

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25660290

研究課題名(和文)健康長寿をめざす新規創薬ターゲットの開発にむけた寿命制御因子の探索

研究課題名(英文)Screening and characterization of factors regulating lifespan in fission yeast

研究代表者

饗場 浩文(Aiba, Hirofumi)

名古屋大学・創薬科学研究科・教授

研究者番号：60211687

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、「生物の寿命が如何にして決まるのか？」について理解し、その成果をヒトの健康長寿社会の実現に貢献する創薬ターゲットの開発につなげることを目的とした。そのため、高等生物と細胞レベルでの寿命制御機構に類似性が指摘されている分裂酵母を対象に、細胞寿命を制御する因子の同定と機能解析を行った。その結果、新規な寿命因子候補を複数見いだすことに成功した。このなかで、活性が低下することで寿命が延びると示唆された因子については、その活性を抑制する薬剤で処理すれば寿命を延長できる可能性がある。このように、創薬ターゲットの開発に向けた基盤的・科学的な知見を蓄積することができた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we screened and characterized factors affecting chronological lifespan in fission yeast to gain insight how the lifespan of cell is regulated. We have succeeded to identify some novel factors whose recessive mutations result in the elongation of lifespan. Therefore if we could find reagent that inhibits function of the novel factor, we might be able to elongate fission yeast lifespan by treatment with such reagent. We also found genes whose over-expression result in the elongation of lifespan. Here we could accumulate basic knowledge for lifespan regulation of fission yeast.

研究分野：微生物学

キーワード：分裂酵母 寿命 老化

1. 研究開始当初の背景

近年の寿命研究から、種を超えて共通する寿命制御因子の存在が明らかになりつつある。その知見によると、栄養(カロリー)情報の受容伝達システムならびにストレス応答システムが、寿命制御に重要な役割を果たしている。

申請者は、分裂酵母の寿命研究に着手し、経時寿命が延長する変異株(長生き変異株)や、高発現すると経時寿命を延ばす遺伝子(長生き遺伝子)の取得・解析を進めてきた。経時寿命とは非分裂状態にある細胞の生存期間をいう。この過程で、酵母で同定した寿命因子が、ヒトの健康長寿に向けた創薬ターゲットとなる可能性も見出した。加えて申請者は、2012年4月より名古屋大学に新設された創薬科学研究科に着任したことで、タンパク質構造解析、薬理学、有機合成化学の先端的研究者と創薬を目指した多分野融合研究を推進できる環境を得た。これらの状況に立脚して、「細胞レベルで寿命制御機構を解明する」研究をもとに、創薬に資する基盤情報を構築できる環境が整った。

2. 研究の目的

生物の寿命がいかにして決まるのかを解明することは、現代生物学において最も挑戦的なテーマの1つであり、その解明はヒトの健康長寿社会を実現する上でも重要である。

近年、寿命制御に関わる因子が、酵母から高等生物まで共通に保存されていることを示す知見が蓄積しており、ヒトなど多細胞生物の寿命を理解するには、まず細胞レベルで寿命を理解することが必須・重要となる。本挑戦的萌芽研究では、ヒトの健康長寿に貢献する創薬ターゲットの候補因子を発見することに主眼を置いて、分裂酵母をモデルに細胞寿命を制御する因子の同定と機能解析を行う。

3. 研究の方法

分裂酵母の経時寿命制御因子を同定するため、2つのテーマを設定する。経時寿命が延長する「長生き変異株」の解析と、高発現することで分裂酵母の経時寿命を延長させる「長生き遺伝子」の解析である。それぞれに進捗状況の異なる2つの解析対象を設け研究全体を有機的に遂行する。

4. 研究成果

(1)長生き変異株の解析

経時寿命が延長する新しい長生き変異株を4株分離し、次世代シーケンサーによって変異点を同定した。経時寿命に関与する変異遺伝子を確定するため、遺伝学的解析を進め、3株については、変異点ならびに遺伝子産物を確定した。上記以外の長生き変異株として、P型プロトンATPase Pma1の新たな活性低下型変異株や、分裂酵母の呼吸に関わる転写因子Php2の欠失株を同定した。

(2)長生き遺伝子の解析

高発現することにより分裂酵母の経時寿命を延ばす因子をスクリーニングし、複数の候補遺伝子を取得した。この中からグアニン4重鎖(G4)構造への結合が予想されるOga1タンパク質が出芽酵母のStm1の機能的ホモログであること、細胞寿命の延長因子であることを証明した。解析の過程で、Oga1高発現株の表現型がTor1欠失株のそれと類似していることに気付き、両者の関係を遺伝学的に解析したところ、Oga1がTor1の下流に存在し、Tor1によって負の制御を受ける可能性を示唆する結果を得た。従ってTor1経路の寿命制御における新たな候補因子としてOga1を提示することができた。

また、当研究室で見いだした長生き遺伝子産物のうち、Oga1、Ecl1、Ecl2、Ecl3に関して、寿命延長機能を仲介する因子を遺伝学的にスクリーニングした結果、候補となる因子をそれぞれ同定することに成功した。

加えて、分裂酵母は既知の窒素源欠乏、炭素源欠乏以外にも金属イオン(亜鉛と鉄)の欠乏によって性的分化を誘導することを発見した。さらにEcl1、Ecl2、Ecl3の3重欠失株では亜鉛欠乏による性的分化が起こらないことを見だし、Ecl1、Ecl2、Ecl3が亜鉛センサーとして機能する可能性を提示した。さらに、Ecl1の転写誘導に関わる因子ならびにシグナルの同定にも成功した。

5. 主な発表論文等

(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 8 件)

1. Takuma, K. *, Ohtsuka, H. *, Azuma, K., Murakami, H. and Aiba, H. The fission yeast *php2* mutant displays a lengthened chronological lifespan. *Biosci. Biotech. Biochem.* 77(7), 1548-1555 (2013) DOI: 10.1271/bbb.130223(査読有)

2. Ohtsuka, H. *, Ogawa, S. *, Kawamura, H., Sakai, E., Ichinose, K., Murakami, H. and Aiba, H. Screening for long-lived genes identifies Oga1, a guanine-quadruplex associated protein that affects the chronological lifespan of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol. Genet. Genomics* 288(5), 285-295 (2013) DOI: 10.1007/s00438-013-0748-6(査読有)

3. Shimasaki, T. *, Ohtsuka, H. *, Naito, C., Murakami, H. and Aiba, H. Ecl1 is activated by the transcription factor Atf1 in response to H2O2 stress in *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol. Genet. Genomics* 289(4), 685-693 (2014) Published online: 03 April, DOI:

10.1007/s00438-014-0845-1(査読有)

4. Murakami-Tonami, Y. *, Ohtsuka, H. *, Aiba, H. and Murakami, H. Regulation of wee1+ expression during meiosis in fission yeast. Cell Cycle 13:18, 2853-2858 (2014) DOI: 10.4161/15384101.2014.946807(査読有)

5. Naito, C., Ito, H., Oshiro., Ohtsuka, H., Murakami, H. and Aiba, H. A new pma1 mutation identified in a chronologically long-lived fission yeast mutant. FEBS Open Bio 4, 829-833 (2014) DOI: 10.1016/j.fob.2014.09.006(査読有)

6. Ohtsuka, H. *, Ishida, M. *, Naito, C., Murakami, H. and Aiba, H. Sexual development of Schizosaccharomyces pombe is induced by zinc or iron limitation through Ecl1 family genes. Mol. Genet. Genomics 290(1), 173-185 (2015), DOI: 10.1007/s00438-014-0911-8(査読有)

7. 島崎嵩史、饗場浩文 腹八分目はサルでも寿命を延ばす!? 「腹八分目に医者いらず」を実証するアカゲザルを用いた食餌制限研究 化学と生物 53. No.7 426-428. (2015) (査読有)

8. Sugie, Y. *, Hori, M. *, Oka, S., Ohtsuka, H. and Aiba, H. Reconstruction of a chromatic response system in Escherichia coli. J. Gen. Appl. Microbiol. 2016 in press(査読有)

[学会発表] (計 26 件)

1. 酒井枝里香、大塚北斗、小川真悟、川村英彰、村上浩士、饗場浩文 分裂酵母の新規経時寿命延長因子 oga1+ の同定と解析 酵母遺伝学フォーラム第 46 回研究報告会 2013. 9. 8-10 (仙台)

2. 石田麻衣子、大塚北斗、内藤知佳子、村上浩士、饗場浩文 分裂酵母は微量金属 Fe, Zn の枯渇で性分化を起こす 酵母遺伝学フォーラム第 46 回研究報告会 2013. 9. 8-10 (仙台)

3. 島崎嵩史、大塚北斗、内藤知佳子、村上浩士、饗場浩文 分裂酵母における経時寿命延長因子 Ecl1 の解析 酵母遺伝学フォーラム第 46 回研究報告会 2013. 9. 8-10 (仙台)

4. 酒井枝里香、大塚北斗、小川真悟、川村英彰、村上浩士、饗場浩文 分裂酵母の新規経時寿命延長因子 oga1+ の同定と解析 日本農芸化学会中部支部第 168 回例会 2013. 10. 12 (名古屋)

5. 島崎嵩史、大塚北斗、内藤知佳子、村上浩士、饗場浩文 経時寿命延長因子 Ecl1 は H2O2 ストレスに応答して転写因子 Atf1 により活性化される 日本農芸化学会中部支部第 168 回例会 2013. 10. 12 (名古屋)

6. 石田麻衣子、大塚北斗、内藤知佳子、村上浩士、饗場浩文 分裂酵母は Fe, Zn の枯渇で性分化を起こす 日本農芸化学会中部支部第 168 回例会 2013. 10. 12 (名古屋)

7. 石田麻衣子、大塚北斗、内藤知佳子、村上浩士、饗場浩文 分裂酵母は Fe, Zn の枯渇で性分化を起こす 第 36 回日本分子生物学会年会 2013. 12. 3-6(発表日 4 日) (神戸)

8. 島崎嵩史、大塚北斗、内藤知佳子、村上浩士、饗場浩文 H2O2 ストレスに応答して経時寿命延長因子 Ecl1 は転写因子 Atf1 によって活性化される 第 36 回日本分子生物学会年会 2013. 12. 3-6(発表日 5 日) (神戸)

9. 石田麻衣子、大塚北斗、内藤知佳子、村上浩士、饗場浩文 分裂酵母は Fe, Zn 枯渇下で有性生殖を引き起こす 名古屋大学若手女性研究者サイエンスフォーラム 2014. 8. 6 (名古屋)

10. 大塚北斗、島崎嵩史、石田麻衣子、内藤知佳子、饗場浩文 分裂酵母における経時寿命延長因子 Ecl1 ファミリータンパク質の解析 酵母遺伝学フォーラム第 47 回研究報告会 2014. 9. 1-3 (東京)

11. 石田麻衣子、大塚北斗、村上浩士、饗場浩文 新規な性分化シグナル・亜鉛枯渇における Ecl1 ファミリー遺伝子の機能解析 酵母遺伝学フォーラム第 47 回研究報告会 2014. 9. 1-3 (東京)

12. 岡駿佑、堀慎佑子、杉江よしみ、大塚北斗、饗場浩文 シアノバクテリア由来の 2 成分制御系を用いた光応答性大腸菌の構築 日本農芸化学会中部支部第 171 回例会 2014. 10. 11(名古屋) 「日本農芸化学会中部支部学術奨励賞受賞」

13. 島崎嵩史、大塚北斗、石田麻衣子、内藤知佳子、饗場浩文 分裂酵母における経時寿命延長因子 Ecl1 ファミリータンパク質の解析 日本農芸化学会中部支部第 171 回例会 2014. 10. 11(名古屋)

14. 石田麻衣子、大塚北斗、村上浩士、饗場浩文 新規な性分化シグナル・亜鉛枯渇における Ecl1 ファミリー遺伝子の機能解析 第 37 回日本分子生物学会年会 2014. 11. 25-27 (横浜)

15. 島崎嵩史、大塚北斗、石田麻衣子、内藤

知佳子、饗場浩文 分裂酵母における経時寿命延長因子 Ecl1 ファミリータンパク質の解析 第37回日本分子生物学会年会 2014. 11. 25-27 (横浜)

16. 高嶋智子、三輪由紀子、饗場浩文、村上浩士 Forkhead 型転写因子 Fkh2 による細胞周期制御機構の解析 第37回日本分子生物学会年会 2014. 11. 25-27 (横浜)

17. 岡駿佑、堀慎佑子、杉江よしみ、大塚北斗、饗場浩文 合成生物学の展開に向けた光応答性大腸菌の構築 第37回日本分子生物学会年会 2014. 11. 25-27 (横浜)

18. 岡駿佑、堀慎佑子、杉江よしみ、大塚北斗、饗場浩文 合成生物学の展開に向けた光応答性大腸菌の創成 第9回日本ゲノム微生物学会年会 2015. 3. 6-8 (神戸)

19. 石田麻衣子、大塚北斗、内藤知佳子、村上浩士、饗場浩文 分裂酵母は亜鉛もしくは鉄枯渇下で無性生殖を引き起こす 理系女性研究者の活躍推進シンポジウム 「シーズ&ニーズ・マッチングフォーラムおよび女性研究者交流会」2015. 3. 10 (豊橋技術科学大学)

20. Maiko Ishida, Hokuto Ohtsuka, Hiroshi Murakami, and Hirofumi Aiba. Sexual development of *S. pombe* is induced by iron or zinc limitation. The 8th international fission yeast meeting (Kobe, Japan) 2015. 6. 21-26

21. Takafumi Shimasaki, Hokuto Ohtsuka, Maiko Ishida, Chikako Naito, and Hirofumi Aiba. Functional analysis of Ecl1 family proteins that extend chronological lifespan of *Schizosaccharomyces pombe*. The 8th international fission yeast meeting (Kobe, Japan) 2015. 6. 21-26

22. 橋爪彩、倉内達弘、坪内聡、加藤浩介、村上浩士、大塚北斗、饗場浩文 分裂酵母の経時寿命が延長する変異株の取得と解析 第38回日本分子生物学会年会 2015. 12. 1-4 (神戸)

23. 滝浪奨洋、大塚北斗、島崎嵩史、村上浩士、饗場浩文 分裂酵母の経時寿命因子 Ecl1 の発現機構の解析 第38回日本分子生物学会年会 2015. 12. 1-4 (神戸)

24. 島崎嵩史、大塚北斗、内藤知佳子、村上浩士、饗場浩文 分裂酵母における経時寿命延長因子 Ecl1 ファミリータンパク質の機能解析 第38回日本分子生物学会年会 2015. 12. 1-4 (神戸)

25. 倉内達弘、橋爪彩、坪内聡、加藤浩介、村上浩士、大塚北斗、饗場浩文 分裂酵母において定常期生存率が上昇する変異の同定と解析 第38回日本分子生物学会年会 2015. 12. 1-4 (神戸)

26. 岡駿佑、堀慎佑子、杉江よしみ、大塚北斗、饗場浩文 合成生物学の展開に向けた光応答性大腸菌の創成 第38回日本分子生物学会年会 2015. 12. 1-4 (神戸)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 饗場浩文

(Aiba Hirofumi)

名古屋大学・創薬科学研究科・教授

研究者番号：60211687

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：