

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2006～2010

課題番号：18370070

研究課題名（和文） モデル微生物に学ぶストレス応答戦略と細胞長寿命化への展開

研究課題名（英文） Characterization of stress responses and cell viability of model microorganisms.

研究代表者

饗場 浩文（ AIBA HIROFUMI ）

名古屋大学・大学院生命農学研究科・准教授

研究者番号：60211687

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：2 成分制御系、経時寿命

1. 研究計画の概要

モデル微生物を対象にストレス適応機構を総合的に解析し新規生命現象の発見と理解を深めること、さらにそれを用いて新しい生物機能の創出（ストレス適応能の強化や細胞の長寿命化）を目指すことが本研究の大きな目的である。

そのために、2つの具体的課題：

「2成分制御系を中心としたストレス応答機構の包括的解析」

「細胞の長寿命化に向けた定常期ストレス応答機構の解析」

を設定し、これらに関して並行して解析を進める。

2. 研究の進捗状況

(1)「2成分制御系を中心としたストレス応答機構の包括的解析」について

・大腸菌を対象に転写因子、特にレスポンスレギュレーターにストレスに応答した細胞内動態、結合領域のゲノム解析を進めた。対象として嫌気-好気に応答する転写因子FnrとArcAならびに、広域転写因子として機能する核様体タンパク質H-NSについてChIP on Chip解析を行い、ストレスに応答した結合様式の変化を明らかにした。

・大腸菌ヒスチジンキナーゼがヘテロ2量体を形成する可能性を検討した。これは、ヒスチジンキナーゼがヘテロ2量体を形成することでシグナル認識の特異性や、情報の伝達様式を変化させる可能性を検討するためであった。大腸菌内two-hybrid法を用いて、ヘテロ2量体を形成するヒスチジンキナーゼ候補を見出している。

(2)「細胞の長寿命化に向けた定常期ストレス応答機構の解析」について

・分裂酵母において定常期生存率が低下する変異株、および上昇する変異株を分離した。

・分裂酵母に高発現すると、定常期生存率を上昇させる新規因子 Ec11 を見出した。Ec11 は、ゲノムデータベースでは遺伝子として想定されていない全く新規な因子であった。

・上記 Ec11 のパラログとして Ec12, Ec13 を新たに見出し、Ec11 同様に、高発現すると分裂酵母の定常期生存率を上昇させることを見出した。これらは互いに機能重複しながら、分裂酵母の定常期生存率（＝経時寿命）を延長する因子であることを示唆した。

・出芽酵母においても Ec11 様の因子が経時寿命の制御に関わることを見出した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

（理由）

・大腸菌の転写因子に関して、ストレスに応答したゲノムワイドな結合様式の解析のために、ChIP on CHIP 解析を立ち上げることを目指し、まずこれを完了した。その上で、3つの転写因子（Fnr, H-NS, ArcA）について、ゲノム全体にわたる結合様式に関するデータを取得解析できた。

・細胞長寿命化に向けて、分裂細胞の経時寿命に影響する因子をスクリーニングし、高発現すると経時寿命を延ばす新規な因子として Ec11 を同定した。加えてその構造・機能ホモログも見出し、これらがファミリーを形成していることを明らかにした。

・分裂酵母が長寿命化する、あるいは短寿命化する変異株を多数、分離した。その中で、

長鎖脂肪酸-CoA 合成酵素が、経時寿命に影響すること、これには2つのホモログが存在することを見出した。他方、長寿命化する変異株に関しても、その性質を明らかにしつつある。

4. 今後の研究の推進方策

大腸菌2成分制御系を中心にした解析に関しては、レスポンスレギュレーター群のChIP on CHIP 解析をさらに進めること、ヒスチジンキナーゼのセンシングの分子メカニズムを解明することを目指す。細胞寿命の制御機構に関しては、分裂酵母を対象に、経時寿命に影響する因子のスクリーニングをさらに進め、全体像を明らかにする。他方、見出した新規経時寿命延長因子 Ec11 ファミリーについて、経時寿命を延ばす具体的機構を解明する。さらに、普遍的な寿命制御研究の視点から、分裂酵母で見出した寿命制御因子が、他の生物においても機能するか否か、あるいはそのオルソログの機能解析を行い、細胞寿命制御におけるこれら因子の普遍性を明らかにする。応用面での展開として、細胞寿命を延ばす、あるいはストレス抵抗性を強化することで、微生物を用いた醸造や発酵、物質生産における生産性の向上が期待されるので、産業微生物を対象に、研究を展開する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ①Ohtsuka, H., Ogawa, Y., Mizuno H., Mita, S., and Aiba, H. Identification of Ecl family genes that extend chronological lifespan in fission yeast. *Biosci. Biotech. Biochem.* 73. 885-889 (2009) 査読有り
- ②Ohtsuka, H., Mita, S., Ogawa, Y., Azuma, K., Ito, H., and Aiba, H. A novel gene, *ec11+*, extends chronological lifespan in fission yeast. *FEMS Yeast Research* 8. 520-530 (2008) 査読有り
- ③Grainger, D., Aiba, H., Hurd, D., Browning, D., and Busby, S. Transcription factor distribution in *Escherichia coli*: studies with FNR protein. *Nucleic Acids Research.* 35. 269-278. (2007) 査読有り
- ④Kato, Y., Sugiura, M., Mizuno, T., and Aiba, H. Effect of the *arcA* mutation on the expression of flagella genes in *Escherichia coli*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 71. 77-83. (2007) 査読有り
- ⑤Fujita, Y., Mita, S., Ohtsuka, H., and Aiba, H. Identification of a fatty acyl-CoA synthetase gene, *lcf2+*, which affect viability after entry into the stationary phase in

Schizosaccharomyces pombe. *Biosci. Biotech. Biochem.* 71. 3041-3047. (2007) 査読有り

- ⑥Oshima, T., Ishikawa, S., Kurokawa, K., Aiba, H., and Ogasawara, N. *Escherichia coli* histone-like protein H-NS preferentially binds to horizontally acquired DNA in association with RNA polymerase. *DNA Research* 13. 141-153. (2006) 査読有り

[学会発表] (計12件)

- ①大塚北斗、東剣虹、三田知花、小川祐樹、饗場浩文 分裂酵母経時寿命を延長させる新規遺伝子 *ec11+*, *ec12+*, *ec13+* の解析 酵母遺伝学フォーラム第41回研究報告会 2008. 9. 10-12 (札幌)
- ②大塚北斗、三田知花、小川祐樹、東剣虹、伊藤宏和、饗場浩文 *ec11+* は分裂酵母の経時寿命を延長させる 日本農芸化学会 2008 年度大会 2008. 3. 28 (名古屋)
- ③三田知花、藤田康之、大塚北斗、饗場浩文 分裂酵母長鎖脂肪酸 Acyl-CoA 合成に関わる新規遺伝子 *lcf2+* の定常期生存率への影響 第30回日本分子生物学会年会 (第80回日本生化学会大会合同大会) 2007. 12. 14 (横浜)
- ④大塚北斗、三田知花、饗場浩文 新規遺伝子 *ec11+* は分裂酵母の経時寿命を延長させる 第30回日本分子生物学会年会 (第80回日本生化学会大会合同大会) 2007. 12. 14 (横浜)
- ⑤饗場浩文 微生物研究から高次生命現象に迫る: 分裂酵母による細胞寿命制御研究の展開 2007年ゲノム微生物学会若手の会 2007. 10. 22-23 (八王子)
- ⑥大塚北斗、三田知花、饗場浩文 分裂酵母の経時寿命を延長させる新規遺伝子 *ec11+* 日本農芸化学会中部支部第150回例会 2007. 9. 22 (中部大学)
- ⑦大塚北斗、三田知花、饗場浩文 分裂酵母の定常期生存率を上昇させる新規遺伝子 *ec11+* 酵母遺伝学フォーラム第40回研究報告会 2007. 9. 13 (大阪)
- ⑧三田知花、藤田康之、大塚北斗、饗場浩文 *S. pombe* 脂肪酸 Acyl-CoA 合成に関わる新規遺伝子 *lcf2+* の機能解析 酵母遺伝学フォーラム第40回研究報告会 2007. 9 (大阪)
- ⑨加藤吉伸、杉浦雅仁、饗場浩文 ArcA は大腸菌鞭毛合成遺伝子群の発現に必要である 第1回日本ゲノム微生物学会年会 2007. 3. 1-3 (千葉県かずさ)
- ⑩その他3件

○ [その他]

HP:

<http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~microbio/>