

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

群馬大学生体調節研究所長 殿

令和 2年 4月 30日

所属機関名 京都大学大学院 生命科学研究科
職 名 助教
研究代表者 中岡秀憲

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: 19008)

1. 共同研究課題名	細胞老化過程におけるエネルギー代謝活性変化のシングルセル解析		
2. 共同研究目的	本研究では老化過程における細胞内ATPあるいはGTP濃度を可視化して、数十世代にわたり観測し、細胞老化によるエネルギー代謝活性の低下を1細胞レベルで解析する。また様々な細胞老化指標との同時観察を試みる。本研究により細胞老化に伴うエネルギー代謝恒常性の破綻と老化病態との因果関係が初めて明らかになると期待される。		
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) 中岡 秀憲	京都大学大学院生命科学研究科	助教	研究統括 分裂酵母の株構築・観察実験 及びデータ解析
(分担研究者) 吉田知史	早稲田大学国際教養学部	准教授	データ解析
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	細胞シグナル	氏 名 高稲 正勝

※ 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

本研究ではまず、高稲助教が作製した ATP や GTP のバイオセンサーを安定的に発現する分裂酵母株を、中岡が持つ、細胞系譜を長時間連続して観察可能なマイクロデバイス系で観察する。これにより分裂酵母が細胞分裂を繰り返して老化し、最終的には細胞死に至る過程で、細胞内 ATP や GTP 濃度がどのように変化するかを明らかにする。また細胞内のタンパク質凝集体、ミトコンドリア質量および膜電位、ストレス顆粒、活性酸素などの細胞老化の指標を可視化した酵母株を作製し、これらの老化マーカーと ATP や GTP 濃度を同時に観察する。これら新たな株の作製と予備実験は生体調節研究所にて高稲助教と共同で行う。この際のイメージングには長時間観察が可能で培養条件を適宜コントロールできる微小灌流装置 (CellAsics Microfluidics) を使用する。

7. 共同研究の成果

- ① 出芽酵母細胞内の異常タンパク質凝集体、ミトコンドリア質量および膜電位、ストレス顆粒を可視化した酵母株を作製した。これらの株を使用して解析した結果、細胞内 ATP 濃度が低下する変異株では細胞内の異常タンパク質凝集体が有意に増加し、またタンパク質毒性ストレスに感受性を示すことが明らかになった (高稲、論文投稿中)。今後は細胞老化に伴う ATP 濃度変化と異常タンパク質凝集体形成の関連を明らかにするべく解析を進めている。
- ② 分裂酵母において ATP 濃度を可視化できる株を作成した。グルコース枯渇による低代謝状態において ATP 濃度の急激な低下とその後のオーバーシュート回復が見られるといった過去の集団レベルでの知見を 1 細胞レベルで確認した。次に、ATP レベルと相関が高いと考えられる細胞内 pH と細胞内流動性を測定できる分裂酵母株 (pHluorin2 発現株及び μ NS 発現株) を作成し、同様にグルコース枯渇条件下での挙動を観察したところ、pH 及び細胞質流動性の急激な低下が見られた (中岡、論文準備中)。今後はこれらの生理的变化が細胞老化や細胞死にどのように影響するのかについて解析を進めていく。

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

Takaine M, Ueno M, Kitamura K, Imamura H, Yoshida S, "Reliable imaging of ATP dynamics in both budding and fission yeasts", J Cell Sci., 132(8), 2019

Takaine M. "QUEEN-based spatiotemporal imaging in budding and fission yeast", bio-protocol, 9(15), 2019

② この共同研究に基づくとの記載のある論文