

# 平成17年度 一般財源研究費傾斜的研究費(全学分)研究報告書

研究テーマ [①大都市の課題解決につながる研究]

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                               |     |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----|--|
| 研究課題名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | ポストゲノム解析技術を応用した加齢・老化のメカニズムの研究 |     |  |
| 研究者または研究代表者名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 所属部局名                         | 職名  |  |
| 伊藤 隆                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 都市教養学部理工学系化学コース               | 教授  |  |
| 研究分担者名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 部局名・所属研究機関名                   | 職名  |  |
| 市村 徹                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 都市教養学部理工学系化学コース               | 准教授 |  |
| 相垣 敏郎                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 都市教養学部理工学系生命科学コース             | 教授  |  |
| 研究実績の概要                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                               |     |  |
| <p>本研究では、東京都の抱える高齢化問題に対応する研究の一環として、加齢・老化の原因の一つと考えられている「ミトコンドリア機能維持メカニズムの不全」という現象に注目し、構造生物学的アプローチ、プロテオミクス、プロテオームの手法を駆使して研究を行った。具体的には、ミトコンドリアDNAの維持に関与しているMhr1蛋白質、ミトコンドリア内の鉄の恒常性維持に関与するABCB6蛋白質、ミトコンドリアの電子伝達系で働く重要な酵素であるコハク酸脱水素酵素(SDH)に注目して研究を進めた。</p> <p>酵母Mhr1については蛋白質の調製を行い、DNA分子との相互作用を生化学的、構造生物学的手法を用いて解析することに成功した。Mhr1結合状態の単鎖DNAは、他のDNA相同組換え蛋白質に結合した際の単鎖DNAと同様に、特異なコンフォメーションをもつことが明らかになった。また、エピトープタグ法を用いた機能プロテオミクス解析のためのMhr1の発現系の構築を行なった。</p> <p>ABCB6のATPaseドメインについてはNMR解析を行なった。その結果、蛋白質主鎖NMRシグナルの帰属を基に、アデニンヌクレオチドとの相互作用の解析と高次構造モデリングを行なうことによって、当該ドメインの機能制御メカニズムについて重要な知見を得ることができた。</p> <p>コハク酸脱水素酵素(SDH)については、ショウジョウバエ変異体ライブラリースクリーニングにより、端寿命変異体を複数作製することに成功した。野生型SDHおよび点突然変異を導入した変異型SDHを過剰発現するショウジョウバエを作製することに成功し、それらのタンパク質の発現を確認した。</p> |                               |     |  |

| 研究発表 [雑誌論文発表、図書、学会発表等]                                                                                        |                                                                                                                                                                   |                                                      |                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------|
| 著者 (講演者)                                                                                                      | 論文題目 (発表題目)                                                                                                                                                       | 発表誌 (発表大会名)                                          | 年月               |
| Honda, M., Inoue, J., Yoshimasu, M., Ito, Y., Shibata, T. and Mikawa, T.                                      | Identification of the RecR toprim domain as the binding site for both RecF and RecO: A role of RecR in RecFOR assembly at dsDNA-ssDNA junctions.                  | Journal of Biological Chemistry                      | 2006, May 4      |
| Kurashima-Ito, K., Ikeya, T., Senbongi, H., Tochio, H., Mikawa, T., Shibata, T. and Ito, Y.                   | Heteronuclear multidimensional NMR and homology modelling studies of the C-terminal nucleotide-binding domain of the human mitochondrial ABC transporter ABCB6    | Journal of Biomolecular NMR                          | 2006, in press   |
| Isogai, Y., Ito, Y., Ikeya, T., Shiro, Y. and Ota, M.                                                         | Design of $\lambda$ Cro fold: solution structure of a monomeric variant of the de novo protein                                                                    | Journal of Molecular Biology, <b>354</b> , 801-814   | 2005, Dec 9      |
| Kurashima-Ito, K., Kasai, Y., Hosono, K., Tamura, K., Oue, S., Isogai, M., Ito, Y., Nakamura, H and Shiro, Y. | Solution structure of the C-terminal transcriptional activator domain of FixJ from <i>Sinorhizobium meliloti</i> and its recognition of the <i>fixK</i> promoter. | <i>Biochemistry</i> <b>44</b> , 14835-14844          | 2005, Nov 15     |
| 伊藤 隆                                                                                                          | 溶液NMRによる生体超分子系解析                                                                                                                                                  | 蛋白質・核酸・酵素 <b>50</b> , 1367-1374                      | 2005             |
| 伊藤 隆                                                                                                          | 溶液NMRを用いた高分子量蛋白質の解析法の動向                                                                                                                                           | NMR 2005                                             | H17年11月 26 日     |
| 伊藤 隆                                                                                                          | NMR studies of membrane associating proteins involved in metal homeostasis                                                                                        | Pacificchem 2005, Honolulu, Hawaii, USA              | H17年12月 15 日～17日 |
| 酒井智美、朽尾豪人、杉原文徳、古久保哲朗、伊藤 隆、廣明秀一、白川昌宏                                                                           | A novel strategy for protein structural study under intracellular environment by using <i>Xenopus</i> Oocyte.                                                     | The 1st Asia-Pacific NMR Symposium／第44回NMR討論会        | H17年11月 8 日～11日  |
| 伊藤かおり、池谷鉄平、千本木 裕、美川務、柴田武彦、伊藤隆                                                                                 | Characterisation of the nucleotide-binding domain of the human mitochondrial ABC transporter ABCB6 by hetronuclear multidimensional NMR and homology modeling.    | The 1st Asia-Pacific NMR Symposium／第44回NMR討論会        | H17年11月 8 日～11日  |
| 酒井智美、朽尾豪人、杉原文徳、古久保哲朗、伊藤 隆、廣明秀一、白川昌宏                                                                           | NMRによる細胞内タンパク質の直接測定                                                                                                                                               | 第28回日本分子生物学会年会                                       | H17年12月 7 日～11日  |
| 吉益雅俊、美川 務、林 宣宏、柴田武彦、伊藤 隆                                                                                      | In-Cell NMR studies of calmodulin protein expressed in <i>E. coli</i>                                                                                             | EUROMAR 2005 / EENC 2005, Veldhoven, The Netherland. | H17年7月 3 日～8日    |
| 伊藤かおり、池谷鉄平、千本木裕、美川務、柴田武彦、伊藤隆                                                                                  | Characterisation of the Nucleotide-Binding Domain of the Human Mitochondrial ABC Transporter ABCB6 by Hetronuclear Multidimensional NMR                           | EUROMAR 2005 / EENC 2005, Veldhoven, The Netherland. | H17年7月 3 日～8日    |
| 重光佳基、安西高廣、Markus Wälcchi、伊藤 隆                                                                                 | Rapid acquisition of high resolution triple-resonance spectra using nonlinear sampling and maximum entropy reconstruction                                         | The 1st Asia-Pacific NMR Symposium／第44回NMR討論会        | H17年11月 8 日～11日  |

|                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                  |                                                         |                   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-------------------|
| 諸見里香矢乃、伊藤<br>かおり、西村 薫、<br>Jeremy Tame、伊藤<br>隆                                                                                                                                                  | NMR studies on the 57kDa<br>Escherichia coli periplasmic<br>oligopeptide binding protein OppA                                    | The 1st Asia-Pacific NMR<br>Symposium／第44回NMR討<br>論会    | H17年11月8<br>日～11日 |
| 吉益雅俊、美川 務、<br>林 宣宏、柴田武彦、<br>伊藤 隆                                                                                                                                                               | In-Cell NMR法を用いた細胞内にお<br>ける蛋白質動態の直接観測                                                                                            | 第28回日本分子生物学会年<br>会                                      | H17年12月7<br>日～11日 |
| 佐々木敦子、吉益雅<br>俊、林 宣宏、伊藤<br>隆                                                                                                                                                                    | In-Cell NMR法による生体内におけ<br>る蛋白質のNOE観測                                                                                              | 第28回日本分子生物学会年<br>会                                      | H17年12月7<br>日～11日 |
| Tanaka, Y., Kanai, F.,<br>Ichimura, T., Tateishi,<br>K., Asaoka, Y.,<br>Guleng, B., Jazag, A.,<br>Ohta, M., Imamura,<br>J., Ikenoue, T., Ijichi,<br>H., Kawabe, T., Isobe,<br>T. and Omata, M. | The hepatitis B virus X protein<br>enhances AP-1 activation through<br>interaction with Jab1.                                    | Oncogene, <b>25</b> , 633-642                           | 2006 Jan 26       |
| Shinkawa, T., Taoka,<br>M., Yamauchi, Y.,<br>Ichimura, T., Kaji, H.,<br>Takahashi, N. and<br>Isobe, T.                                                                                         | STEM: a software tool for large-<br>scale proteomic data analyses.                                                               | J Proteome Res., <b>4</b> , 1826-1831                   | 2005 Sep-Oct      |
| Tsuda, M., Seong K.-<br>H. and Aigaki, T                                                                                                                                                       | POSH, a scaffold protein for JNK<br>signaling, binds to ALG-2 and<br>ALIX in Drosophila                                          | FEBS letters                                            | 2006, in press    |
| Zhang, D., Zhou, W.,<br>Yin, C., Chen, W.,<br>Ozawa, R., Ang, L.H.,<br>Anandan, L., Aigaki,<br>T. and Hing, H.                                                                                 | Misexpression screen for genes<br>altering the olfactory map in<br>Drosophila.                                                   | Genesis <b>44</b> , 189-201                             | 2006 Apr          |
| Hozumi, S., Maeda,<br>R., Taniguchi, K.,<br>Kanai, M., Shirakabe,<br>S., Sasamura, T.,<br>Speder, P., Noselli,<br>S., Aigaki, T.,<br>Murakami, R. and<br>Matsuno, K.                           | An unconventional myosin in<br>Drosophila reverses the default<br>handedness in visceral organs.                                 | Nature <b>440</b> , 798-802                             | 2006 Apr 6        |
| Horiuchi, T. and<br>Aigaki, T.                                                                                                                                                                 | Alternative trans-splicing: a novel<br>mode of pre-mRNA processing.                                                              | Biol. Cell, <b>98</b> , 135-140                         | 2006 Feb          |
| Katsuyama, T.,<br>Sugawara, T.,<br>Tatsumi, M., Oshima,<br>Y., Gehring, W.,<br>Aigaki, T. and Kurata,<br>S.                                                                                    | Involvement of winged eye<br>encoding a chromatin-associated<br>bromo-adjacent homology domain<br>protein in disc specification. | Proc. Natl. Acad. Sci. USA,<br><b>102</b> , 15918-15923 | 2005 Nov 1        |
| Kanuka, H., Hiratou,<br>T, Igaki, T, Kanda, H,<br>Kuranaga, E,<br>Sawamoto, K, Aigaki,<br>T, Okano, H, and<br>Miura, M.                                                                        | Gain-of-function screen identifies a<br>role of the Sec61alpha translocon<br>in Drosophila postmitotic<br>neurotoxicity.         | Biochim. Biophys. Acta <b>1726</b> ,<br>225-237         | 2005 Nov 30       |
| Tsuda, M., Langmann,<br>C., Harden, N. and<br>Aigaki, T.                                                                                                                                       | The RING finger-scaffold protein<br>POSH targets TAK1 to control<br>immunity signaling in Drosophila.                            | EMBO reports <b>6</b> , 1082-1087                       | 2005 Nov          |
| Takeo, S., Akiyama,<br>T., Firkus, C., Aigaki,<br>T. and Nakato, H.                                                                                                                            | Expression of a secreted form of<br>Dally, a Drosophila glypican,<br>induces overgrowth phenotype by                             | Dev. Biol. <b>284</b> , 204 –218                        | 2005 Aug 1        |

|                                                            |                                                                                          |                                 |               |
|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|---------------|
| 相垣敏郎                                                       | affecting action range of Hedgehog.<br>ショウジョウバエを用いた抗老化遺伝子の探索                             | 医学のあゆみ (印刷中)                    | 2006          |
| 相垣敏郎、上田 龍                                                  | ショウジョウバエゲノムの体系的機能解析 –発生・分化の遺伝子システム解明に向けて                                                 | 蛋白質・核酸・酵素 <b>50</b> , 2146-2152 | 2005          |
| Aigaki, T.                                                 | Sra regulates female meiosis, ovulation and reproductive behavior in <i>Drosophila</i> . | IUBS/TAIB , France              | 2005, Oct     |
| Aigaki, T.                                                 | Ovulation and egg activation in <i>Drosophila</i>                                        | The 52nd NIBB Conference, Aichi | 2006, Jan     |
| 津田 学、相垣 敏郎                                                 | ショウジョウバエPOSH遺伝子による免疫応答反応の制御                                                              | 第28回日本分子生物学会                    | H17年12月7日～11日 |
| 村松 圭吾、Peyre Jean-Baptiste、川原善浩、松尾 隆嗣、新井 理、小原 雄治、林 茂生、相垣 敏郎 | ショウジョウバエPOSH遺伝子による免疫応答反応の制御                                                              | 第28回日本分子生物学会                    | H17年12月7日～11日 |
| 田中 三保子、外川 徹、松尾 隆嗣、相垣 敏郎                                    | ショウジョウバエを用いた寿命制御遺伝子探索法の検討と新規遺伝子Lily-1の解析                                                 | 第28回日本分子生物学会                    | H17年12月7日～11日 |