P-14　分裂酵母の細胞寿命制御に学ぶ健康長寿創薬の基盤研究

饗場浩文（名古屋大・創薬科学研究科）

要旨

分裂酵母をモデルとして生物の寿命がどのようにして決まるのかを解明する研究を本助成金を受けて進め、以下の成果を得た。これらはヒトの健康長寿に資する創薬・食品開発等の基盤知識になると期待される。

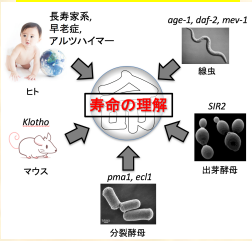
（A）（ポスター中緑色）
Pma1が寿命制御に関わることを明らかにし、酵母の寿命を制御可能なPma1阻害剤を開発した。

（B）（ポスター中ピンク色）
分裂酵母から長寿命変異株を大規模にスクリーニングし、新規な必須キナーゼNnk1に変異（*nnk1-35*）が生じることで経時寿命が延びることを発見した。*nnk1-35*変異株では主要なグルコーストランスポーターであるGht5の発現が低下すると共に局在にも異常が見られた。これによりグルコースの利用が正常に行われず、細胞がカロリー制限様の生理状態になることで経時寿命が延長したと考えた（FEMS Microbiology Letters 364 (2017)）。

（C）（ポスター中水色）
長寿を因子Ecl1は転写レベルで硫黄源の枯渇に応答して転写因子Zip1により発現誘導されることを発見した。さらに、硫黄枯渇はリボソームの低下を介して新しい寿命延長シグナルとして作用することを見出した。これを基に、「寿命制御におけるリボソーム仮説」を提唱した（Molecular Microbiology 105 (2017), FEMS Yeast Research. Review. (2017)）。

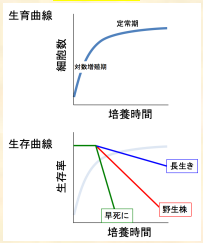
その他、Ecl1タンパク質の機能―構造相関を解析し、Ecl1は亜鉛結合タンパク質であることを示した（Mol. Genet. Genomics 292 (2017)）。

寿命・老化を理解するためのモデル系



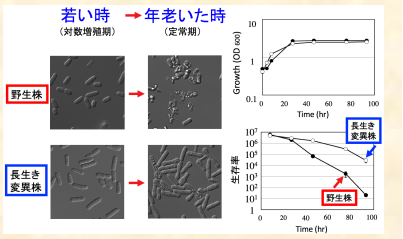
我々は分裂酵母をモデルとして寿命制御機能の解明を目指す。

経時寿命



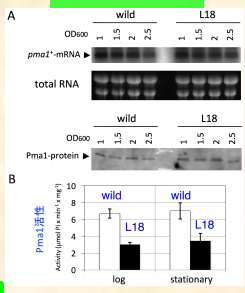
経時寿命とは、非分裂状態で細胞が生存する期間をいう。液体培養において、定常期に達した後のCFUを測定して求める。

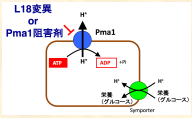
長寿命変異株の解析（Pma1）



長寿命変異株L18ではPma1活性が低下していた。
そこで、Pma1活性を調節することで寿命を制御できる可能性が示唆された。

Pma1の発現・活性測定

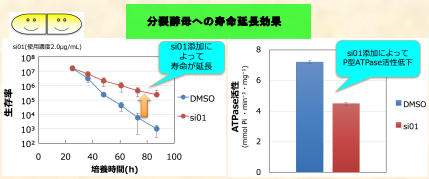




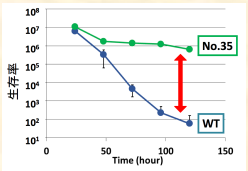
Pma1活性阻害剤の合成・開発

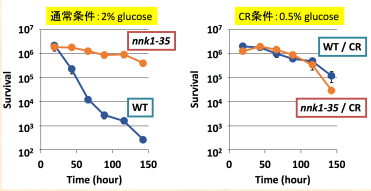
知財関係・未発表データにつき
HPでは非公開とさせていただきます。

分裂酵母への寿命延長効果



長寿命変異株の解析（Nnk1）

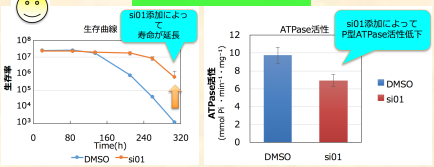


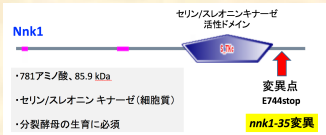


阻害剤の構造-活性相関

知財関係・未発表データにつき
HPでは非公開とさせていただきます。

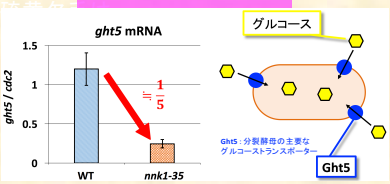
出芽酵母への寿命延長効果





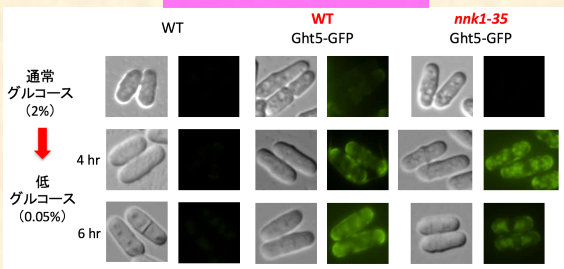
長寿命変異株No.35は、機能未知キナーゼNnk1に変異（*nnk1-35*変異）があった。
*nnk1-35*変異とカロリー制限(CR)は寿命延長において相加的に作用しなかった。
よって、*nnk1-35*変異とカロリー制限(CR)は同じ経路で機能する可能性が示唆された。

Nnk1-35変異株におけるGht5の発現



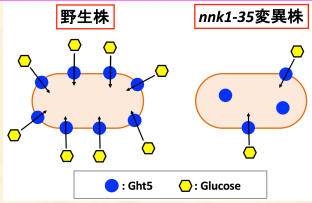
*nnk1-35*変異株ではグルコーストランスポーターの発現が低下した

Nnk1-35変異株におけるGht5タンパク質の局在



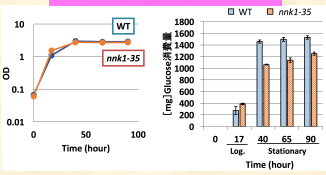
*nnk1-35*変異株ではグルコーストランスポーター:Ght5の膜局在に異常が見られた

グルコース利用に関わる変異株における寿命延長モデル



Nnk1は主要グルコーストランスポーターGht5の発現と局在に関わるキナーゼである。
*nnk1-35*変異株では、グルコースの取り込みに異常が生じ、CR様の生理変化が生じた可能性がある。

Nnk1-35変異株におけるグルコース消費



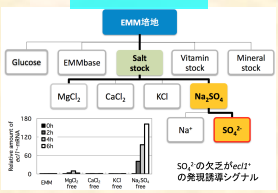
*nnk1-35*変異株は野生株に比べてグルコース消費量が少なかった

長寿遺伝子Ecl1の解析

Extender of Chronological Lifespan：経時寿命延長因子

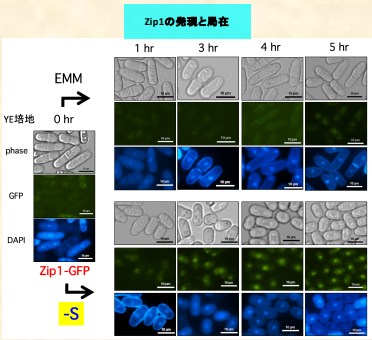
```
Ecl1   1 MDLDFCTVCGLATTQDGSLYCSSCCHLLDFTKLDTQTTSN---ISVSSEY
Ecl2   1 MDLDYCIICGKPTTGN--LYCSRCCHLQDQPGCGSTSEQC-SYSKSADL
Ecl3   1 MDLNLCLLCGNSIDAEGLYCSNCCRIQDKATTELFSDPLKSPSLNETI

Ecl1     QFLVSEHLAHF--HHKSMTSADFPTPRFS---AYTKLHA------   80 aa
Ecl2     HMLSSDYLDHFRRHSSMPSPSTSSSLLNGFVASRLAVL------   84 aa
Ecl3     DYLALNYFDLFSRHSSMCS--SSNGSIYSGIYYTELKNYSVEN   89 aa
```

培地成分とEcl1発現



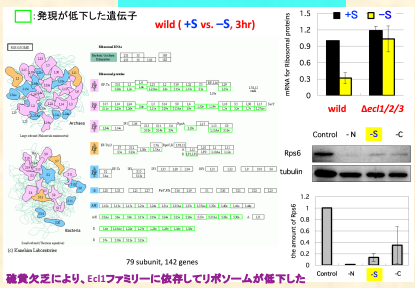
SO_4^{2-}の欠乏がEcl1の発現誘導シグナルである

Zip1の発現と局在



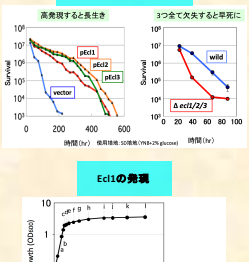
Zip1は硫黄欠乏により発現し、核に局在した

硫黄欠乏時のトランスクリプトーム解析

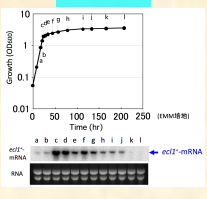


硫黄欠乏により、Ecl1ファミリーに依存してリボソームが低下した

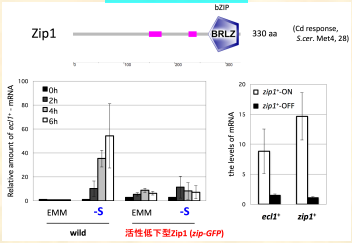
Ecl1ファミリーと寿命



Ecl1の発現

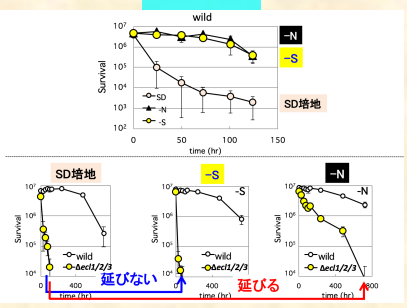


Ecl1の転写因子：Zip1



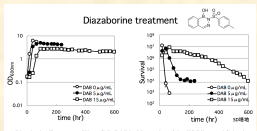
Zip1は硫黄欠乏によるEcl1の転写に必要である

硫黄欠乏と寿命



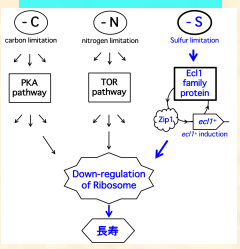
硫黄欠乏はEcl1ファミリーに依存して寿命を延ばした

リボソームの成熟を阻害する抗生物質を添加することでに経時寿命が延長した



Diazaborine Treatment of Yeast Cells Inhibits Maturation of the 60S Ribosomal Subunit
Peracchi, et al. Mol Cell Biol. (2004) 24, 6478-6487

寿命制御におけるリボソーム仮説



硫黄枯渇はEcl1ファミリーに依存して寿命を延ばす新規な寿命延長シグナルである。
硫黄枯渇に加え、炭素源枯渇、窒素源枯渇など経時寿命が延長する条件下では共通してリボソームの低下が認められた。
さらに、栄養源豊富条件下でも、リボソーム活性を低下させるだけで寿命が延長した。
従って、リボソームの低下が寿命を延ばす原因であると考えられる。