

MAVS の中枢神経系を中心とした発生への関与の検討

[1] 組織

代表者：松宮 朋穂

(弘前大学大学院医学研究科)

対応者：東海林 互

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物品費10万円

[2] 研究経過

RNA ウイルスは細胞内へ侵入後に脱殻し、ウイルス RNA を細胞内へ露出させる。多くの細胞では細胞質中に RNA ウイルス特異的なセンサーが存在する。センサーがウイルス核酸を認識すると、そのシグナルを下流の分子へ伝達し、宿主による抗ウイルス効果が活性化される。最近このセンサーのアダプター分子として **mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS)** が同定された。MAVS はミトコンドリア外膜上に局在する。ミトコンドリアへの局在ドメインを欠失させると抗ウイルスシグナルが下流へ伝達されないことから、自然免疫応答にはミトコンドリアが必須であることが明らかとなったが、なぜミトコンドリア膜上でそのような反応がおこる必要があるのか、という根本的なことがいまだに分かっていない。また、研究代表者らは MAVS の質的・量的な変化がミトコンドリアの機能異常と関連することを見出した(論文投稿準備中)。このことは MAVS が自然免疫応答関連分子として以外のなんらかの機能を有することを示唆している。

細胞内における「エネルギー産生工場」であるミトコンドリアは、個体の発生においてその恒常性が重要であることは広く知られている。前述の通り、MAVS の異常はミトコンドリアの障害をもたらす。これらのことから発生への MAVS の関与が推測された。

本研究ではゼブラフィッシュ胚を用いて MAVS の発生への関与を検討することを目的として加齢医学研究所と共同研究を行う。

(研究打ち合わせ等の開催状況)

平成24年11月28日に加齢医学研究所で加齢医学研究所対応者である東海林互と研究打ち合わせを行った。また、同日より11月30日までの間、加齢医学研究所内で実験を行った。

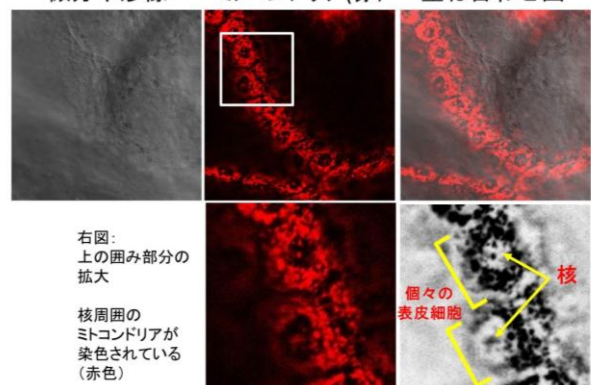
[3] 成果

(3-1) 研究成果

ゼブラフィッシュ受精卵に MAVS の発現抑制を目的に設計されたモルフォリノアンチセンスオリゴをマイクロインジェクションで導入後、発生過程を経時的に観察した。その結果、非インジェクション群、コントロールモルフォリノオリゴインジェクション群にくらべ、MAVS に対するモルフォリノアンチセンスオリゴのインジェクション群では全体的な成熟が遅れる印象であった。MAVS の発現をタンパクレベルで確認するべく、抗体による検出を試みるも、商品化された MAVS に対する抗体はゼブラフィッシュには交差せず、抗体の作製が必要であると考えられた。そこで、ゼブラフィッシュ胚より RNA を抽出し、逆転写 PCR 法により、ゼブラフィッシュ MAVS の全長 cDNA をクローニングし、その全長 MAVS cDNA を用いて Glutathione-S-transferase (GST)-タグ付き MAVS タンパクを作製した。現在 GST を融合タンパクより切除した後に得られたゼブラフィッシュ MAVS タンパク質を用いて、ゼブラフィッシュ MAVS に対する特異抗体を作製予定すべく、作業に着手中である。

図 ゼブラフィッシュ表皮細胞のミトコンドリア

微分干渉像 ミトコンドリア(赤) 重ね合わせ図



右図:
上の囲み部分の
拡大
核周囲の
ミトコンドリアが
染色されている
(赤色)

核
個々の
表皮細胞

また、ミトコンドリアの形態をゼブラフィッシュ個体で評価する方法として、研究者はスライスすることなしに膜電位依存的な蛍光試薬を用いることでミトコンドリアを観察することに成功した (図)。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究において発生における MAVS の役割が初めて検討された。研究の成果として、MAVS は発生において何らかの役割を果たしていることが示唆された。今年度にクローニングしたベクター、現在準備中の抗体等のツールや、今年度に確立することができた個体レベルでのミトコンドリアの形態評価法を用いながら、MAVS の発生への関与を具体的に解析することを目的として、平成25年度東北大学加齢医学研究所共同研究に応募した。

[4] 成果資料

なし