

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 29 年 4 月 17 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 愛媛大学 プロテオサイエンスセンター  
 職 名 講師  
 研究代表者名 高橋 宏隆

下記のとおり平成28年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号: 282004 )

1. 共同利用研究 課題名	コムギ無細胞タンパク質合成系を用いて同定した Caspase-1 の新規基質の細胞老化における役割の解明		
2. 共同利用研究 目的	Caspase-1 の新規基質の探索と、生物学的役割の解明を目指す。		
3. 共同利用研究 期間	平成 28 年 7 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日		
4. 共同利用研究組織			
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担
(研究代表者) 高橋 宏隆	愛媛大学プロテオサイエンス センター	講師	研究立案・実験全般
(分担研究者) 澤崎 達也 野澤 彰 上松 篤史 野村 俊介 増原 有紀 山中 聡士	愛媛大学プロテオサイエンス センター	教授 講師 大学院生 大学院生 大学院生 大学院生	研究立案 研究立案 細胞実験 細胞実験 <i>in vitro</i> 実験および細胞実験 <i>in vitro</i> 実験および細胞実験
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	細胞増殖分化制御研究 分野	氏 名 鎌田 真司

※ 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。

(課題番号: 282004 )

6. 共同利用研究計画

1. T細胞由来の細胞株やマウスT細胞に、Caspase-1による切断部位をアミノ酸置換したCaspase-1耐性の基質や、切断フォームの基質をレトロウイルスベクターを用いて高発現させ、各種サイトカイン産生や細胞の増殖、細胞死にどのように影響するかを調べ、本基質の役割やCaspase-1による切断の生理学的意義について明らかとする。
2. 同定された基質の切断に他のCaspaseファミリーが関わっているかどうかを、鎌田教授が保有する各種Caspaseを用いて生化学的に解析し、細胞内においては各種特異的阻害剤や、Caspase-1ノックアウト細胞を用いて検証し、この基質がCaspase-1に特異的に切断されることを明らかとする。
3. 鎌田教授が保有する各種老化モデル細胞の中で、Caspase-1が活性化され、かつ基質が切断されているものを探索し、細胞の老化と基質の切断の関連について明らかとする。また、モデル細胞に細胞老化を導く刺激を入れた際に、Caspase-1依存的な基質の切断が認められるか否かについて調べる。

7. 共同利用研究の成果

これまでにマウス老化モデルマウスからのT細胞において、新規基質の顕著な切断が確認されている。一方で、このモデルマウスを用いた実験では、切断の詳細なメカニズムを解析する手段が限られているため、細胞株を用いたアッセイ系を確立する必用があった。そこで、レトロウイルスベクターを用いて、Caspase-1を高発現させたマウス細胞株を樹立した。現在、TCR刺激を始め、種々の刺激を加えて、高発現させたCaspase-1を活性化させる条件を検討している。

また、細胞に低濃度のエトポシドを加えることで老化を誘導する実験系を鎌田教授からご指導頂いた。本実験においてもマウスの細胞株にエトポシドを処理することで、細胞内在のCaspase-1の活性化が起こる条件を見出している。一方で細胞内在の新規基質の発現量は通常の細胞株では低いため、切断は認められなかった。現在、Caspase-1が活性化する処理と、この新規基質の発現を誘導する条件を組み合わせることで、新規基質の切断が認められるか検討中である。

このように、本共同研究において、鎌田先生との共同研究によって当該プロジェクトが多いに進展し、今後の更なる発展が期待される。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出して下さい。)

学会発表

「コムギ無細胞系を基盤としたサイトカイン関連プロテインアレイを用いたカスパーゼ1基質の探索と解析」  
増原 有紀, 高橋 宏隆, 桑原 誠, 鈴木 淳平, 山下 政克, 澤崎 達也. 2016年度 日本分子生物学会年会. 2016年11月30日~12月2日. パシフィコ横浜。

9. 共同利用研究に関連した受賞, 博士学位論文の取得, 大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。