適した透明な体を持ち、生殖系、神経系、筋肉系、消化系等の多様な組織を持つ線虫 *C.elegans* を材料に用いた。

7. 共同研究の成果

線虫においては、mtDNA のライブイメージングはこれまで行われていなかった。そこでまず、①DNA 染色試薬による mtDNA の可視化、②蛍光タンパク質による mtDNA ラベル株の作成を行い、mtDNA の可視化方法を検討した。

①DNA 染色試薬による mtDNA の可視化

様々な DNA 染色試薬を用いて mtDNA の可視化を試みた。その結果、高感度な DNA 染色試薬である SYBR Green I および Novel Green を用いることで頭部や尾部の組織の mtDNA を染色できることがわかった。しかし体内の一部の臓器には色素が浸透しにくく、可視化が困難であったため、現在マイクロインジェクション法を用いて体内に色素を注入し、観察する手法を検討している。

②蛍光タンパク質による mtDNA ラベル株の作成

また、全身 mtDNA の可視化を試みるために、mtDNA に結合するタンパク質を蛍光タンパク質でラベルできないか検討を行った。これまでに、酵母や哺乳類などでは mtDNA 結合タンパク質がいくつか同定されている。それらに類似したタンパク質を線虫で探索し、GFP との融合タンパク質を精子で発現する線虫の作出した結果、ミトコンドリア内に SYBR Green I の染色パターンと似た、mtDNA 様のドットを形成するタンパク質が見いだされた。現在、作出した線虫において、実際に mtDNA が標識されているかを確認するとともに、その他の臓器においても同様に GFP で標識した mtDNA 結合タンパク質を発現する線虫を作出しているところである。

今後、本研究で開発した mtDNA の可視化技術を用いることで、ミトコンドリア DNA 欠乏症候群様症状における mtDNA の挙動を詳細にライブイメージングし、症状の各段階における mtDNA 量を詳しく定量することが可能になると思われる。

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のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

第1回若手ミトコンドリア国際学会(International YoungMito 2018、平成30年4月20日～22日、コープイン京都)で本研究において得られたデータの一部を発表した。