

課題番号 17

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

(学際科学フロンティア研究所・
東北大学加齢医学研究所)

分担者：なし

研究費：物品費 239,780円

旅費 60,220円

[2] 研究経過

Retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I) family 分子は細胞内へ侵入した RNA ウイルスのウイルス核酸を認識後、その情報をアダプター分子である mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS) に伝達する。MAVS はミトコンドリア外膜上に局在し、その機能がミトコンドリアの機能異常と同調することが明らかになっている。また、RIG-I 以外の自然免疫応答分子も MAVS と作用することから、MAVS は抗ウイルス免疫応答に加えて、様々な機能を有する分子であると考えられている。

研究代表者らのこれまでの研究で、MAVS の発現は極めて安定であることを明らかにし (PLOS One, 2012)、このことから MAVS の恒常性維持への関与が示唆されている。さらに、研究代表者らは MAVS の発現量の抑制がミトコンドリアの形態変化を伴う機能異常に陥ることを観察している (論文投稿準備中)。これらの知見から、発生においても MAVS が関与していることは十分に考えられるが、その役割はいまだに十分に解明されていない。そこで本研究では、これまで検討されてこなかった MAVS の発生への関与についてゼブラフィッシュ胚を用いて検討することを目的として、前年度と同様に加齢医学研究所と共同研究を行った。

〈研究打ち合わせ等の開催状況〉

平成26年1月22日に学際科学フロンティア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1月24日までの間、加齢医学研究所および学際科学フロンティア研究所の設備を利用して実験を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度はゼブラフィッシュの発生段階における MAVS の発現パターンを解析することを目的とした。現在、商品化された抗ゼブラフィッシュ MAVS 抗体はないので、はじめに発生段階での MAVS タンパク質発現パターンの確認目的に、抗 MAVS 抗体の作製を計画した。前年度の共同研究においてゼブラフィッシュ2日胚から total RNA を抽出していたので、この RNA を用い cDNA を合成し、その



図1:ゼブラフィッシュ2日胚における MAVS の発現(3個体)

cDNA を鋳型にゼブラフィッシュ MAVS mRNA の発現を確認した (図1)。次に、発現が確認された cDNA を用いて MAVS mRNA 全長を同定した。同定した MAVS mRNA の翻訳領域をシーケンス解析したところ、genebank に登録されているゼブラフィッシュ MAVS mRNA の splicing variant のうち最も長いものであることが分かった。

MAVS 遺伝子の翻訳領域を GST 発現ベクターに挿入し、大腸菌内で GST-MAVS 融合タンパク質を産生させた。GST-MAVS から GST を切断、除去した後に精製した MAVS タンパク質をウサギに免疫することで、ゼブラフィッシュ MAVS 抗体を作製

した。しかしながら、この抗体は ELISA では評価できたものの、我々が利用を予定していた免疫染色やウェスタンブロッティングでは MAVS を検出できないことが判明した。そこで、本年度の研究では MAVS の遺伝子レベルでの発現を検討することにした。

発生段階、特に初期発生においては遺伝子発現がダイナミックに変動することが知られている。そこで受精直後から9日目までのゼブラフィッシュ胚より total RNA を抽出し、逆転写定量PCR法により、MAVS の継時的な発現パターンを検討した (図2)。

の成果を基に、より一層の共同研究を進め、本共同研究の成果を広く公表する予定である。

[4] 成果資料
なし

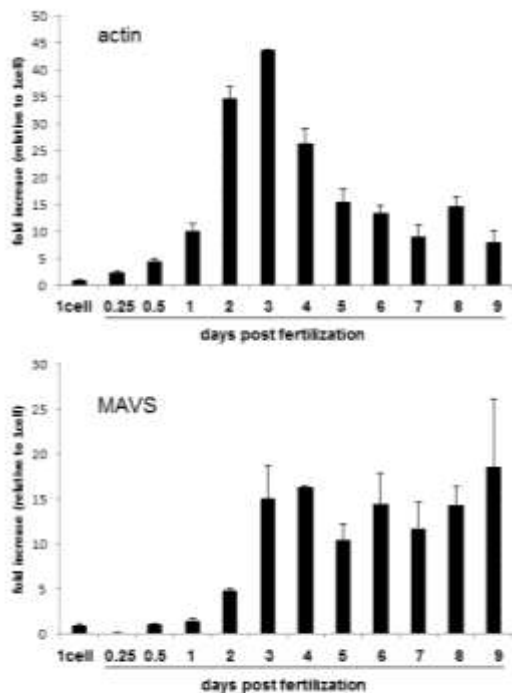


図2.発生段階におけるMAVS遺伝子の発現変動

解析の結果、MAVS の mRNA は受精後2日目から発現が上昇し、3日目以降ではその発現が一定となることが分かった。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究の結果から、MAVS の発現量は発生段階で変動することが明らかになった。このことから、自然免疫能獲得時期の決定に MAVS が深く関与している可能性が考えられた。また、発現パターンの解析結果から MAVS は発生初期のイベントには関与していないが、発生中期以降の恒常性維持に関与している可能性が示唆された。

本共同研究の成果は、これまで明らかになってこなかった MAVS の発生段階における役割を解明するための重要な研究となった。そこで、本共同研究