

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 6 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所 属 機 関 名 国立研究開発法人国立循環器病研究センター
職 名 上級研究員
研究代表者 迫 圭輔

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: 19015)

1. 共同研究課題名	初期胚発生で細胞内外の pH が果たす役割の解析			
2. 共同研究目的	発生過程の胚において、細胞内外の pH の変化や、pH の変化と胚発生の関連は、あまり理解されていない。そこでライブイメージングに適したゼブラフィッシュをモデルとし、1) 細胞内外の pH 測定や代謝解析に有用となるレポーター系統や変異体、2) ライブイメージングで得られた 4D 画像の定量解析に用いるツール、を共有して、研究を迅速に進めていく体制を構築することを目的とする。異なる研究背景を持つ研究者で意見交換しながら研究を進めることで、初期発生における代謝と pH の役割を理解する、先駆的な研究を推進することができる。			
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) 迫 圭輔	国立循環器病研究センター	上級研究員	研究の実施と解析	
(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	個体統御システム分野	氏 名	石谷太 教授 荻沼政之 助教

※ 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 発生過程の胚における細胞内・外 pH の可視化

pH に応じて蛍光強度が変化する pHluorin タンパク質を用いて、発生過程の胚内で細胞内外の pH を測定する。myristoylation シグナル配列（細胞内）、分泌シグナル配列（細胞外）を付加した mCherry-pHluorin tandem 蛍光タンパク質を全身で発現するトランスジェニックゼブラフィッシュ (Tg) を作成する。ライブイメージング観察を行い、両蛍光タンパク質のレシオメトリを解析することで、pH を測定する。細胞内外の pH 変化と、細胞運動や形態形成が関連するのか調べていく。

2 発生過程の胚における細胞内代謝の可視化

これまでに、ATP 量、 NAD^+/NADH などの細胞内の代謝状態を測定するプローブが報告されている。それぞれを全身で発現する Tg を作成する。ライブイメージング観察により、発生過程における細胞内代謝の変化を明らかにする。代謝の変化と、細胞運動や形態形成が関連するのか調べていく。

1 と 2 の結果を比較して、細胞内代謝状態の変化と、細胞内外の pH の変化がどのように関連しているのか、また代謝に応じて変化する pH の変化が形態形成においてどのような役割を担っているのか、明らかにする。

7. 共同研究の成果

1. 細胞内外の pH を測定する Tg の作成に成功した。
2. ライブイメージングを行なった結果、発生過程の細胞内外で pH が大きく変化する様子を捉えることができた。
3. 細胞内の代謝が亢進してプロトンが細胞外に放出されると、細胞外の pH が低下する様子が観察された。

今後、細胞内代謝をモニターできる Tg を作成して、発生過程でどのような代謝の変化が起きるのかを調べていく。また pH を人為的に変化させることで、細胞運動や形態変化にどう影響を及ぼすか明らかにする。genome の情報に依らない、代謝と細胞の pH 応答機構から、新たな発生メカニズムを明らかにしていく。

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
該当なし

②この共同研究に基づくとの記載のある論文
該当なし