

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

令和 2 年 4 月 30 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所 属 機 関 名 国立研究開発法人量子科学技術研究開発
機構放射線医学総合研究所

職 名 主幹研究員

研究代表者 塚本 智史

下記のとおり令和元年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:18009)

1. 共同研究課題名	初期胚発生におけるミトコンドリアダイナミクスと炎症シグナルのクロストーク解析			
2. 共同研究目的	昨年度までの共同研究から受精によってマウス卵子内に侵入した精子の中辺部近傍に炎症性シグナル関連因子が選択的に局在することを見出した。精子中辺部には父性ミトコンドリアが含まれることから、受精に伴うミトコンドリアの変性が炎症性シグナルを活性化している可能性が高い。本研究で得られる知見は、受精直後の初期胚に発生における新たな分子機構の存在を示すだけでなく、生活習慣病と密接に関係する炎症シグナルの活性化機構の基礎的理解にも貢献すると考えられる。			
3. 共同研究期間	平成31年 4月 1日 ~ 令和 2 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) 塚本 智史	生物研究推進課	主幹研究員	研究の総括・観察	
(分担研究者) 佐藤 裕公	細胞構造分野	准教授	ライブイメージングに係る実験・解析	
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

- ①これまでの研究から、受精後の卵子内に侵入した精子ミトコンドリアの近傍に炎症性シグナル関連因子(TBK1 や OPTN)が局在することが明らかとなっているが、これらの因子が特異的に局在する分子機構を解析する。このために卵子内の精子ミトコンドリアの膜電位を測定し、電位依存的に局在する PINK1 や parkin およびユビキチンの局在関係性を調べることで、マイトファジーの関与を明らかにする。
- ②ライブセルイメージング装置を用いて、卵子内の精子ミトコンドリアと TBK1 や OPTN の共局在のタイミングを経時的に観察することで、受精直後の局在関係性を詳細に検討する。また、ミトコンドリアの外膜と内膜に特異的なタンパク質に対する抗体を用いて、TBK1 や OPTN の精子ミトコンドリア膜上での局在についても検討する。
- ③卵子内から TBK1 や OPTN を欠損させた条件(ゲノム編集技術を用いたノックアウトマウス作成もしくは Trim-Away 技術による卵子内タンパク質の破壊を行う)で、精子ミトコンドリアの分解や膜電子の消失が進行するかどうかを観察する。
- ④受精後に起こる精子ミトコンドリアの選択的分解に卵細胞質因子(脂肪滴)の関与を検討する。

7. 共同研究の成果

受精後に卵子内に侵入した精子由来(父性)ミトコンドリアは選択的に除去されることが知られている。先行研究から、ユビキチン・プロテアソームやオートファジーが、父性ミトコンドリアの選択的分解に関わることが報告されている。しかし、近年の研究から、父性ミトコンドリアの一部は排除されることなく、次世代へ伝達されることも報告されている。これらの事実から、生物ごとに独自の分解機構は備わるものの、それだけでは父性ミトコンドリアを完全に排除しきれない可能性も否定できない。その一方で、全く別の分解経路や因子が関与していることも想定される。代表者らは、父性ミトコンドリアの分解に炎症性シグナルが関わる予備的知見をもとにして研究を継続しているが、今年度は特に代表者らが最近開発した成熟した卵子からの脂肪滴除去技術をもとにして、父性ミトコンドリアの選択的分解とあらかじめ卵細胞質に貯蓄される脂肪滴の関係性を解析した。その結果、脂肪滴欠損下でも父性ミトコンドリアの分解は起こることが明らかとなった。興味深いことに、父性ミトコンドリアの一部は脂肪滴単離後に新たに合成される脂肪滴の一部と共局在していた(この意義は現時点では不明である)。今後、脂肪滴合成に関連する遺伝子欠損マウスの作製や高解像度のライブセルイメージング技術を組み合わせることで、新たな観点から父性ミトコンドリアの選択的分解の機序を明らかにする必要がある。

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。)

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

Aizawa R, Ibayashi M, Tatsumi T, Yamamoto A, Kokubo T, Miyasaka N, Sato K, Ikeda S, Minami N, Tsukamoto S*
Synthesis and maintenance of lipid droplets are essential for mouse preimplantation embryonic development.
Development. 2019, 146(22), dev181925

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

Aizawa R, Ibayashi M, Tatsumi T, Yamamoto A, Kokubo T, Miyasaka N, Sato K, Ikeda S, Minami N, Tsukamoto S*
Synthesis and maintenance of lipid droplets are essential for mouse preimplantation embryonic development.
Development. 2019, 146(22), dev181925