

## 2021 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	<b>ミトコンドリア異常を可視化するマウスの開発</b> ー老化関連疾患の病態解明および治療法開発を目指してー
キーワード	①生体イメージング、②細胞ストレス応答、③新規バイオリソース

### 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	クロダ エリコ 黒田 絵莉子
配付時の所属先・職位等 (令和3年4月1日現在)	金沢医科大学 総合医学研究所 助教
現在の所属先・職位等 (令和4年7月1日現在)	同上
プロフィール	博士課程での研究を続ける中で、アルツハイマー病に代表される神経変性疾患の最大危険因子である「老化」に興味を持つようになった。老化には様々な原因が考えられるが、細胞ストレスの影響は大きいと考えている。そこで細胞ストレス応答をテーマに掲げて新しいプロジェクトを立ち上げるに至った。遂行中の研究を通じて様々な技術や知識を身につけながら、若さと情熱を武器に研究者としての飛躍を目指している。

### 1. 研究の概要

ミトコンドリアは細胞内共生した細菌を起源としており、内部に独自の DNA (mtDNA) を持つ真核生物に特徴的な細胞小器官である。ミトコンドリアは酸素呼吸の場として重要な役割を果たしている他、アポトーシス、脂質代謝、カルシウム代謝などにも関与している。このようにミトコンドリアは極めて重要かつ多彩な機能を有していることから、障害を受けると細胞内環境に悪影響を及ぼし、様々な病態を引き起こす。特にアルツハイマー病、パーキンソン病、癌、加齢性難聴など老化に伴い発症する疾患と関係が深い。それゆえにミトコンドリア異常を正確に捉えることが種々の疾患（特に老化関連疾患）の病態解明や治療薬開発に繋がると考えられ、ミトコンドリアの機能や異常を解析する研究の需要が以前にも増して急速に高まっている。しかしながら現在報告されているミトコンドリア異常を解析するための研究手法は用途が限られており、決して十分とは言えないのが現状である。この状況を踏まえてミトコンドリアの異常を捉える手段として「生体イメージング」に着目した。この技術には光レポーターを導入したトランスジェニックマウスがよく使われるが、その種類はまだ少なく、貢献できる分野も限られている。そこで本研究ではミトコンドリア異常の可視化に利用できる新たな生体イメージング用マウスの作製を目指している。本研究で提案するモデルマウスの開発が上手く進めば、ミトコンドリア異常と関わりのある老化関連疾患の病態解明や治療法開発に繋がる可能性があり、医学・薬学分野において広く貢献できると確信している。

### 2. 研究の動機、目的

これまでに所属する研究室では細胞ストレスや炎症を可視化するモデルマウスの開発に成功しており、医学・薬学分野へ少なからず貢献してきた。そこで本研究ではミトコンドリアの異常を可視化する新しい「生体イメージング」技術開発に取り組むことで同様の貢献を目

指そうと考えた。その「生体イメージング」とは生体試料を生きている状態のまま観察できる技術であり、この20年ぐらいで急速に進歩した研究分野である。従来の生命科学研究では細胞や組織を切ったり、固めたり、潰したりして解析を行う必要があったが、本技術を用いれば生きたままの生物試料を対象にできるため、生体内での目的の分子や細胞の挙動を調べるのに大変有効である。つまり生体イメージングを上手く活用することで種々の疾患の原因究明や治療法開発にも研究を進展させられる。その際に必要不可欠なのが生体イメージング用モデルマウスである。しかしながら、ミトコンドリアの異常は前述の通り私たちの健康問題と直結するにも関わらず、それを可視化できる既存の技術は用途が限られている。ゆえにミトコンドリアの異常を可視化するマウスの作製に挑戦し、様々な老化関連疾患の病態解明および効果的な治療法開発に役立つ生体イメージング用研究リソースの創出を目的とする。本研究がうまく進めば、世界でも利用価値の高い技術となるため、医学・薬学研究の場で多くのニーズが予想され、広く貢献できるものと考えられる。

### 3. 研究の結果

性能の良いレポーターシステムを構築するには厳密に制御された分子メカニズムを利用する必要がある。そこで着目している「DELE1」の分子機能について実験的に再確認した。これにより報告どおりに機能すると判明したので、ミトコンドリア異常の可視化に利用する上でDELE1は極めて有用と考え、次の通りFRETを利用したレポーター遺伝子の構築に取り組んでいる。まずFRETシステムで利用するドナーとアクセプターを選定した。ドナーとアクセプターの組み合わせとしてCFPとvenusは広く使われている。その際にFRETの成立/解消は蛍光シグナルの波長変化により捉えられる。ただ生体イメージングでは波長変化（色）よりもシグナル強度（明暗）でFRETの成立/解消を捉えられる方が便利である。そこでFRETが成立したときに暗く、解消したときに明るくなるドナーとアクセプターの組み合わせを探した。これまでに3種類の蛍光ドナー（D1、D2、D3）に対して3種類のアクセプター（A1、A2、A3）をテストした。結果として、「D1/A3」が最適であることが分かったので、これをDELE1レポーターに採用することにした。次に採用FRETシステムへDELE1機能を導入する必要がある。特にFRETシステムがミトコンドリアへ輸送されるようにDELE1のミトコンドリア移行シグナル（MTS）をFRETシステムへ付加しなければならない。またOMA1によるプロセッシングを受けるためにはOMA1認識領域/切断部位もFRETシステムへ付加しなければならない。さらにOMA1によるプロセッシングがFRETの解消を引き起こす必要を考慮すると、この付加部分はドナーおよびアクセプターに挟まれるような位置関係になる。現在までに候補となるレポーター遺伝子を100種類近く得ているが、その性能評価は現在のところ途中段階にある。

### 4. 研究者としてのこれからの展望

医学・薬学分野に貢献できる発見や発明を将来にわたって行える研究者が理想であると考えている。そのために新しい技術や知見に貪欲な姿勢を保ち続けて、常に時代の先端を走る自分でいたい。また近年では留学する若手研究者が減っているようであるが、私自身は早いうちに海外での研究生活を経験して高い国際感覚を身に付けたいと考えている。

### 5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

本研究の支援について大変感謝している。目標であるモデルマウスの開発には現時点で至っていないが、着実な前進は実感している。残された開発を可能なかぎり急いで大きな成果を生み出したいと考えている。今後もわれわれ若手研究者への継続的な支援をお願いしたい。