

## 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 5 年 4 月 3 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 久留米大学 分子生命科学研究所  
職 名 教授  
研究代表者 齋藤 成昭

下記のとおり令和4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	細胞外ヘキソース濃度変化に対する細胞適応の仕組み			
2. 共同研究目的	真核生物は細胞内代謝物質の量的変化を感知することにより、細胞外のブドウ糖や果糖といったヘキソース(六炭糖)濃度変化に適応する仕組みを持つと考えられて来たが、その詳細は不明である。本共同研究では、質量分析によるメタボローム解析で糖濃度変化への応答を誘導する細胞内代謝物質を特定する。本研究により、真核生物の新しい細胞外糖濃度感知機構が解明されれば、その機構を標的に高血糖への細胞応答を刺激し血糖値を正常化する糖尿病治療法の開発が可能になる。			
3. 共同研究期間	令和 4 年 4 月 1 日 ~ 令和 5 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 齋藤 成昭	久留米大学 分子生命科学研究所 細胞工学研究部門	職名:教授 学位:博士(理学) 取得年月日:1999.3.31	研究の総括	
(分担研究者) 石川 健	同上	助教	酵母株の作製・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	個体代謝生理学	氏 名	西村 隆史

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

## 6. 共同研究計画

本共同研究では申請者(久留米大学)が酵母細胞株作成や細胞サンプル調整を行い、質量分析によるメタボローム解析を西村隆史博士(群馬大学)が行うという研究計画を立てた。

**(1) fba1 遺伝子ノックダウン酵母のメタボローム解析:**前年度の共同研究により、培地中の六炭糖濃度が高い(2%)場合と比べて六炭糖濃度が低い(0.08%)場合、解糖系の前半を担う代謝物質の量が大きく減少することを発見した。このうち特にフルクトース1, 6ビスリン酸(FBP)が環境中糖濃度への細胞応答に関わる可能性が浮上した。そこで、FBP 分解酵素(Fba1)をノックダウンすることにより、細胞に FBP を蓄積させ応答が影響を受けるか調べる。また、Fba1ノックダウンによる FBP の蓄積やメタボロームへの影響を質量分析で調べる。

**(2) 代謝物質蓄積変異株のメタボローム解析:**申請者が確立した遺伝子ノックダウン方法(Ishikawa, 2021)などを用いて種々の代謝経路を改変し、その変化に応じて高果糖濃度への応答が誘導されるか ght5 発現を指標に調べる。また、この改変によりどのようなシグナル代謝物質の量が変化するかをメタボローム解析で検証する。

## 7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

**(1) fba1 遺伝子ノックダウン酵母のメタボローム解析:** FBP 分解酵素(Fba1)の減弱により FBP が細胞内に蓄積するかメタボローム解析により調べた。Fba1 は生存に必須な酵素であるため、実験に際して条件的に発現量を低下させる必要がある。そこで、fba1 遺伝子に対する条件的な CRISPRi により、fba1 遺伝子の転写を抑制した。CRISPRi 誘導後の分裂酵母細胞を用いて質量分析によるメタボローム解析を行った。その結果、期待通り細胞内の FBP 量が増加する事が確認された。しかし、その増加量は穏やかであり、細胞形質への影響を解析するには不十分であると考えた。これは蓄積した FBP が糖新生経路の Fbp1 酵素により、フルクトース6リン酸に変換されるためであると考えられる。そこで、より多くの FBP を細胞に蓄積させるため fbp1 遺伝子の欠損株を作製した。今後は、この fbp1 欠損株で fba1 ノックダウンを誘導し、FBP の蓄積量が増えるか調べる。

**(2) 代謝物質蓄積変異株のメタボローム解析:** 分裂酵母の小分子代謝遺伝子のおよそ 80%は必須遺伝子であるため、これらの遺伝子は条件的に減弱させる必要がある。そこで種々の代謝経路を担う遺伝子を CRISPRi で条件的にノックダウンする株を約 200 株作製した。今後は、この改変によりどのような代謝物質の量が変化するかをメタボローム解析で検証する。

## 8. 共同研究成果に関連する学会発表・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できる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係 e-mail : kk-msomu4@jimu.gunma-u.ac.jp

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

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)

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)

>解析サンプルについての情報交換(調製方法や調製条件について)

>解析結果、研究計画についての意見交換

上記について、メール等を通じて適宜、情報交換を行った。