

Title	多価不飽和脂肪酸による膜環境を介したミトコンドリア機能制御機構の解明
Sub Title	Analysis of the effect of polyunsaturated fatty acid on mitochondrial function
Author	大場, 陽介(Ohba, Yohsuke)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2024
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	多価不飽和脂肪酸は生体膜の流動性や膜局在タンパク質の機能に影響を与えるほか、転写因子のリガンドや脂質メディエーターとして炎症をはじめ生体応答に広く関与することが知られている。興味深いことに、近年、細胞内小器官の一つであるミトコンドリアの機能と多価不飽和脂肪酸の関連について報告が増えてきている。しかし、これらは個体レベル、細胞レベルでの多価不飽和脂肪酸摂取、添加実験で示されている結果であり、具体的に多価不飽和脂肪酸がどのようなメカニズムでミトコンドリアの機能に影響を与えているかは定かではない。そこで本研究では多価不飽和脂肪酸およびそれらより生成する酸化脂肪酸により規定される膜脂質環境に着目し、多価不飽和脂肪酸によるミトコンドリア機能制御機構について分子レベルで明らかにすることを目指した。本研究は3年計画であり本年度はその1年目である。 本年度はミトコンドリアの機能を評価する系の構築に注力した。具体的には、96well plateベースでミトコンドリア膜電位および、ミトコンドリアによるATP産生量の測定系を構築することができた。さらにミトコンドリアストレス応答の活性化をqPCRで評価する系を構築した。また、ミトコンドリアは機能を失うと細胞から速やかにオートファジーの経路で分解される(マイトファジー)が、マイトファジーを評価するための細胞株を樹立した。その上で、細胞に多価不飽和脂肪酸を添加し、ミトコンドリア機能に与える影響を評価するとともに、ミトコンドリア脂質の変化をLC-QTOF-MSを用いたノンターゲットリピドミクス手法を用いて測定した。細胞に添加した脂質はミトコンドリア膜まで取り込まれることが確認でき、これまでに、ミトコンドリアストレス応答およびマイトファジーの経路を正に制御する候補脂質を同定している。今後は、その作用点について詳しく解析を進める予定である。 Polyunsaturated fatty acids are known to affect the fluidity of biological membranes and the function of membrane-localized proteins. They also act as ligands for transcription factors and lipid mediators. Recently, the relationship between polyunsaturated fatty acids and the function of mitochondria has been reported, however, the mechanism of action is not clear yet. In this study, we focus on the membrane lipid environment regulated by polyunsaturated fatty acids and oxidized fatty acids generated from them and try to clarify the mechanism of the regulation of mitochondrial function. This is the progress in the first year of a three-year project. This year, we focused on the establishment of a system to evaluate mitochondrial function. Specifically, we constructed a 96-well plate-based measurement system for mitochondrial membrane potential and ATP production. We also established a system to monitor the activation of mitochondrial stress response by qPCR. In addition, we generated a cell line to evaluate mitophagy flux. Mitochondria are degraded through autophagy (= mitophagy) when they lose their function. We then added polyunsaturated fatty acids to the cells to evaluate their effects on mitochondrial function by using the system described above. At the same time, we measured mitochondrial lipids by LC-QTOF-MS (= untargeted lipidomics). So far, we have identified some candidates that enhance mitochondrial stress response and mitophagy induction. Now we are planning to analyze how those lipids affect mitochondrial function in detail.
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20230001-0030

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2023年度 福澤基金研究補助研究成果実績報告書

研究代表者	所属	薬学部	職名	専任講師	補助額	1,500千円
	氏名	大場 陽介	氏名（英語）	Ohba Yohsuke		
研究課題（日本語）						
多価不飽和脂肪酸による膜環境を介したミトコンドリア機能制御機構の解明						
研究課題（英訳）						
Analysis of the effect of polyunsaturated fatty acid on mitochondrial function						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
大場陽介（Ohba Yohsuke）		薬学部 専任講師				
1. 研究成果実績の概要						
多価不飽和脂肪酸は生体膜の流動性や膜局在タンパク質の機能に影響を与えるほか、転写因子のリガンドや脂質メディエーターとして炎症をはじめ生体応答に広く関与することが知られている。興味深いことに、近年、細胞内小器官の一つであるミトコンドリアの機能と多価不飽和脂肪酸の関連について報告が増えてきている。しかし、これらは個体レベル、細胞レベルでの多価不飽和脂肪酸摂取、添加実験で示されている結果であり、具体的に多価不飽和脂肪酸がどのようなメカニズムでミトコンドリアの機能に影響を与えているかは定かではない。そこで本研究では多価不飽和脂肪酸およびそれらより生成する酸化脂肪酸により規定される膜脂質環境に着目し、多価不飽和脂肪酸によるミトコンドリア機能制御機構について分子レベルで明らかにすることを目指した。本研究は3年計画であり本年度はその1年目である。 本年度はミトコンドリアの機能を評価する系の構築に注力した。具体的には、96well plateベースでミトコンドリア膜電位および、ミトコンドリアによるATP産生量の測定系を構築することができた。さらにミトコンドリアストレス応答の活性化をqPCRで評価する系を構築した。また、ミトコンドリアは機能を失うと細胞から速やかにオートファジーの経路で分解される(マイトファジー)が、マイトファジーを評価するための細胞株を樹立した。その上で、細胞に多価不飽和脂肪酸を添加し、ミトコンドリア機能に与える影響を評価するとともに、ミトコンドリア脂質の変化をLC-QTOF-MSを用いたノンターゲットリピドミクスの手法を用いて測定した。細胞に添加した脂質はミトコンドリア膜まで取り込まれることが確認でき、これまでに、ミトコンドリアストレス応答およびマイトファジーの経路を正に制御する候補脂質を同定している。今後は、その作用点について詳しく解析を進める予定である。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
Polyunsaturated fatty acids are known to affect the fluidity of biological membranes and the function of membrane-localized proteins. They also act as ligands for transcription factors and lipid mediators. Recently, the relationship between polyunsaturated fatty acids and the function of mitochondria has been reported, however, the mechanism of action is not clear yet. In this study, we focus on the membrane lipid environment regulated by polyunsaturated fatty acids and oxidized fatty acids generated from them and try to clarify the mechanism of the regulation of mitochondrial function. This is the progress in the first year of a three-year project. This year, we focused on the establishment of a system to evaluate mitochondrial function. Specifically, we constructed a 96-well plate-based measurement system for mitochondrial membrane potential and ATP production. We also established a system to monitor the activation of mitochondrial stress response by qPCR. In addition, we generated a cell line to evaluate mitophagy flux. Mitochondria are degraded through autophagy (= mitophagy) when they lose their function. We then added polyunsaturated fatty acids to the cells to evaluate their effects on mitochondrial function by using the system described above. At the same time, we measured mitochondrial lipids by LC-QTOF-MS (= untargeted lipidomics). So far, we have identified some candidates that enhance mitochondrial stress response and mitophagy induction. Now we are planning to analyze how those lipids affect mitochondrial function in detail.						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）			