

様式3

令和元年度愛媛大学プロテオサイエンスセンター共同研究報告書

2020年1月15日

国立大学法人愛媛大学
プロテオサイエンスセンター長 殿

研究代表者

所属機関 : 東北大学 _____

部局・職名 : 大学院 生命科学研究科 細胞小器官疾患学教室・教授

氏 名 : 田口 友彦 _____

1. 研究課題 自然免疫分子 STING が形成する STING signalosome の in vitro 再構成

2. 研究組織

氏名	所属機関・部局	職名	分担内容
研究代表者 田口 友彦	東北大学大学院 生命科学研究科 細胞小器官疾患 学教室	教授	細胞レベルでの STING signalosome 構 成分子の機能解析
研究分担者 前川 大志	愛媛大学 プロテオサイエンス センター 細胞増殖腫瘍制 御部門	助教	STING signalosome 構成分子間の結合 検出系の構築

3. 研究成果

別紙のとおり

別紙: 研究成果報告

研究課題名: 自然免疫分子 STING が形成する STING signalosome の in vitro 再構成

研究代表者: 田口友彦 (東北大学大学院生命科学研究科・教授)

研究分担者: 前川大志 (愛媛大学プロテオサイエンスセンター・助教)

研究目的:

STING はウイルス感染や核膜損傷などで生じる細胞質に出現する DNA を感知し、インターフェロン応答を惹起する小胞体局在性の膜タンパク質である。細胞レベルでの解析から、STING は TBK1 キナーゼの足場タンパク質として機能し、ついで活性化した TBK1 が転写因子 IRF3 をリン酸化して活性化することが示唆されている (Mukai et al., Nat. Commun. 2016; Hansen et al., PNAS 2018)。しかしながら、STING/TBK1/IRF3 等の STING signalosome の構成分子群の結合が直接的なものかどうかは不明なままである。そこで本研究では、コムギ無細胞タンパク質合成系を利用して、STING signalosome の構成分子群を in vitro で再構成する事を目的とする。

研究内容:

研究代表者が細胞レベルでの解析から見出した STING と機能的関連のある膜輸送制御分子 A と STING に関して、研究分担者 (前川大志) がコムギ無細胞タンパク質合成系を利用して、当該分子群のリコンビナントタンパク質を合成した。これらの合成タンパク質を用いてアルファスクリーンを実施し、STING と膜輸送制御分子 A との結合の検出を試みた。

研究成果:

STING は膜タンパク質であるので、細胞質ドメインを合成し、ビオチンを付加した。更に FLAG タグを付加した膜輸送制御分子 A を合成した。ウェスタンブロットにより合成を確認後、これらの2つのタンパク質の結合の有無をアルファスクリーンにより調べた。その結果、残念ながら、両者の結合は検出する事ができなかった。インキュベーション時間やタグの位置なども検討したが、STING 細胞質ドメインと膜輸送制御分子 A との結合を再構成することはできなかった。

成果発表: 該当無し。

今後の課題:

2019 年度において、STING と膜輸送制御分子 A との直接の結合を検出する事はできなかった。原因として、STING の全長のリコンビナントタンパク質ではなく、細胞質ドメインのみを合成した事が考えられる。来年度以降は、STING をビオチン化リボソーム上で合成し、STING 関連分子との相互作用の検出を計画している。更にリボソームの構成脂質組成が、STING と相互作用分子との結合にどのような影響を与えるかを検証する。また、STING と膜輸送制御分子 A との結合に別の分子 X が介在している可能性も考えられるので、分子 X の探索を細胞レベルで進めていく予定である。