

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2年 6月 30日現在

機関番号 : 32644  
研究種目 : 奨励研究  
研究期間 : 2019  
課題番号 : 19H00299  
研究課題名 : 飢餓適応システムを担う新規分子の探索

研究代表者  
岡田 千沙 ( OKADA, Chisa )  
東海大学・伊勢原研究推進部・一級技術員

交付決定額 (研究期間全体) (直接経費) : 540,000 円

## 研究成果の概要 :

真正粘菌変形体は、飢餓等の生育に不利な環境下で活発な原形質流動を停止し、耐性型細胞へと分化する。このメカニズムの解明は、森林環境維持・保全等に非常に重要である。申請者はこれまで、原形質流動停止を引き起こす新規ミオシンホスファターゼを発見し報告した。そこで本研究では次に、飢餓ストレス応答のメカニズムをさらに明らかにする為、ウェスタンブロットリングおよび質量分析によるプロテオーム解析により関連分子を網羅的に探索した。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

真正粘菌 (*Physarum polycephalum*) 変形体は、飢餓等の生育に不利な環境におかれると活発な原形質流動を停止し、耐性型細胞のスクレロチウム (以下, Sc) へと分化する。真正粘菌はこれまで、環境指標となりうる事が報告されてきた。生態系の一端を担う変形体が飢餓ストレス (環境) に応じて運動を停止し冬眠状態に遷移するメカニズムの解明は、土壌・大気汚染や生物の絶滅危機等の環境変化の指標に繋がる為、バイオーム (生物群系) を含む森林環境維持・保全等に非常に重要であり、これが本研究の核心をなす学術的「問い」である。

研究分野 : 生化学 分子生物学 細胞生物学

キーワード : *Physarum polycephalum* Sclerotium 質量分析

## 1. 研究の目的

本研究では変形体から Sc 形成過程に関わる他の分子を探索し、飢餓ストレス応答のメカニズムをさらに解明していくことを目的とする。その目的を達成するため既に私達は、真正粘菌が多くのミトコンドリアを有する事と、変形体から Sc 形成は飢餓誘導であることから、飢餓状態においてミトコンドリア分解を行うオートファジーが関与している可能性を利用して実験を進めてきた。そこで変形体から Sc 形成に関与するタンパク質発現を、(1) ウェスタンブロットリング法および(2) 質量分析法を用いて解析することにした。

## 2. 研究成果

1) 変形体から Sc 形成過程において、オートファジー関連分子の抗体5種類 (Atg5, Atg7, Beclin, p62, LC3) を用いてウェスタンブロットリングを行った。その結果、LC3 および p62 の発現量ピークが認められ、これらの分子が Sc 形成に関与することが示唆された。

(2) 変形体から Sc 形成過程に関与するタンパク質を予備的に探索する為、経時的にサンプリングした試料を二次元電気泳動法で比較し、発現量が大きく変化する 21 分子を得た。それらの分

子を質量分析法にて解析したところ 20 分子が同定され、真正粘菌に特異的な profilin-P, calmodulin, Chaperon protein, pDG1, spherulin-3A, physarolisin, plasmin C, LAV1-2 およびアクチンが含まれていた。質量分析で解析された分子のうち、profilin-P および calmodulin はアクトミオシン系に存在し、Chaperon protein はタンパク質のフォールディングに関与する。その他の pDG1, spherulin-3A, physarolisin, plasmin C, LAV1-2 は機能がまだわかっていないが、変形体から Sc 形成に関与することが本研究から示唆された。

これらの分子の関連性をさらに調べていけば各分子の役割が明らかになりメカニズムが解明され、飢餓応答に関与する細胞内での分子リモデリングが明らかになる。

### 3. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 16 件)

①Chisa Y Okada, Akio Nakamura, Kyoko Ogawa, Kazuhiro Kohama, Takako S Kaneko, Profiles of Physarum Microplasmoidal Phosphatase Activity Crucial to Cytoplasmic Streaming and Spherule Formation, Cell Biochem Biophys, Vol. 77, 357-366, 2019, 査読有

②Yu Kakimoto, Chisa Okada, Noboru Kawabe, Ayumi Sasaki, Hideo Tsukamoto, Ryoko Nagao, Motoki Osawa, Myocardial lipofuscin accumulation in ageing and sudden cardiac death, Scientific Reports, Vol. 9, 1-8, 2019, 査読有

③Yoko Iijima, Masami Tanaka, Satoko Suzuki, David Hauser, Masayuki Tanaka, Chisa Okada, Masatoshi Ito, Noriko Ayukawa, Yuji Sato, Masato Ohtsuka, Peter Scheiffele, Takatoshi Iijima, SAM68-Specific Splicing Is Required for Proper Selection of Alternative 3' UTR Isoforms in the Nervous System, iScience, Vol. 20, 318-335, 2019, 査読有

〔学会発表〕(計 28 件)

①Satoshi Owada, Hitoshi Endo, Chisa Okada, Yukari Shida, Masayuki Tatemichi, Autophagy constitutes an attractive therapeutic target for the treatment of hepatocellular carcinoma under hypoxic conditions, 第90回日本衛生学会学術総会, 2020年3月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

#### 4. 研究組織

研究協力者

研究協力者氏名：中村 彰男

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。