

令和 4 年 5 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15730

研究課題名(和文) アミノ酸枯渇による隠されし応答 -Ecl1 family遺伝子依存的な寿命延長-

研究課題名(英文) Hidden response to amino acid depletion -Ecl1 family gene-dependent extension of lifespan-

研究代表者

大塚 北斗 (Ohtsuka, Hokuto)

名古屋大学・創薬科学研究科・助教

研究者番号：10632151

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：分裂酵母*Schizosaccharomyces pombe*において、アミノ酸の飢餓は、寿命制御遺伝子 *ec11* を誘導することがわかった。これによって、分裂酵母は、アミノ酸飢餓条件下においては、適切な細胞内応答を行い、飢餓条件に適応し、即座の餓死を免れる。飢餓条件における細胞寿命の延長は、細胞内のタンパク質生産工場であるリボソーム量の抑制と深い関わりがあることもわかった。生物の寿命延長機構は、微生物である酵母から高等生物まで保存されているものが見られ、飢餓条件が高等生物の寿命延長に関わることもわかりつつある。微生物の飢餓応答機構が、高等生物の寿命制御機構の土台になっている可能性が予想される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、細胞寿命の制御を行う複数の因子が発見され、微生物の細胞寿命制御に関わる因子が、高等生物でも寿命制御に関わることもわかってきているが、未だ寿命制御の詳細なメカニズムはわかっていない。本研究では、モデル生物、分裂酵母において細胞寿命を制御する遺伝子 *ec11* が、アミノ酸飢餓時に発現し、細胞を飢餓から守り、細胞寿命の延長に貢献することを発見した。飢餓時に、細胞寿命が延長することは、環境変化を待つことにより、新しく栄養豊富な環境に細胞がさらされる機会が増すことに繋がる。微生物において飢餓時に細胞寿命を延長することは、自己の遺伝情報を後世に残すのに大きく貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*, amino acid starvation induces *ec11+*, which regulates the chronological lifespan. Under amino acid starvation conditions, this induction contributes to adapt appropriately to starvation conditions, and avoid immediate death from hunger. We also found that the extension of chronological lifespan in starvation conditions is closely related to the suppression of the ribosome, which is an intracellular protein production plant. Some of the mechanisms for extending the lifespan of living organisms are conserved from the microorganism yeast to higher organisms, and it is becoming clear that starvation conditions are involved in extending the lifespan of higher organisms. It is expected that the microbial starvation response mechanism is the basis of the lifespan control mechanism of higher organisms.

研究分野：分子微生物学

キーワード：分裂酵母 飢餓応答 アミノ酸 *ec11* 寿命 経時寿命 細胞寿命 老化

### 1. 研究開始当初の背景

老化という現象はあらゆる生物に共通して起こる。老化の分子生物学研究においては、モデル生物を用いた多くの研究により、老化に関わる因子や経路などがさまざまな生物種にわたり共通して保存されていることが証明されている。申請者らは分裂酵母を用い老化現象のメカニズム解明を目指した研究に取り組んできた。

酵母を用いた老化研究は、その遺伝子操作の容易さを活かし、さまざまな老化関連因子が同定され、細胞寿命・老化メカニズム解明に貢献している。その酵母の寿命の概念として2つの寿命が定義されている。分裂寿命と経時寿命である。申請者らは分裂酵母を用い経時寿命の研究をしている。経時寿命とは、分裂しない状況下での細胞集団の生存期間を計測することで測定され、高等多細胞生物の分化した細胞の寿命モデルとして捉えられている。

酵母の老化研究においても、出芽酵母に比べ分裂酵母を用いた研究は比較的新しい。分裂酵母は細胞分裂の形態やエキソン/イントロンの割合などの観点から、出芽酵母より高等生物に近いと判断されうる。さまざまな生物に保存されている老化・寿命メカニズムの理解と、ヒトなどへの老化・寿命研究の応用の観点から、分裂酵母を用いて老化研究に取り組むことにはさまざまな利点がある。申請者らは分裂酵母の経時寿命解析を行う過程で、それまで non-coding RNA しか無いと認識されていた DNA 領域に新たにタンパク質をコードする遺伝子、*ec11*、*ec12*、*ec13*を見いだした。また同様に、出芽酵母においてもそのホモログ遺伝子 *ECL1* を発見した。これら *Ecl1* family 遺伝子群は分裂酵母、出芽酵母のどちらにおいても高発現することにより寿命を延長させ、その遺伝子群の欠損により寿命が短くなる。研究開始時、これら遺伝子の発現機構や、その寿命延長に関与する因子の特定に関して一定の知見を得られたが、その遺伝子産物の分子レベルでの機能は未だ不明のままであった。

分裂酵母は他の多くの微生物同様に 20 種類すべてのアミノ酸の合成が可能な単細胞真核生物である。そのため細胞内において、ある特定のアミノ酸が枯渇する状況は多くは無いと予想されるが、申請者らは予備的研究によって、アミノ酸要求性変異株において環境中のアミノ酸を枯渇させた際、寿命制御遺伝子 *Ecl1* family 遺伝子の劇的な発現誘導とこの遺伝子に依存した寿命延長が起こることを発見した。このことは、細胞内のアミノ酸が減少した際、細胞がその環境に適切に応答し、細胞の生命活動を維持するために、*Ecl1* family 遺伝子を介した未知の機構が存在することを示した。

### 2. 研究の目的

本研究では、分裂酵母において、アミノ酸枯渇が *Ecl1* family 遺伝子を介して細胞の寿命を延長させる仕組みを分子レベルで解明することを目指した。本計画によって、これまで不明であった *Ecl1* family タンパク質の分子レベルでの働きだけでなく、新たな細胞内アミノ酸応答と細胞寿命制御の知見が得られることが期待された。

申請者らが着目する *Ecl1* family 遺伝子は申請者が発見した遺伝子であり、それら遺伝子および遺伝子産物の性質、特徴は申請者が最も把握している。また、アミノ酸応答シグナルは target of rapamycin (TOR) 経路や general amino acid control (GAAC) 経路などが知られており、これらと寿命の関連性についての議論はこれまでも見られるが (Gallinetti et al. Biochem J 2013)、*Ecl1* family 遺伝子のこれら経路やアミノ酸応答への関わりは知られていなかった。

### 3. 研究の方法

アミノ酸枯渇時に *Ecl1* family 遺伝子を誘導する転写因子を探索・決定する。アミノ酸枯渇時に *Ecl1* family 遺伝子の発現が誘導される仕組みについては未だわかっていない。細胞のアミノ酸応答の中で、*Ecl1* family 遺伝子がどのような立ち位置で働いているのかを明らかにするため、アミノ酸枯渇時の *Ecl1* family 遺伝子発現誘導に必要な転写因子を決定する。一遺伝子欠損株セットの中から転写因子をコードする全ての遺伝子変異株を候補として選択し、*Ecl1* family 遺伝子の発現誘導が起こらない遺伝子欠損株を探索する。この候補因子の中から、*Ecl1* family 遺伝子の上流 DNA 配列に直接結合するものを、クロマチン免疫沈降法を用いて決定する。

アミノ酸枯渇時に *Ecl1* family タンパク質と物理的相互作用するタンパク質を探す。*Ecl1* family タンパク質は 100 アミノ酸以下から成る小さなタンパク質であり、キナーゼドメインなどの機能既知ドメインは存在しない。このため、このタンパク質のみで特定の酵素活性などを有し、単独のタンパク質として細胞内で機能する可能性は低いと予想される。つまり、物理的相互作用している、共に働くタンパク質が存在していると考えられる。アミノ酸枯渇時、*Ecl1* family タンパク質の存在量が上昇するのだが、その段階での *Ecl1* family タンパク質を酵母細胞内から精製・抽出する。その抽出液には *Ecl1* family タンパク質とこれに結合しているタンパク質が

存在すると考えられる。そして、質量分析装置を用いて抽出液中のすべてのタンパク質を決定する。その後、一遺伝子欠損株セットから候補タンパク質の欠損株を選択し、Ec11 family 遺伝子による寿命延長が起こらない変異株を探し、Ec11 family 遺伝子による寿命延長に必要な因子を決定する。

アミノ酸枯渇時の Ec11 family タンパク質の翻訳後修飾の変化を調べる。Ec11 family タンパク質自身の働きや保有するタンパク質ドメインの働きは不明である。故に、その分子機構を明らかにすることは、新しいタンパク質の働き方、動き方のモデルを提唱できる可能性を持っている。上で準備した Ec11 family タンパク質の抽出液を、質量分析装置を用いて Ec11 family タンパク質のリン酸化、アセチル化、メチル化について調べる。この時、アミノ酸枯渇をさせていない状況での Ec11 family タンパク質の状態と比較する。そして、得られた翻訳後修飾の情報をいい、対象部位のアミノ酸を置換した変異 Ec11 family タンパク質を作製し、寿命制御を含む表現型解析を行い、その生理学的意義の有無を調べる。

#### 4. 研究成果

分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* において、アミノ酸の飢餓は、寿命制御遺伝子 *ec11* を誘導することがわかった。これによって、分裂酵母は、アミノ酸飢餓条件下においては、適切な細胞内応答を行い、飢餓条件に適応し、即座の餓死を免れる。飢餓条件における細胞寿命の延長は、細胞内のタンパク質生産工場であるリボソーム量の抑制と深い関わりがあることもわかった。生物の寿命延長機構は、微生物である酵母から高等生物まで保存されているものが見られ、飢餓条件が高等生物の寿命延長に関わることもわかりつつある。微生物の飢餓応答機構が、高等生物の寿命制御機構の土台になっている可能性が予想される。

本研究の直接的成果や本研究に付随する新規テーマによる研究成果を、2019 年度に 2 報の論文に、9 件の学会発表にて発表した。2020 年度には、3 報の論文に、9 件の学会発表を行った。1 年期間延長した 2021 年度には、7 報の論文に、5 件の学会発表を行った。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Ohtsuka Hokuto, Matsumoto Takuma, Mochida Takahiro, Shimasaki Takafumi, Shibuya Masatoshi, Yamamoto Yoshihiko, Aiba Hirofumi	4. 巻 -
2. 論文標題 Tschinganine has different targets for chronological lifespan extension and growth inhibition in fission yeast	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ohtsuka Hokuto, Shimasaki Takafumi, Aiba Hirofumi	4. 巻 -
2. 論文標題 Response to leucine in <i>Schizosaccharomyces pombe</i> (fission yeast)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEMS Yeast Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsyr/foac020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ohtsuka Hokuto, Hatta Yoshiko, Hayashi Kana, Shimasaki Takafumi, Otsubo Yoko, Ito Yurika, Tsutsui Yu, Hattori Nobutake, Yamashita Akira, Murakami Hiroshi, Aiba Hirofumi	4. 巻 1
2. 論文標題 Cdc13 (cyclin B) is degraded by autophagy under sulfur depletion in fission yeast	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Autophagy Reports	6. 最初と最後の頁 51 ~ 64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/27694127.2022.2047442	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matsui Kotaro, Okamoto Keisuke, Hasegawa Tomoka, Ohtsuka Hokuto, Shimasaki Takafumi, Ihara Kunio, Goto Yuhei, Aoki Kazuhiro, Aiba Hirofumi	4. 巻 26
2. 論文標題 Identification of <i>ksg1</i> mutation showing long lived phenotype in fission yeast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 967 ~ 978
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12897	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohtsuka Hokuto, Shimasaki Takafumi, Aiba Hirofumi	4. 巻 21
2. 論文標題 Response to sulfur in <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEMS Yeast Research	6. 最初と最後の頁 foab041
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsyr/foab041	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohtsuka Hokuto, Shimasaki Takafumi, Aiba Hirofumi	4. 巻 26
2. 論文標題 Extension of chronological lifespan in <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 459 ~ 473
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12854	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurauchi Tatsuhiro, Matsui Kotaro, Shimasaki Takafumi, Ohtsuka Hokuto, Tsubouchi Satoshi, Ihara Kunio, Tani Motohiro, Aiba Hirofumi	4. 巻 368
2. 論文標題 Identification of <i>sur2</i> mutation affecting the lifespan of fission yeast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEMS Microbiology Letters	6. 最初と最後の頁 fnab070
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsle/fnab070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohtsuka Hokuto, Kobayashi Mikuto, Shimasaki Takafumi, Sato Teppei, Akanuma Genki, Kitaura Yasuyuki, Otsubo Yoko, Yamashita Akira, Aiba Hirofumi	4. 巻 10
2. 論文標題 Magnesium depletion extends fission yeast lifespan via general amino acid control activation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 MicrobiologyOpen	6. 最初と最後の頁 e1176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mbo3.1176	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimasaki Takafumi, Okamoto Keisuke, Ohtsuka Hokuto, Aiba Hirofumi	4. 巻 25
2. 論文標題 Sulfur depletion induces autophagy through Ecl1 family genes in fission yeast	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 825 ~ 830
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12815	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohtsuka Hokuto, Shimasaki Takafumi, Aiba Hirofumi	4. 巻 -
2. 論文標題 Genes affecting the extension of chronological lifespan in Schizosaccharomyces pombe (fission yeast)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Microbiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/mmi.14627	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohtsuka Hokuto, Kato Takanori, Sato Teppei, Shimasaki Takafumi, Kojima Takaaki, Aiba Hirofumi	4. 巻 294
2. 論文標題 Leucine depletion extends the lifespans of leucine-auxotrophic fission yeast by inducing Ecl1 family genes via the transcription factor Fil1	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 MOLECULAR GENETICS AND GENOMICS	6. 最初と最後の頁 1499-1509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00438-019-01592-6	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imai Yuki, Shimasaki Takafumi, Enokimura Chihiro, Ohtsuka Hokuto, Tsubouchi Satoshi, Ihara Kunio, Aiba Hirofumi	4. 巻 84
2. 論文標題 gas1 mutation extends chronological lifespan via Pmk1 and Sty1 MAPKs in Schizosaccharomyces pombe	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 330 ~ 337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1676695	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小林未来登, 佐藤哲平, 大塚北斗, 島崎嵩史, 饗場浩文
2. 発表標題 Mg枯渇時における分裂酵母の経時寿命延長因子Ec11 Family遺伝子の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第187回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 八田佳子, 筒井優, 服部允起, 島崎嵩史, 大塚北斗, 饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母における硫黄枯渇制限下での細胞小型化の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第187回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松本拓磨, 大塚北斗, 持田尚宏, 島崎嵩史, 澁谷正俊, 山本芳彦, 饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母におけるTschinganineの作用機構の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第187回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丸山哲平, 林可奈子, 島崎嵩史, 大塚北斗, 齋藤成昭, 饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母におけるGhtファミリータンパク質の欠失がグルコース取り込みと寿命へ与える影響の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第187回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松本拓磨、大塚北斗、持田尚宏、島崎高史、山本芳彦、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母におけるTschinganineの作用機構の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第53回研究報告会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 島崎高史、岡本啓佑、大塚北斗、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母において硫黄枯渇はEcl1ファミリー遺伝子依存的にオートファジーを誘導する
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第53回研究報告会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 八田佳子、筒井優、服部允起、大塚北斗、島崎高史、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母における硫黄枯渇による細胞小型化の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第53回研究報告会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林未来登、佐藤哲平、大塚北斗、島崎高史、饗場浩文
2. 発表標題 Mg枯渇時における分裂酵母の経時寿命延長因子Ecl1ファミリー遺伝子の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第53回研究報告会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松井滉太郎、岡本啓佑、長谷川朋香、島崎嵩史、大塚北斗、井原邦夫、後藤祐平、青木一洋、饗場浩文
2. 発表標題 経時寿命が延長する分裂酵母変異株のスクリーニングと新規寿命関連因子の同定
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第53回研究報告会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 持田尚宏、大塚北斗、松本拓磨、島崎嵩史、澁谷正俊、山本芳彦、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母におけるTschinganineの作用機構の解析
3. 学会等名 第14回 日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 島崎嵩史、大塚北斗、佐藤哲平、赤沼元気、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母におけるアミノ酸枯渇応答機構の解析
3. 学会等名 第14回 日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 筒井優、服部允起、八田佳子、大塚北斗、島崎嵩史、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母における硫黄枯渇と細胞応答
3. 学会等名 第14回 日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松井滉太郎、岡本啓佑、長谷川朋香、島崎嵩史、大塚北斗、井原邦夫、中村彰伸、後藤祐平、青木一洋、饗場浩文
2. 発表標題 経時寿命が延長する分裂酵母変異株のスクリーニングと新規寿命関連因子の同定
3. 学会等名 第14回 日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林未来登, 佐藤哲平, 大塚北斗, 島崎嵩史, 饗場浩文
2. 発表標題 マグネシウム枯渇条件下における分裂酵母の経時寿命延長因子Ecl1 family遺伝子の解析
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八田佳子, 筒井優, 服部允起, 島崎崇史, 大塚北斗, 饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母における(Ecl1ファミリー遺伝子を介した)硫黄枯渇による細胞小型化の解析
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤哲平、大塚北斗、加藤敬典、島崎嵩史、饗場浩文
2. 発表標題 アミノ酸枯渇に応答する分裂酵母の経時寿命延長因子Ecl1 Family 遺伝子の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第52回研究報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島崎嵩史、今井優希、榎村千尋、大塚北斗、井原邦夫、饗場浩文
2. 発表標題 分裂酵母におけるgas1 変異による寿命延長機構の解析
3. 学会等名 酵母遺伝学フォーラム第52回研究報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirofumi Aiba, Hokuto Ohtsuka, Takanori Kato, Teppei Sato, and Takafumi Shimasaki
2. 発表標題 Leucine depletion extends the lifespans of fission yeast by inducing Ecl1 family genes via the transcription factor Fil1
3. 学会等名 The 10 th International Fission Yeast Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 南野 徹	4. 発行年 2022年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 460
3. 書名 生物の寿命延長	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------