

令和4年度 共同研究報告書

|                                   |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |            |            |
|-----------------------------------|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|
| 研究区分                              |       | 一般共同研究                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |            |
| 研究課題名                             |       | 生体膜脂質スフィンゴミエリンの新規生合成・輸送経路の解明                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |            |            |
| 新規・継続の別                           |       | 新規 ・ 継続                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |            |            |
| 研究代表者                             | 所属    | 国立感染症研究所・細胞化学部                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 40歳<br>以下○ | 35歳<br>以下○ |
|                                   | 職名・氏名 | 主任研究官・酒井 祥太                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |            |            |
| 研究分担者<br>(適宜行を追加し<br>て下さい)        | 所属    | 国立感染症研究所・細胞化学部                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |            |            |
|                                   | 職名・氏名 | 博士研究員・島崎 健太郎                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |            | ○          |
|                                   | 所属    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |            |            |
|                                   | 職名・氏名 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |            |            |
| 受け入れ教員                            | 田中 一馬 | 田中 一馬                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |            |            |
| 概要<br>(100～150字程度)                |       | 本研究では、スフィンゴミエリン(SM)結合毒素エキナトキシン(Eqt)および sgRNA ライブラリーを用いた CRISPR/Cas9 システムによる新規スクリーニング系を構築し、SM 生合成・輸送に関連する遺伝子群を見出す。                                                                                                                                                                                                                                             |            |            |
| 研究目的<br>(300字程度)                  |       | 申請者の所属部では、生体膜の主要な脂質の一つであるスフィンゴミエリン (SM) は、小胞体で生合成されたセラミドがセラミド輸送タンパク質 (CERT) によりゴルジ体に輸送され、新規合成されることを見出している。一方、CERT を欠損させた哺乳動物細胞においても、SM の新規合成は完全に欠損せず約 30%に低下するのみであり、CERT に非依存の SM 合成経路の存在が示唆されている。そこで本研究では、SM に結合し細胞障害性を示すエキナトキシン (Eqt) および sgRNA ライブラリーを用いた CRISPR/Cas9 システムによる新規スクリーニング系を構築し、Eqt に耐性を示す変異細胞を探索する事で、SM 生合成・輸送に関連する遺伝子群を見出すことを目的とした。          |            |            |
| 研究内容・成果<br>(1000字程度・Web 会議の回数も記載) |       | 我々は、SM の合成・輸送に関わる遺伝子のスクリーニング解析法の確立から始まり、複数年にわたり同プログラムを利用している。令和2～4年度を通して、スクリーニングの条件設定を中心に進めた。現在までに、遺伝学的なスクリーニング手法の確立は完了した。さらに令和4年度は SM プローブ Eqt-GFP を用いた顕微鏡下での可視化スクリーニングの確立し、SM の分布から合成・輸送経路を明らかにする方法を開発した。加えて、リン脂質の一つホスファチジルセリン (PS) も SM 分布などに関わる可能性が得られており、SM だけでなく PS を可視化するプローブ融合タンパク質を用いた実験の条件も検討している。これらの実験については、田中研究室の岸本助教と複数回 (web 会議を合計 8 回) 議論し、実験 |            |            |

|    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | <p>系の妥当性を検討した。また、令和5年2月に酒井と研究分担者島崎が研究所を訪問し、関連する実験を行い、議論した。</p> <p>また、所属先の業務の一環として、抗 COVID-19 作用を持つ新規化合物の探索を試み、コレステロール代謝物にその効果を見出した。コレステロール代謝物の位置異性や立体異性の違いが、SARS-CoV-2 感染阻害効果に影響を与えることが示唆された。ステロールは SM と高い親和性を持ち、いわゆるラフトと呼ばれる脂質ドメインを形成している。申請研究では SM の合成、分布経路の解析を進めるが、それらはステロールの機能と密接に関わるため、令和4年度の訪問の際にステロールの研究を専門とする田中研究室の岸本助教と協議し、新たな研究プロジェクトを立ち上げることにし、スタートさせた。具体的には、岸本助教にステロールのプローブを調製して供給する新たな研究体制を構築するとともに、SARS-CoV-2 感染阻害剤のスクリーニング、コレステロール代謝物の構造と感染阻害作用の関係を当研究室で研究することにした。これらの研究は、今回の応募テーマと関連する部分が多いため、並行して進めることで、両者の関係性をより深く理解できるものと期待される。このように、本年度の共同研究では、新たな研究の展開が期待できる成果や課題が得られたので、次年度の共同利用プログラムでは、さらなる研究の推進を目指す。</p> |
| 成果 | <p><b>【学会報告】</b></p> <p>参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと</p> <p>酒井祥太、コレステロール代謝物による SARS-CoV-2 感染阻害効果の解析、日本脂質生化学会、東京、2022 年 6 月 24 日</p> <p><b>【論文発表】</b></p> <p>著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと</p> <p><b>【新聞報道】</b></p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |