

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 6 年 5 月 7 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 群馬大学医学部附属病院産科婦人科
職 名 助教
研究代表者 森田 晶人

下記のとおり令和5年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 23004)

1. 共同研究課題名	初期胚発生におけるエンドサイトーシス関連タンパク質の網羅的解析		
2. 共同研究目的	胚発生におけるエンドサイトーシスのメカニズムを解析し、生殖医療の進歩に貢献する。		
3. 共同研究期間	令和5年4月1日 ~ 令和6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) 森田 晶人	群馬大学医学部附属病 院産科婦人科	助教	研究の総括
(分担研究者) 道崎 護 佐藤 裕公	大学院医学系研究科 産科婦人科学 生体調節研究所	大学院生 准教授	胚発生に係る実験・解析 ライブイメージングと胚操作に係る 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

1: クラスリン依存性エンドサイトーシスのどこが障害されると初期胚発生異常が生じるのかを明らかにする
リソソーム阻害剤であるバフィロマイシンおよびクロロキンをマウス胚の1細胞期, 2細胞期, 4細胞期, 8細胞期, 桑実胚など各発生の段階で付加し, 胚発生に与える影響を検討する。

2: 細胞膜タンパク質のエンドサイトーシスに影響を与える PKC サブタイプの同定

我々は阻害剤解析によりマウス胚の細胞膜タンパク質のエンドサイトーシスが PKC によって調節されていることを見出している。論文で用いたスタウロスポリンは PKC の 11 個のサブタイプのうち, α , γ , η , δ , ζ を阻害するので, この過程に関与する PKC のサブタイプの同定を試みる。多様な阻害剤の組み合わせ付加試験や各サブタイプのタンパク質発現抑制・分解誘導試験を行い, 胚発生への影響および有害事象を評価する。

3: 胚発生におけるエンドサイトーシス活性の視覚化

生細胞でエンドサイトーシスを追跡できる ECGreen-Endocytosis Detection (同仁化学研究所) を用いてマウス卵子, およびマウス胚のエンドサイトーシス活性を評価し, その胚をマウスに移植して胚ごとの妊娠率を評価する。また, いくつかの既存のマーカーについても検討を行う。

7. 共同研究の成果

1: バフィロマイシンによって 4 細胞期, 8 細胞期で停止することが確認された。これは, エンドサイトーシス阻害剤によって 2 細胞期で停止するという結果よりも後期であり, エンドサイトーシスによる分解以外の要素の重要性が明らかとなった。

2: Sotrastaurine, Staurosporine, Ruboxistaurin などの阻害剤を用いたアッセイを計画したが, 予備実験にて, ほとんどの阻害剤が添加時に胚に着色や体積増加などの有害事象を起こすことが確認されたため, siRNA を用いた分子を直接減少させるアプローチに方向転換した。

3: 先に導入し検討した蛍光タグ付きトランスフェリンレセプターによるエンドサイトーシスの可視化について検討し, 低侵襲性が確認でき, 可視化も成功した。

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@ml.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

Reorganization, specialization, and degradation of oocyte maternal components for early development
Y Satouh, K Sato *Reproductive Medicine and Biology* 22 (1), e12505

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

・該当なし

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)

・オートファジー研究会, 2023 年 11 月 27 日 “哺乳類卵におけるリソソーム依存的分解経路の制御機構”
佐藤裕公, 建部貴輝, 谷田以誠, 山口隼司, 内山安男, 佐藤健

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)

・研究進捗や購入を要する物品について, 必要に応じて適宜メールや面談を通して状況を共有している。
・定例の研究進捗報告会の分担研究者担当日に出席し, ラボ全体のディスカッションに加わり, 情報を共有している。