

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 23 年 4 月 28 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 京都大学 放射線生物研究センター
 職名 教授
 研究代表者 高田 穣
 勤務先所在地 〒606-8501
 京都市左京区吉田近衛町
 電話番号 075-753-7563
 ファックス番号 075-753-7564
 Eメール mtakata@house.rbc.kyoto-u.ac.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

1. 研究プロジェクト名と共同研究課題名	「代謝シグナル機能研究プロジェクト」 代謝ストレスおよびDNA損傷による細胞老化の分子機構			
2. 共同研究目的	細胞老化におけるストレスシグナル機構を動物モデル細胞とヒト細胞を用いて解析する			
3. 共同研究期間	平成 22 年 4 月 1 日 ~ 平成 23 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	年齢	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者) 高田 穓	53	京都大学・放射線生物研究センター	教授	動物モデル細胞を用いた細胞老化シグナルの解析
(分担研究者) 石合 正道		同上	同上	
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	遺伝子情報	氏名	山下孝之

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

細胞老化は様々なストレスに対する共通の細胞応答であり、加齢や代謝疾患にともなう臓器障害の基礎をなしている。その機構には DNA 損傷や代謝ストレス、炎症反応などが相互作用しつつ関与すると考えられるが、全貌はまだ明らかではない。DT40 細胞株は複数の遺伝子のノックアウトやノックインが容易にでき、動物細胞における複雑な生命現象を遺伝学的に解析する強力なツールとして広く用いられている。申請者らはこれまでに DT40 を駆使して DNA 損傷応答機構を解析し、様々な知見を得てきた。

本共同研究においては、これらのモデル細胞系とヒト細胞系の特長を組み合わせて、細胞老化をもたらす活性化がん遺伝子発現等によるストレスシグナルの本態をさぐることを目的とする。

7. 共同研究の成果

本年度は、がん遺伝子発現による DNA 損傷ストレスを解析するシステムをヒト細胞において構築することを主眼として、山下教授と共同研究をおこなった。

具体的には、ヒト細胞である 293 FlpIn T-rex 細胞(Invitrogen 社から入手)を用いて、各種がん遺伝子(活性化型 K-ras, H-ras、活性化型 EGFR、c-myc、サイクリン E の 5 種類)発現ベクターを染色体特定部位に Flp 組換え酵素によってノックインした。発現は、すべて、ドキシサイクリンの添加によって誘導されるプロモータで誘導されており、さらに発現自体は、下流に接続した IRES-EGFP によって細胞の緑色蛍光によってモニター可能になっている。結果として、これらすべてのがん遺伝子の発現に成功し、ドキシサイクリン添加後に、DNA 損傷応答を誘導可能なシステムを構築した。

山下教授の研究室では、不死化ヒト二倍体細胞などにおいて、レンチウイルス・ベクターを用いた発がん遺伝子の導入や転写因子 HSF1 のノックダウンによって細胞老化を誘導するシステムを構築し、その分子機構を解析している。来年度以降、上記 293 FlpIn T-rex 細胞系や DT40 モデル細胞系の利点を生かして細胞老化誘導機構を解析する準備が完了したと言える。

この共同利用研究の枠組みで、山下教授と高田は、互いにもつながん遺伝子 cDNA などの材料を共有し、さらに我々の構築した細胞を山下研究室で解析するなどの密接な研究協力をすすめている。さらに、高田は 8 月に山下研究室を訪問し、互いの研究成果について情報交換とディスカッション、セミナーを行った。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

本共同研究により得られた成果自体は、まだ発表にいたっていない。