

**第1回 静岡大学ライフサイエンスシンポジウム**

**老化のメカニズムを探る  
酵母からヒトまで**

**日時 2004年10月6日(水) 16:00~18:00**

**場所 静岡大学共通教育A棟301室**

**主催 静岡大学生命科学若手フォーラム**

**後援 静岡大学遺伝子実験施設**

## 目次

目次	1
第1回 静岡大学ライフサイエンスシンポジウム スケジュール	2
要旨要約	3
静岡大学生命科学若手フォーラム設立趣意書	4
静岡大学ライフサイエンスシンポジウム開催計画書	5
発表要旨	
理学部 上野勝：染色体末端テロメアと老化、がんとの関係について	6
遺伝子実験施設 道羅英夫：ゾウリムシの老化と若返り	8
理学部 天野豊己：植物の老化と死	10
静岡県立大学 海野けい子：ヒトの老化をマウスで探る	16
第1回シンポジウム準備委員会	20
編集後記	21
会員名簿	21

## 第1回 静岡大学ライフサイエンスシンポジウム スケジュール

### 【シンポジウム名】

老化のメカニズムを探る 酵母からヒトまで

### 【日時】

平成16年10月6日(水) 16時～18時

### 【場所】

静岡大学共通教育 A 棟 301 室

### 【スケジュール】

16時00分～16時05分 代表あいさつ 農学部 茶山和敏

16時05分～16時15分 副学長あいさつ 学術・情報担当 石井 仁

16時15分～16時35分 理学部 上野勝  
染色体末端テロメアと老化、がんとの関係について

16時35分～16時55分 遺伝子実験施設 道羅英夫  
ゾウリムシの老化と若返り

16時55分～17時15分 理学部 天野豊己  
植物の老化と死

17時15分～17時45分 静岡県立大学 海野けい子  
ヒトの老化をマウスで探る

17時45分～18時00分 総合討論

### 【懇話会】

18時00分～20時00分 A306 ゼミ室

## 【要旨要約】

### 上野勝（理学部化学科）

演題：染色体末端テロメアと老化、がんとの関係について

要旨：染色体末端には、テロメア DNA と呼ばれる繰返し DNA 配列が存在する。テロメア DNA の構造は、細胞の老化やがんと密接に関係している。本発表では酵母を用いたテロメア研究とその老化、がん抑制への応用について紹介する。

### 道羅英夫（遺伝子実験施設）

演題：ゾウリムシの老化と若返り

要旨：単細胞生物であるゾウリムシは分裂によって無限に増殖すると考えられていたが、今世紀半ば頃、ゾウリムシにも寿命があることが明らかになった。その後、ゾウリムシの若返り物質も発見され、老化と若返りの研究が大きく展開されていった。今回は自分の研究テーマであるゾウリムシの共生と老化を関連づけて考えてみたい。

### 天野豊己（理学部生物地球環境科学科）

演題：植物の老化と死

要旨：植物の老化と死は動物と比べて目的がはっきりしている。例えば老化は、栄養分の回収が目的で、必要がなければ老化しない。植物の老化の特徴は、タンパク質と色素の分解である。本発表ではプロテアーゼを中心に老化の分子機構を概説する。

### 海野けい子（静岡県立大学薬学部医薬生命化学教室）

演題：ヒトの老化をマウスで探る

要旨：老化促進モデルマウス(SAM)は寿命が短く、老化に関連した様々な病態を示す。SAMP10 と呼ばれる系統は加齢に伴い脳が萎縮することから、ヒトの脳の老化モデルになると考えられている。脳の老化を抑制し健康に加齢するために必要なことは？

# 静岡大学生命科学若手フォーラム設立趣意書

## 1、設立経緯および目的

近年、生命科学の分野はその研究の進展がめざましく、研究者が連携して共同研究を進める機会が多くなっている。

しかしながら、静岡大学では、生命科学分野の教員が学部を越えて交流する機会はこれまでほとんどなく、学部内、あるいは個々の教員がそれぞれの分野の中だけで研究を続けているのが現状である。そのため、生命科学の各教員が互いの研究内容を理解し、学部・学科さらには専門分野をも超えて研究を進める必要性が求められている。

そこで、農学部と理学部の生命科学系若手教員有志が、生命科学の分野で、学部・学科・専門分野横断型の研究活動を推進していく拠点として、静岡大学生命科学若手フォーラムを設立した。

## 2、具体的な活動内容

本フォーラムの活動は以下の3項目を中心として進めていく。

- (1) 生命科学系の教員がそれぞれの研究内容について情報交換して、各自の研究をより活性化するとともに、学部・学科・専門分野を超えた共同研究を活発に推進する。
- (2) 静岡大学ライフサイエンスシンポジウムを主催して、生命科学系教員の研究内容を学内外にアピールする。
- (3) 個々の教員レベルでの共同研究の推進だけでなく、産学官連携を含めた大型プロジェクトやCOEの獲得も可能な生命科学分野全体の研究テーマを企画・立案を目指す。

## 3、メンバーおよび組織構成

- (1) メンバー：生命科学系の助教授、講師、助手を中心とした若手教員（学内外問わず）。現在、他大学の教員も含めて19名が参加している。
- (2) 代表：茶山和敏（農学部）、天野豊己（理学部）
- (3) 会計担当：村田健臣（農学部）
- (4) 広報担当（マスコミ対応も含む）：上野勝（理学部）、丑丸敬史（理学部）
- (5) ホームページ担当：道羅英夫（遺伝子実験施設）
- (6) 相談窓口担当：天野豊己（理学部）

## 4、連絡先

- (1) 茶山和敏（TEL & FAX：054-238-4865、内線7403）  
acksaya@agr.shizuoka.ac.jp
- (2) 本フォーラム専用メールアドレス（学内外）  
SBYF-office@umin.ac.jp
- (3) 本フォーラムのホームページ  
<http://plaza.umin.ac.jp/~sizuwaka/>

# 静岡大学ライフサイエンスシンポジウム 開催計画書

## 1、主催

静岡大学生命科学若手フォーラム

## 2、企画経緯および目的

静岡大学には多くの生命科学分野の教員がおり、斬新かつ貴重な研究成果を数多く挙げている。しかしながら、静岡大学内で、生命科学分野に関してどのような研究が行われているか、またどのような方法・技術・機器等を駆使して研究が進められているかなどの情報を知る機会はほとんどなく、同じ生命科学分野の研究者同士ですら、お互いの研究内容について知らないことが多い。

そこで、生命科学若手フォーラムは、静岡大学における生命科学研究の情報発信の場として、以下のような目的で本シンポジウムを企画した。

- (1) 学内外の生命科学研究者がお互いの研究内容を知ることによって、生命科学研究に関する情報交換を行って、研究活動を活性化するとともに共同研究を推進する。
- (2) 学外にも聴講を呼びかけることにより、企業や県などの研究機関にも研究内容をアピールし、大型プロジェクト等の産学官交流事業への参加や生命科学分野のCOE取得に向けて邁進する。
- (3) 学内の生命科学研究者が研究内容を発表することにより、自己アピールを行う。
- (4) 本シンポジウムとは別に、静岡大学での生命科学分野の研究に対する理解と興味を深めてもらうことを目的として、文系学生や高校生、一般市民を対象にしたシンポジウムの企画も検討する。

## 3、講演内容

各回ごとにテーマを決めて、そのテーマに関係する学内外の研究者が講演を行う。発表後に懇親会を行って、研究者同士の親交を深めて、共同研究の発展につなげていく。

## 4、シンポジウムの予定

本シンポジウムは年に4回、4月、7月、10月、1月に行う。

今年度は10月と1月に開催する。

第1回および第2回については具体案が完成しており、その後の内容についてもすでに構想が立ち上がっている。

## 6、問合せ先

本シンポジウムに関する学内での事務的な連絡は主催する生命科学若手フォーラムの代表の農学部・茶山を窓口とする。

TEL&FAX : 054-238-4865 (内線 7403) [acksaya@agr.shizuoka.ac.jp](mailto:acksaya@agr.shizuoka.ac.jp)

# 染色体末端テロメアと老化、がんとの関係について

静岡大学理学部化学科 上野 勝

染色体末端（テロメア）は、染色体を安定に維持し、老化やガン化を防止する上で重要な役割を担っている。また、テロメア末端と DNA 切断末端を適切に識別、処理することは、ゲノム全体の安定化において重要である。最近 DNA 切断末端とテロメア末端の両方で働く蛋白質が複数発見されているが、それらの蛋白質の機能は、あまり明らかにされていない。そこで、本発表は真核生物の優れたモデルである分裂酵母を用いて、DNA 切断末端とテロメア末端の両方で働く蛋白質のそれぞれの末端での役割について調べた結果を報告する。

当研究室では、分裂酵母 taz1 遺伝子を破壊するとテロメア末端の 1 本鎖が突出することを発見している。そこで Rad50 複合体がテロメア末端の一本鎖突出に関係するかどうかを調べる為に taz1 と rad50 の 2 重破壊株のテロメア末端の 1 本鎖を解析したところ、1 本鎖が検出できなかった。しかし Rad32(Mre11)のヌクレアーゼ欠損株と taz1 の 2 重変異株はテロメア 1 本鎖が検出できた。これらのことから、Rad50 複合体はテロメア末端の C 鎖の分解に必要なが、実際に C 鎖の分解をおこなうのは、Rad32 ではなく、未知のヌクレアーゼであることがわかった。

そこで Rad50 複合体と共同で taz1 破壊株のテロメア 1 本鎖突出に関係する未知ヌクレアーゼの同定するために、taz1 と dna2 の 2 重変異株のテロメア 1 本鎖突出を調べたところ、制限温度でテロメア 1 本鎖突出が消失した。このことから Dna2 は taz1 破壊株のテロメア 1 本鎖突出に必要なことがわかった。しかし Dna2 は DNA 切断末端では機能しないことがわかった。

RPA は DNA の複製、修復、組み換えに関与する一本鎖 DNA 結合タンパク質である。最近申請者らは、RPA がテロメアで機能することを報告した。しかし RPA のテロメアにおける詳細な役割については、まだ明らかにされていない。そこで、RPA がテロメア末端の 1 本鎖突出に関係しているかどうかを調べるために、RPA と taz1 の二重変異株を作成した。すると驚いたことに RPA と taz1 の二重変異株は、テロメア配列を維持できなくなり、染色体が環状化した。現在はその機構を解析中であり、その結果も含めて発表する予定である。

本研究で解析した蛋白質はヒトにも存在し、その機能はヒトでもある程度保存されていると考えられる。したがってこれらの研究成果は、基礎生物学の発展に大きく貢献するだけでなく、ヒトの染色体維持機構の解明や、それに基づく新しいガンの治療法の開発にも貢献することが期待できる。

## 発表者履歴および研究シーズ

ふりがな 氏名(年齢)	うえの まさる 上野 勝 (36歳)	学位	博士(学術)
職名	静岡大学理学部化学科・助手		
電話	054-238-4762	E-mail	scmueno@ipc.shizuoka.ac.jp
所属学会	分子生物学会、生化学会、遺伝学会、アメリカ微生物学会		
履 歴 (大学卒から現在まで)			
1995年3月	京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科機能科学専攻 博士後期課程 修了 同 博士(学術)の学位取得		
1995年4月	米国マサチューセッツ工科大学 ポストドクトラルフェロー (1994年4月から1997年1月まで日本学術振興会特別研究員)		
1997年4月	静岡大学理学部助手(現在に至る)		
主な専門および研究内容			
専門分野：分子生物学、生化学、遺伝学的手法を用いた染色体維持機構の研究			
研究内容			
1、テロメア維持機構の研究。			
2、DNA修復機構の研究。			
3、染色体維持に影響を及ぼす食品成分の研究			
研究シーズ(専門的な研究手法、所持あるいは使用可能な専門機器も含む)			
専門的な研究手法			
1、DNAダメージ感受性アッセイ(ガンマー線、UV、HU、MMSなど)			
2、テロメアの長さの測定			
3、テロメアサイレンシングの測定			
4、ゲルシフトアッセイ(タンパク質の塩基配列特異的DNA結合アッセイ in vitro)			
5、ChIPアッセイ(タンパク質の塩基配列特異的DNA結合アッセイ in vivo)			
所持あるいは使用可能な専門機器			
1、四分子解析装置(酵母の胞子を分離する装置)			
2、パルスフィールド電気泳動装置			
3、RIイメージャー			
参考文献			
1. Kazunori Tomita, and Masaru Ueno* et. al. Mol. Cell. Biol., 2004. in press.			
2. Masaru Ueno*, et. al. Nucleic Acids Res. 2004, 32, 736-741.			
3. Yuuki Ono, and Masaru Ueno* et. al. Nucleic Acids Res. 2003, 31, 7141-7149.			
4. Tatsuya Kibe, and Masaru Ueno* et. al.. Nucleic Acids Res. 2003. 31, 5054-5063.			
5. Masaru Ueno*, et. al. Mol. Cell. Biol., 2003. 23, 6553-6563.			
6. Kazunori Tomita, and Masaru Ueno* et. al.. Mol. Cell. Biol., 2003. 23, 5186-5197.			



# ゾウリムシの老化と若返り

静岡大学遺伝子実験施設 道羅英夫

単細胞生物であるゾウリムシは分裂によって無限に増殖すると考えられていたが、1954年にゾウリムシにも寿命があることが明らかになった。ゾウリムシは接合と呼ばれる有性生殖の後、二分裂による無性的な増殖を行い、未熟期、成熟期、老衰期を経て寿命が来ると死に至る。このゾウリムシの一生の長さを決定している要因は物理的な時間ではなく、分裂回数である。例えば、いわゆる普通のゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は 500? 700 回分裂、ヒメゾウリムシ複合種 (*P. aurelia complex*) は 200? 350 回分裂で寿命となる。

また、ゾウリムシの分裂回数は寿命を決定しているだけではない。接合後のゾウリムシには性的な活性がなく接合することができないので、未熟期と呼ばれている。この未熟期の長さも分裂回数によって決定されていて、50 回分裂すると成熟期に入って接合活性を示すようになることが明らかになっている。さらに、未熟期のゾウリムシの細胞質にはイマチユリンという若返り物質が存在し、これを成熟期のゾウリムシにインジェクションすると接合活性を示さなくなる若返り効果が見られることも明らかにされた。

このようにゾウリムシの寿命や未熟期の長さが分裂回数によって決定されているということは、水温や餌となるバクテリアの量などの環境要因によって、物理的時間から見た寿命や未熟期の長さは変化するということになる。また、環境要因だけでなく、ゾウリムシの分裂速度に影響を及ぼす要因として、細胞内共生細菌が挙げられる。それこそが私の研究材料である。

ゾウリムシの細胞内共生細菌の中で最も研究が進んでいるのがホロスポラ属の核内共生細菌であり、リケッチアに近縁であることが明らかになっている。ゾウリムシ (*P. caudatum*) の大核内に共生する *Holospora obtusa* はその生活環において、宿主の栄養状態に応じて増殖型と感染型と呼ばれる2種類の形態を示す。増殖型は宿主が増殖している間は宿主大核内で2分裂によって増殖するが、宿主が飢餓状態になると増殖型は分裂を停止し、伸長して感染型へと分化する。感染型は宿主細胞外へ出た後、他のゾウリムシに取り込まれ、再び大核内に感染して多分裂によって増殖型へと分化する。感染型は宿主細胞外へ脱出するために大核核膜の物質透過性を低下させて積極的に宿主を殺害しており *H. obtusa* は寄生的なイメージを持たれていた。ところが最近になって、*H. obtusa* をもつゾウリムシは低温に対する耐性を獲得していることが明らかになり、*H. obtusa* は宿主に有害な影響を及ぼす反面、条件によっては利益を与えていることが判明した。また、*H. obtusa* をもつゾウリムシは分裂速度が低下することが知られている。ここでゾウリムシの寿命との関連性について考えてみたい。分裂速度が低下するということは、物理的な時間における寿命は長くなることになり、より良い環境を見つけ出したり、接合できる相手を探し出したりすることができる可能性は高くなる。非常に人間的な見方かもしれないが、細胞内共生微生物を獲得することによって寿命が長くなるというのは利益と考えるのもいいのではないだろうか。

## 発表者履歴および研究シーズ

ふりがな 氏名 (年齢)	どうら ひでお 道羅 英夫 (35 歳)	学位	博士 (理学)
職名	静岡大学遺伝子実験施設 助手		
電話/FAX	054-238-6354	E-mail	gihdour@ipc.shizuoka.ac.jp
所属学会	日本動物学会、日本原生動物学会		
履歴 (大学卒から現在までの履歴)			
1992 年 4 月 山口大学理学研究科生物学専攻修士課程入学 1994 年 4 月 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻博士後期課程入学 1997 年 4 月 日本学術振興会特別研究員 (PD) 山口大学大学院理学研究科 1998 年 11 月 静岡大学遺伝子実験施設 助手に採用 (現在に至る)			
主な専門および研究内容			
<p>専門分野 : 共生の分子細胞生物学</p> <p>研究内容 : 細胞内共生は今なお多種多様に起こっている現象であり、最もダイナミックな細胞の進化となり得る可能性を秘めている。そこで、ゾウリムシと核内共生細菌ホロスポラの共生系の成立機構を分子細胞生物学的な手法を用いて解析している。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 核内共生細菌ホロスポラの感染機構の解明 感染型ホロスポラに特異的に存在する 2 種類のタンパク質が感染部位に局在していることが明らかになり、感染に関与していることが強く示唆された。</li> <li>2. 核内共生細菌ホロスポラの分裂調節機構 ホロスポラの分裂タンパク質 FtsZ の遺伝子をクローニングし、組換えタンパク質に対するモノクローナル抗体を作製し、ホロスポラの分裂機構を調べた。</li> <li>3. ゾウリムシ核内に共生するリケッチアの発見 ゾウリムシの大核内に共生する新種の細菌を発見し、分子系統解析によってその共生細菌がゾウリムシの共生細菌では初めてとなるリケッチアであることを明らかにした。</li> </ol> <p>キーワード: 細胞内共生、ゾウリムシ、ホロスポラ、宿主、共生微生物、感染、ストレス応答、熱ショックタンパク質、GroEL、分裂タンパク質、FtsZ、リケッチア、核膜識別機構、低温耐性</p>			
研究シーズ (専門的な研究手法、所持あるいは使用可能な専門機器も含む)			
<p>専門的な研究手法</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・遺伝子のクローニング及び塩基配列の決定、組換えタンパク質発現系の構築</li> <li>・2次元電気泳動およびプロテオーム解析によるタンパク質の網羅的解析</li> <li>・TOF-MS を用いたペプチドマスフィンガープリンクによるタンパク質の同定</li> <li>・タンパク質の N 末端及びペプチドフラグメントのアミノ酸配列の決定</li> <li>・モノクローナル抗体の作製及び抗体を用いた実験手法</li> <li>・単細胞生物のホールマウント In situ ハイブリダイゼーション</li> <li>・遺伝子の塩基配列やタンパク質のアミノ酸配列に基づいた分子系統解析</li> </ul> <p>所持している実験機器</p> <p>DNA 自動分離装置、DNA シーケンサー、サーマルサイクラー、定量 PCR 解析装置、DNA マイクロアレイ、パーティクルガン、エレクトロポレーション、パルスフィールド電気泳動装置、ケミルミネセンス画像解析装置、蛍光イメージアナライザー、ルミノメーター、蛍光顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡、細胞内イオン測定装置、蛍光分光光度計、発光測定システム、HPLC、FPLC、プロテインシーケンサー、生体分子相互作用解析システム、セルソーター、セルアナライザー、2次元電気泳動解析ソフトウェア、TOF-MS</p>			

# 植物の老化と死

静岡大学理学部 天野豊己

## 植物の老化と死は目的がはっきりしている

生物を含めた全ての物質にとって、老化と死は切実な問題である。生物を含めた全ての物質はこれを避けることが出来ない。生物は様々な修復機構でその進行を遅らせているが、来るべき運命から逃れることは出来ない。

動物の平均寿命で最も長いものはゾウガメの200年と言われている。そして、シロナガスクジラの100年、ゾウの70年が続く。植物で最も長寿なものは、アメリカのカリフォルニア州にあるイガゴヨウマツで4600年以上、日本の縄文杉は3000年程度といわれている。

植物が動物より長寿でいる理由の一つに細胞壁の存在が挙げられる。細胞壁は、植物細胞の生存に必須な成分で満たされたゲルであり、ストレスから細胞を守る防護壁でもある。また挿し木などに見られるように、あらゆる器官を再生させる全能性も植物の長寿を支える要因の一つである。

このように植物には長寿でいるための仕組みが発達している。しかし、植物細胞にも死が必要な時がある。

## 植物には2種類の死がある

植物細胞の死には、数時間で完了する早い死と、数週間かけて進行するゆっくりとした死がある。

前者は、病原菌が感染した場合などに見られる死で、過敏反応による死、過敏細胞死と呼ばれている。これは植物における免疫の一つとされている。病原菌やウイルスの感染を受けた細胞がすばやく死ぬことで、植物本体への進入を防止するための応答である。近隣の細胞からは、活性酸素や抗菌物質が供給され、最小限の犠牲で感染を阻止している。

これに対してゆっくりとした細胞死は、有用成分の回収が目的である。回収された成分は、新芽、花、種子などに転流され、植物の拡大生産に供される。回収される成分で最も多量で重要なものは、タンパク質とクロロフィル等の植物色素である。これらは共に窒素化合物で、植物が最も必要とする成分である。ゆっくりとした細胞死は、この窒素化合物を回収するためのプログラムであり、植物の老化、と呼ばれる現象である。

## 過敏細胞死

過敏反応は、病原菌の生産する糖およびタンパク質などによって誘導される。病原菌の生産するこのような物質はエリシターと呼ばれている。私たちが用いているものは、*Phytophthora cryptogea* という疫病菌の生産するペプチド性のエリシターで、クリプトゲインと呼ばれるものである。*Phytophthora* 属菌が感染した植物は、暗褐色となって組織がとろけ、腐敗枯死してしまう。

クリプトゲインは、エリシチンファミリーに属している。エリシチンファミリーには、細胞死活性の弱い -エリシチンと非常に強い -エリシチンがあり、クリプトゲインは -エリシチンに含まれる。これら2つのエリシチンで何故細胞死活性に違いがあるのか、という問題は未決である。私たちはこの問題について、タンパク質工学的に取り組んでいる。

クリプトゲインは、酵母の一種である *Pichia pastoris* による発現系が構築されている。これを用いて、部位特異的突然変異法によって細胞死活性の低下した変異体を作成した。細胞死までの過程は、エリシターの結合後、膜電位の脱分極、活性酸素の放出、細胞死の誘導、という順序でシグナルが伝達されている。これらに加え、クリプトゲインには脂質が結合することが示唆されていたため、脂質結合活性についても解析を行った。

その結果、細胞死活性と強くリンクしていたのは脂質結合活性であった。 -エリシチンと -エリシチンの細胞死誘導活性の違いは、脂質の結合活性によるものであることが示された。

## 植物の老化

ゆっくりと進行する細胞死は、日常的には紅葉現象として目にしている。これはリーフセネセンス、もしくは単にセネセンスと呼ばれている。セネセンスでは、光合成装置の選択的に分解がみられる。光合成装置は、通常は必須のコンポーネントであるが、突然分解の対象となるという点が興味深い。

これらのタンパク質の分解の場はどこであるのか、もしくは、分解を中心的に進めている因子が何であるのか、という問題は未解明である。私たちはこの問題の解明を目標に研究を進めている。皆目分からない現象であるが、一つだけ確実なことは、このプロセスにプロテアーゼが関与していることである。

現在、ターゲットとして考えているプロテアーゼは、葉緑体に存在する FtsH プロテアーゼ及び Clp プロテアーゼ、細胞質に存在するプロテアソーム及びロイシンアミノペプチダーゼ、液胞もしくはリソソームに存在すると考えられている RD21 プロテアーゼおよび SAG12 プロテアーゼ、そして、植物での局在は不明だが、大腸菌で異常タンパク質の分解に重要とされている Lon プロテアーゼである。

これらのプロテアーゼには、ノーザンおよびウエスタンブロット解析、また、ノックアウトおよびトランスジェニック植物の作成、などのような研究成果が報告されている。しかし、その個々の性質についての報告は少ない。私たちは、これらのプロテアーゼの精製系や発現系を構築し、それらの酵素化学的性質をタンパク質工学的に解析している。本講演では、機能的発現が見えてきた FtsH プロテアーゼと精製が進んでいるプロテアソームを中心に発表する。

## 発表者履歴および研究シーズ

ふりがな 氏名 (年齢)	あまの とよき 天野豊己 (37 歳)	学位	博士 (理学)
職名	静岡大学理学部 助手		
電話/FAX	054-238-7069	E-mail	sbtaman@ipc.shizuoka.ac.jp
所属学会	日本植物生理学会、日本植物学会		
履歴 (大学卒から現在までの履歴)			
1990 年 3 月 早稲田大学教育学部理学科生物学専修 卒業 1992 年 3 月 東京工業大学生命理工学研究科博士前期過程 修了 1995 年 3 月 東京工業大学生命理工学研究科博士後期課程 修了 1995 年 4 月 日本学術振興会 特別研究員 1997 年 3 月 日本医科大学 助手 1997 年 9 月 科学技術振興事業団 研究員 1998 年 4 月 静岡大学理学部 助手 (現在に至る)			
主な専門および研究内容			
専門分野：植物の生化学およびタンパク質工学 研究内容：植物の細胞死をプロテアーゼの立場から研究 1. クリプトゲインによる過敏反応開始機構の解明 ペプチド性エリシターのクリプトゲインはエリシチンと呼ばれるファミリーに属する。エリシチンには細胞死活性の異なる2つのクラスが存在するが、その原因が脂質の結合能によることを明らかにした。 2. 植物のATP依存性プロテアーゼの研究 植物のプロテアーゼは、パパインなどようにATPに依存しないプロテアーゼの研究が進んでいる。ATP依存性プロテアーゼである、FtsH, Clp, Lon, プロテアソームの発現系と精製系を構築して、個々のタンパク質化学的性質を明らかにしている。 キーワード：セネセンス、プロテアーゼ、葉緑体、過敏反応、アラビドプシス、タバコBY-2、オオムギ、ホウレンソウ、FtsH プロテアーゼ、プロテアソーム、クリプトゲイン			
研究シーズ (専門的な研究手法、所持あるいは使用可能な専門機器も含む)			
専門的な研究手法 ・ タンパク質の部位特異的突然変異 ・ 酵素の反応速度論的解析 ・ タンパク質とガンドの結合差スペクトルによる結合活性の定量 ・ タンパク質の化学修飾 ・ Rasmu 等を用いたタンパク質の機能解析 所持あるいは使用可能な専門機器 ・ HPLC ・ サーマルサイクラー ・ 蛍光偏光度測定 (BEACONシステム)			

主な研究業績 (天野豊己)

Ogiwara, N., Amano, T., Satoh, M. and Shioi, Y., Leucine aminopeptidase from etiolated barley seedlings: characterization and partial purification of isoforms. *Plant Sci.* (2004) in press

Hirasawa, K-I., Amano, T., and Shioi, Y., Lipid-binding form is a key conformation to induce a programmed cell death initiated in tobacco BY-2 cells by a proteinaceous elicitor of cryptogein. *Physiol. Plant.* (2004). 121, 196–203.

Amano, T., Hirasawa, K., O'Donohue, M.J., Pernollet, J.-C. and Shioi, Y., A versatile assay for the accurate, time-resolved determination of cellular viability. *Anal. Biochem.* (2003). 314, 1-7.

Amano, T., Matsui, T., Muneyuki, E., Noji, H., Hara, K., Yoshida, M., and Hisabori, T.,  $F_1F_3F_3$  complex of  $F_1$ -ATPase from thermophilic *Bacillus PS3* can maintain steady-state ATP hydrolysis activity depending on the number of non-catalytic sites. *Biochem J.* (1999). 1, 135-138.

Amano, T., Hisabori, T., Muneyuki, E., and Yoshida, M., Catalytic activities of  $F_1F_3F_3$  complexes of  $F_1$ -ATPase with 1, 2, or 3 incompetent catalytic sites. *J Biol Chem.* (1996). 271, 18128-18133.

Amano, T., Tozawa, K., Yoshida, M., and Murakami, H., Spatial precision of a catalytic carboxylate of  $F_1$ -ATPase  $\beta$  subunit probed by introducing different carboxylate-containing side chains. *FEBS Lett.* (1994). 348, 93-98.

Amano, T., Yoshida, M., Matsuo, Y., and Nishikawa, K., Structural model of the ATP-binding domain of the  $F_1$ -beta subunit based on analogy to the RecA protein. *FEBS Lett.* (1994). 351, 1-5.

Amano, T., Wakagi, T., and Oshima, T., An ecto-enzyme from *Sulfolobus acidocaldarius* strain 7 which catalyzes hydrolysis of inorganic pyrophosphate, ATP, and ADP: purification and characterization. *J Biochem.* (1993). 114, 329-333.

研究シーズ (専門的な研究手法も含む)(天野豊己)

主な研究手法：部位特異的突然変異導入

(タンパク質の特定部位のアミノ酸を希望のものに置換する技術)

< 応用例 1 >

6量体のタンパク質で3つの活性部位が存在するもの( $F_1$ -ATPase)を用いた実験。この3つの活性部位が全て必要であるのか、1つだけでも活性があるのか、という問題について行った。(J Biol Chem, (1996). 271, 18128-18133.)

変異導入によって活性を完全に抑制した変異体(図1、黒色サブユニット、?i)を作成した。これにグルタミン酸が10個連結したタグを同じ方法で接続した。野生型酵素と混合してサブユニットの交換をすることで、図1の4種類の複合体を形成させた。イオン交換 HPLC でグルタミン酸タグの電荷によってこれら4種類の複合体を分離し、それぞれの活性を測定した(図2)。

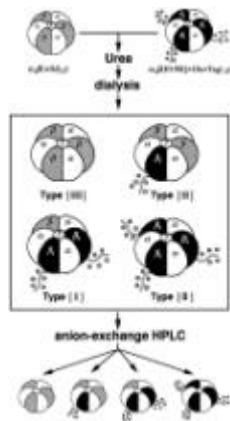


図1 実験系

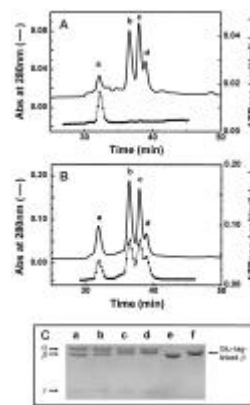
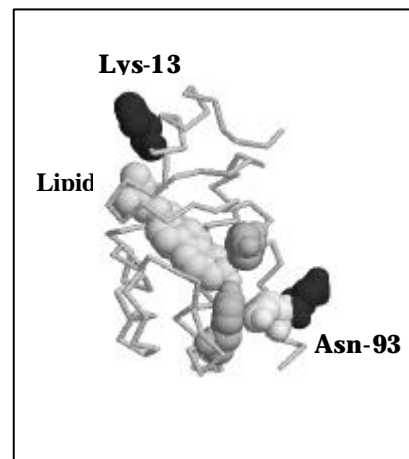


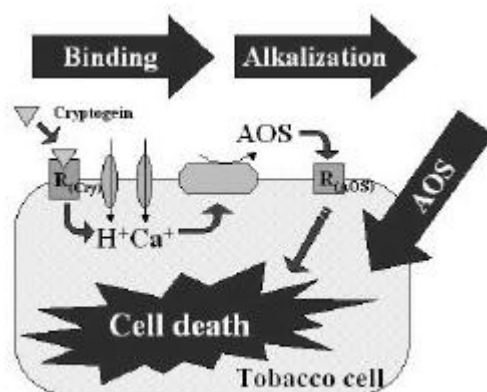
図2 分離パターン

< 応用例 2 >

クリプトゲインのアミノ酸置換を行い、細胞死活性の低下した変異体を作成した。変異導入した部位は、脂質の出入り口に当たる Lys13 と脂質保持に必須の Tyr 残基と立体的に相互作用している Asn93 である。図3は描画ソフトの RasMol によって作成したもの。アミノ酸置換による効果を検討するうえで重宝するソフトウェアである (Physiol. Plant. (2004). 121, 196-203.)

図3 クリプトゲインの立体構造







# ヒトの老化をマウスで探る

静岡県立大学薬学部医薬生命化学教室 海野けい子

生まれた時から時間経過とともに起こる加齢(aging)の中で、老化(senescence)は成熟期以後の加齢を意味し、各臓器の機能あるいはそれらを統合する機能が低下し、個体の恒常性を維持できなくなり死に至る過程をいう。ヒトの限界寿命は約 120 歳と考えられているが、近年、人口の高齢化が世界各国で観察されるようになってきた。「老化を防ぎ健康に加齢すること」は、個人の QOL(quality of life)の問題だけでなく、社会的・経済的にも重要な問題となっている。

老化には遺伝的要因に加え、環境要因など多くの因子が複雑に関与していることから、その解明には様々な角度・切り口から考える必要がある。マウスは線虫やショウジョウバエに比べ寿命が 2? 3 年と長いことが難点ではあるが、遺伝情報が豊富な点は利用しやすい哺乳類のモデル生物である。今回、老化促進モデルマウス (SAM)、ある特定の遺伝子をノックアウトすることにより寿命が短縮あるいは延長したマウスなどについて紹介する。また、実験動物において寿命延長効果が報告されているカロリー制限についても紹介したい。

**老化促進モデルマウス (SAM):** SAM(senescence-accelerated mouse)は 1981 年に京都大学で樹立されたマウスで<sup>1)</sup>、現在、様々な老化兆候を示す系統 (SAMP) が 9 系統、寿命の短縮が見られない系統 (SAMR) 3 系統が存在する。SAMP は正常な成長過程の後、4? 6 月齢から急速に進展する促進老化を共通の特徴とし、それに加え老化アミロイド症、骨粗鬆症、難聴、白内障、免疫能低下、学習・記憶障害など各系統において老化に関連した異なる病態が見られ、各系統がユニークな老化モデル性を有している<sup>2)</sup>。SAM を SPF 条件下で飼育するとコンベンショナル条件下で飼育したものより寿命が延びることから、寿命短縮には一部免疫能の低下が関与していると思われるが、上記の老化症状は同様に発症することから、老化症状に遺伝的背景が関与していることは確かである。老化促進の機構解明のための研究が多方面から精力的に行われているが、まだ十分には解明されていない。

私たちは SAMP の促進老化の一因として酸化ストレスが関与しているのではないかと考え、強力な抗酸化作用を有する緑茶カテキンを用いその抗老化効果を検討した。SAMP10 と呼ばれるクローンは加齢に伴い脳が萎縮し、学習・記憶能の低下が見られるマウスであるが<sup>3)</sup>、このマウスに飲水として緑茶カテキンを摂取させた結果、脳の萎縮や学習・記憶能低下が有意に抑制されることが見いだされ、加齢に伴う脳萎縮の一因として酸化ストレスが関与していることが示唆された<sup>4)</sup>。ヒトの脳では、アルツハイマー病のような病的老化だけでなく生理的な老化においても萎縮が観察されているが、実験動物は寿命が短いのでいくら老化しても脳の萎縮は観察されない。SAMP10 は非常に有用な脳老化のモデルであると考えられる。

**Klotho マウス**：トランスジェニックマウスを作製する中で、変異表現型として寿命短縮を示す系統として確立された<sup>5)</sup>。原因遺伝子である *Klotho* は腎尿細管、脳の脈絡膜、副甲状腺などで強く発現しており、カルシウムホメオスタシスに重要な役割を担っていると考えられている。

**WRN 遺伝子ノックアウトマウス**：ウェルナー症候群は早期老化症状を示すヒトの遺伝病であり、その原因遺伝子はヘリカーゼをコードする *WRN* 遺伝子である。*WRN* 遺伝子のノックアウトマウスは早老症にはならなかったが、p53 あるいはテロメラーゼの RNA 成分(Terc)とのダブルノックアウトマウスで短寿命となった<sup>6)</sup>。ゲノムの不安定化とそのエラーの蓄積が関与していると考えられている。

**p66<sup>shc</sup> ノックアウトマウス**：癌に関連した遺伝子の機能を知る目的で作製されたノックアウトマウスが、野生株より長寿命であることが見いだされた。酸化ストレスの関与が考えられている。

**カロリー制限**：様々な実験動物において、栄養(カロリー)制限を行うことにより寿命延長が認められている。代謝レベルの低下による酸化障害の減少が主因ではないかと考えられてきたが、実際のメカニズムは単純ではない。インスリン/IGF-I シグナル伝達系の関与も見いだされている。

- 1) Takeda T. et al: Mech. Ageing Dev., 17, 183-194 (1981).
- 2) Takeda T. et al: J. Amer. Geriatr. Soc., 39, 911-919 (1991).
- 3) Shimada A. et al: J. Neuropathol. Exp. Neurol., 51, 440-450 (1992).
- 4) Unno K. et al: Exp. Gerontol., 39, 1027-1034 (2004).
- 5) Kuro-o M. et al: Nature, 390, 45-51 (1997).
- 6) Chang, S. et al: Nature Genet., 36, 877-882 (2004).

## 発表者履歴および研究シーズ

ふりがな 氏名	うんのけいこ 海野けい子	学位	薬学博士
職名	静岡県立大学薬学部 医薬生命化学教室		
電話/FAX	054-264-5700	E-mail	unno@u-shizuoka-ken.ac.jp
所属学会	日本薬学会、日本生化学会、日本放射線影響学会、日本基礎老化学会、 日本分子生物学会、老化促進モデルマウス(SAM)研究協議会、 Cell Stress Society International、臨床ストレス研究会、		
履歴 (大学卒から現在までの履歴)			
1972年4月 静岡薬科大学薬学部薬学科 入学 1976年3月 静岡薬科大学薬学部薬学科 卒業 1976年4月 静岡薬科大学 放射薬品学教室 助手 1987年4月 静岡県立大学薬学部 放射薬品学教室 助手 1996年6月? 9月 米国シカゴ大学ハワードヒューズ医学研究所 研究員 2000年4月 静岡県立大学薬学部 医薬生命化学教室 助手 (研究室名変更)			
主な専門および研究内容			
<p>現在主に行っている研究：</p> <p>老化促進モデルマウス (SAMP10) を用いた老化、特に脳の老化に関する研究</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ 酸化ストレスの関与に着目した、抗酸化物質の抗老化作用</li> <li>☞ 社会的ストレス負荷による老化への影響</li> <li>☞ カロリー制限あるいは負荷による老化への影響</li> </ul> <p>キーワード：老化、脳萎縮、学習・記憶能、酸化ストレス、 分子シャペロン (ストレス蛋白質)、Hsp</p>			
研究シーズ (専門的な研究手法、所持あるいは使用可能な専門機器も含む)			
<p>SAMP10 は 8? 12 月齢から明らかな老化兆候が観察されることから、通常の老化マウス (24 月齢程度) に比べ老化に要する時間が短縮できること、また脳の萎縮という特殊な老化兆候を示すマウスです。若齢のマウスは簡単に入手できますが、老齢マウスは市販されていません。老化、脳の老化に興味のある方はご連絡下さい。</p>			

主な研究業績 (海野けい子)

Keiko Unno, Fumiyo Takabayashi, Takahiro Kishido, and Naoto Oku: Suppressive effect of green tea catechins on morphologic and functional regression of the brain in aged mice with accelerated senescence (SAMP10).

*Exp. Gerontol.*, **39**, 1027-1034 (2004).

Keiko Unno, Fumiyo Takabayashi, and Naoto Oku: Improvement in brain function and oxidative damage of aged senescence-accelerated mice by green tea catechins.

*Int. Cong. Ser.*, **1260**, 409-412 (2004).

Keiko Unno, Takahiro Kishido, Mizue Morioka, Shoji Okada, and Naoto Oku: Increased expression of Hsp70 for resistance to deuterium oxide in a yeast mutant cell line.

*Biol. Pharm. Bull.*, **26**, 799-802 (2003).

Keiko Unno, Hiromi Asakura, Yuka Shibuya, Masako Kaihou, Hideto Fukatsu, Shoji Okada, and Naoto Oku: Stress response caused by chronic alcohol intake in aged rat brain.

*Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **26**, 1017-1023(2002).

Keiko Unno, Hiromi Asakura, Yuka Shibuya, Masako Kaiho, Shoji Okada, and Naoto Oku: Increase in basal level of Hsp70, consisting chiefly of constitutively expressed Hsp70 (Hsc70) in aged rat brain.

*J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, **55**, B329-335 (2000).

## 第1回シンポジウム準備委員会

代表（茶山） - 全体のまとめ役

- ・全体の統括
- ・学内外の交渉

副代表（天野） - 事務はおまかせ

- ・資料の管理
- ・名簿の管理

進行（上野） - 当日はこの人の指示で動く

- ・シンポジウム進行を指揮
- ・会場及び設備の確保

会計（村田） - 若手フォーラムの金庫番

- ・会計帳簿の作成
- ・資金の管理
- ・会計報告書の作成

広報（丑丸、上野） - 若手フォーラムの顔

- ・ポスター作成
- ・マスコミ対応
- ・外部との連絡係

編集（天野、小池） - 原稿を下さい

- ・要旨集原稿の収集と編集
- ・アンケートの集計

情報（道羅、竹内） - 実は最も見られている

- ・ホームページの維持管理
- ・メーリングリストの管理

懇親会（小池） - 当日の印象はここ次第

- ・懇親会の準備
- ・当日の指揮

## 編集後記

なんとか無事にシンポジウムの日を迎えることが出来ました。慣れない仕事をほとんど初対面の人たちが集まって始めたため、はじめは本当にシンポジウムが開けるのかと心配でした。

メンバーの持つ技術や実験系を自由に流通させ、個人では達成できないような大きな研究成果に結びつけるのが若手フォーラムの目標です。思いを同じにする方、下記のアドレスまでメールを下さい。  
(天野豊己)

メールアドレス： SBYF-office@umin.ac.jp

ホームページ： <http://plaza.umin.ac.jp/~sizuwaka/>

## 静岡大学若手フォーラム会員名簿

### 農学部

応用生物化学科：村田健臣、徳山真治、森田達也、茶山和敏

森林資源科学科：平井浩文、河合真吾

生物生産科学科：本橋令子、切岩祥和

人間環境科学科：鮫島玲子

### 理学部

生物地球環境科学科：竹内浩昭、丑丸敬史、鈴木雅一、徳元俊伸、木部剛、  
天野豊己、小池亨

化学科：上野勝

### 遺伝子施設

道羅英夫

### 他大学

静岡県立大学薬学部 海野けい子

浜松医科大学医学部 針山孝彦

(9月15日現在)