

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

2022年 4月 18日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所 属 部 局 生命科学研究科

職 名 助教

氏 名 中岡 秀憲

助成の種類	令和3年度・研究活動推進助成			
申請時の科研費 研究課題名	低栄養環境への細胞の馴化メカニズムの解明			
上記以外で助成金を充 当した 研究内容	なし			
助成金充当に関 わる共同研究者	(所属・職名・氏名) なし			
発表学会文献等	(この研究成果を発表した学会・文献等) 日本農芸化学会2022年度大会シンポジウム「微小空間制御から見える新たな生命現象と規則」			
成果の概要	研究内容・研究成果・今後の見通しなどについて、簡略に、A4版・和文で作成し、添付して下さい。(タイトルは「成果の概要／報告者名」)			
会計報告	交付を受けた助成金額	1,000,000	円	
	使用した助成金額	1,000,000	円	
	返納すべき助成金額	0	円	
	助成金の使途内訳	費 目	金 額	
		WinノートPC MousePro	129,800	
		Cytivaナイロンメンブレン他	79,970	
		Wraywer金属顕微鏡	357,357	
		ポータブル密度比重計	212,454	
		クロマトグラフィー用濾紙他	12,339	
MacBook Air		170,280		
MicroSoft Office	37,800			
当財団の助成に ついて	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 科研費を獲得できなかった場合に限定した助成という仕組みがあって本当に助かりました。おかげさまで今後の研究に必要な備品等を購入することができました。今後もこのような助成事業が継続されることを強く希望致します。			

成果の概要/中岡秀憲

<研究内容>

慢性的なストレス環境に対する適応は、微生物から人類に至るまであらゆる生物に共通するが、慢性的な低炭素源環境における長期的な応答については未知の部分が多い。そこで、本研究では、分裂酵母が炭素源の少ない環境におかれた際に見せる「馴化応答」を題材に、ストレス環境下での生存戦略について、分子レベルでの理解を目指す。申請者は独自に分裂酵母専用のマイクロ流体デバイスを開発し、長期ライブイメージングを実現してきたが、本技術を用いて馴化応答時のオルガネラや代謝マーカーの長期ライブイメージングによる生理状態の特徴づけを行うことを目的としている。ここで得られる知見は、我々の体に共生する微生物、あるいは腫瘍組織などの生理状態の理解と制御の基礎となることが期待される。

<研究成果>

当初購入予定であったマイクロデバイス作製のプラズマクリーナーについては、安価な製品が見つかったため、別財源にて購入することができた。また、全自動倒立顕微鏡システムについては中古品販売業者との価格交渉がうまくいかず、購入を断念せざるを得なかった。そこで以下に述べるように、研究の進展に合わせた効果的な予算の使用計画に変更した。

研究を進める中で、低炭素源環境に馴化する酵母細胞の中で発現させた蛍光タンパク質が一様分布から顆粒状へとその局在様式を変化させることが示唆された。このような顆粒局在はオートファジーによる液胞の発達を示している可能性があるが、分裂酵母では炭素源枯渇におけるオートファジーは報告されていない。そこで、顕微鏡画像の **deconvolution** を行うことで顆粒構造をより明瞭に捉えることが必要となった。**Deconvolution** は計算に時間がかかるため、計算専用の PC (MacBook Air) を購入することとした。現在、オートファジー関連遺伝子の欠損株を構築しており、それらの株における蛍光タンパク質顆粒構造がどのようになるのかを検証する予定である。また、オートファジーの生化学的な検出系として **Cleavage assay** と呼ばれる **Western blotting** による方法があり、これに必要な消耗品類(クロマトグラフィー濾紙等)も購入して実験を進めている。予備実験では低炭素源馴化細胞でオートファジーを示すシグナルが得られており、これは今までに報告されていない新奇現象である。

また、低炭素源環境に馴化した細胞の密度上昇が予備的な密度勾配遠心による実験で示唆されたことから、この実験の精度を上げるために液体の比重を計測したいと考え、密度比重計を購入した。細胞密度をイメージングで計測する手段として定量位相イメージングと呼ばれる光学技術があり、その一つである **digital holographic microscopy** を導入するための光学部品の一部を購入した。現在、光学の専門家のアドバイスを受けながらセットアップ中であり、今年度のなるべく早期に実現を目指す。

最後に、現在使用しているマイクロデバイスはチャンネル幅が狭いため、馴化過程における細胞の肥大のような形状変化が正確に捉えられないという問題がある。今後新形状のデバイスを開発する上で、鋳型の観察に欠かせない金属顕微鏡とカメラ、制御 PC を購入した。

<今後の見通し>

上記のオートファジーと低炭素源環境への馴化との関係を明らかにし、今年度中の論文発表を目指す。また、定量位相イメージングや新規デバイスの開発の準備も進めることができたので、以降の研究の発展にも期待が持てる。