

平成22年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 4 6 0 3      2. 研究機関名      奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名      挑戦的萌芽研究      4. 研究期間      平成22年度～平成23年度
5. 課題番号 2 2 6 5 7 0 3 5
6. 研究課題名      細胞内代謝ネットワークを理解するための細胞内 NAD+可視化技術開発

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
5 0 3 9 0 8 1 0	<small>ナカハタ</small> 中畑 <small>ヤスカズ</small> 泰和	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

老化や代謝に関わる制御因子として注目されている NAD<sup>+</sup>依存性脱アセチル化酵素 Sirtuin ファミリーの研究が近年急激な広がりを見せており、老化、代謝や概日時計の分子基盤を理解するためには、1細胞内での NAD<sup>+</sup>動態の時空間情報を知ることが重要になってくる。しかし従来の NAD<sup>+</sup>分析法では、細胞を破壊して組織抽出液中の NAD<sup>+</sup>を測定するため、個々の細胞の持つ時空間情報が失われてしまう。そこで本研究では、Fluorescent Resonance Energy Transfer (FRET) 法により細胞内 NAD<sup>+</sup>を可視化するための FRET プローブ開発を行った。FRET プローブとして、中央にヒト SIRT1 由来 NAD<sup>+</sup>結合ポケット、N 端に YFP (yellow fluorescent protein)、C 端に CFP (cyan fluorescent protein) を持つ 1 分子 FRET を作製した。作成した FRET プローブを培養細胞に導入したのち、異なる作用機序により細胞内 NAD<sup>+</sup>量を減少させることが知られている H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> と FK866 をそれぞれ培養細胞に処理し、FRET 現象の有無を蛍光分光光度計を用いて評価した。その結果、どちらの処理によっても FRET 現象を起こしていることを示すプローブを見出した。これらの結果は、この FRET プローブが細胞内 NAD<sup>+</sup>量を感じていることを示唆している。次年度は、FRET プローブ精製標品を用いて、試験管内で NAD<sup>+</sup>および類似代謝物 (NADH、ニコチンアミドなど) に対する FRET プローブの特異性を検証し、NAD<sup>+</sup>特異的プローブを完成させる。

10. キーワード

- |               |                      |             |
|---------------|----------------------|-------------|
| (1) FRET      | (2) NAD <sup>+</sup> | (3) エネルギー代謝 |
| (4) ライブイメージング | (5)                  | (6)         |
| (7)           | (8)                  | (裏面に続く)     |

11. 研究発表（平成22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 0 ）件    うち査読付論文 計（ 0 ）件

著者名	論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁

著者名	論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁

著者名	論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁

〔学会発表〕 計（ 0 ）件    うち招待講演 計（ 0 ）件

発表者名	発表標題		
学会等名	発表年月日	発表場所	

〔図書〕 計（ 0 ）件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--