

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 4年 4月 12日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立大学法人新潟大学
職 名 教授
研究代表者 神吉 智文

下記のとおり令和3年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:)

1. 共同研究課題名	線虫を用いた新規マイトファジー因子の同定とマイトファジーの生理的意義の解明		
2. 共同研究目的	マイトファジーはミトコンドリア恒常性を維持する重要な機構であるが、その詳細は不明である。本研究では、線虫遺伝学を用いた網羅的スクリーニングにより、新規マイトファジー遺伝子を同定することを目的とする。さらに同定した遺伝子の変異線虫や変異マウスの解析により、マイトファジーの分子機構と生理的意義を解明する。これらの研究を推進することにより、エネルギー代謝の中心であるミトコンドリア恒常性維持機構やその破綻により生じる病態の解明に結びつくことが期待される。		
3. 共同研究期間	令和3年 4月 1日 ~ 令和4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) 神吉 智文	新潟大学大学院医歯学総合研究科	教授	研究の総括
(分担研究者) 山下 俊一	新潟大学大学院医歯学総合研究科	助教	マイトファジー分子機構解明
井上 敬一	新潟大学大学院医歯学総合研究科	医学部准教授	変異マウスの表現型解析
三枝 徹	新潟大学大学院医歯学総合研究科	特任助手	線虫を用いたマイトファジー因子のスクリーニング
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。

(課題番号:)

6. 共同研究計画

○申請者らは、オートファジーによるミトコンドリア分解を特異的に検出する蛍光タンパク質プローブを細胞に発現させることで、培養細胞においてマイトファジーを観察するシステムを確立している。このプローブを安定的に発現させた線虫を作製している(R2年度の本共同研究で作製済み:cox8-mCherry-EGFP発現株)。
○上記の線虫に、ゲノムワイド siRNA ライブラリーを適用し、マイトファジーを抑制する遺伝子をスクリーニングする。同定した遺伝子の哺乳類ホモログを培養細胞で発現抑制し、マイトファジーが抑制されるものを選抜する。
○上記で選抜された遺伝子について、線虫や哺乳類培養細胞を用いて、同定した遺伝子のマイトファジー実行における機能を解析することにより、その分子機構を明らかにする。
○さらに、マイトファジー遺伝子の変異線虫や変異マウスを作製し、マイトファジー不能によるミトコンドリア恒常性の破綻が、動物の活動、代謝、老化などに及ぼす影響を解析し、マイトファジーの生理的意義を明らかにする。

7. 共同研究の成果

○開発したマイトファジーモニタリング線虫(cox8-mCherry-EGFP発現株)と種々のオートファジーおよびマイトファジー関連遺伝子破壊株を交配し、マイトファジー誘導を観察した。この結果、オートファジー遺伝子破壊株では、特に atg-18KO 株ではマイトファジーが強く抑制されていた。

○線虫に幾つかのオートファジー関連遺伝子に対する siRNA を投与し、遺伝子発現を抑制したが、顕著なマイトファジー低下を認めなかった。これらのことから、我々が用いている方法では siRNA の遺伝子発現抑制効率には限界があり、マイトファジー関連遺伝子のスクリーニングが困難であることが示唆された。

○マイトファジーモニタリング線虫に種々の環境ストレスを与えたところ、1時間程度の熱ストレスでマイトファジーが誘導される事が明らかとなった。今後は、熱ストレスによるマイトファジー誘導のメカニズムの解明していく予定である。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換(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
特記事項なし

② この共同研究に基づくとの記載のある論文
特記事項なし

③ 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)
特記事項なし

④ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)
10月14日にZoomによる研究成果報告会を行った。東京都医学総合研究所の松田憲之博士を加えて、3教室の研究進捗状況を報告し、意見交換した。
11月25日にZoomによる打ち合わせを行った。線虫におけるマイトファジー誘導方法について議論した。
1月28日にZoomによる打ち合わせを行った。ImageJを用いたマイトファジー定量法について議論した。
3月14日に群馬大学生体調節研究所を訪問し、研究の打ち合わせを行った。薬物によるマイトファジー誘導の可能性について議論した。