

研究題目 ウイルス感染防御応答におけるシグナル伝達機構の解析

研究組織

研究代表者：後藤 由季子（東京大学大学院薬学系研究科）

共同研究者：小迫 英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：岡崎 朋彦（東京大学大学院薬学系研究科）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

細胞内に侵入したウイルス由来の RNA は、核酸受容体による認識の後、その情報がミトコンドリア上アダプター分子 IPS-1 へと伝えられる。IPS-1 はウイルス感染による I 型 IFN 産生と細胞死の誘導に必須であり、実際 IPS-1 欠損マウスは様々なウイルス感染に対し高い脆弱性を示す。しかしながら、IPS-1 の機能がいかに制御されているかはほとんど明らかでない。

我々は様々なストレス応答を仲介するキナーゼ「X」が、IPS-1 の翻訳後修飾を変化させる可能性を示唆する結果を得た(未発表)。

そこで本共同利用では、「X」によって変化する IPS-1 の翻訳後修飾を網羅的に探索し、IPS-1 の機能制御機構の解明を目指すことを目的とした。

[1-2]研究の方法・経過

HEK293T 細胞にキナーゼ「X」と IPS-1 を過剰発現させ、IPS-1 を回収、精製、酵素処理を行った後に質量分析計によって IPS-1 の翻訳後修飾を網羅的に探索した。そして、同定された IPS-1 のリン酸化候補サイトのうち、「X」の発現によってリン酸化修飾量が増加するものを見出した。

次に、本当にこの IPS-1 のリン酸化が「X」の発現上昇で増加するか調べるために、リン酸化候補サイトをアラニンに置換した IPS-1 変異体 (IPS-1 SA)を作成した。ウェスタンブロットにおいて「X」の共発現が野生型 IPS-1 のリン酸化によるバンドシフトを誘導するのに対し、IPS-1 SA 変異体ではそのようなシフトは全く観察されなかった。従って、質量分析で見つかった IPS-1 のリン酸化候補サイトは実際に「X」の下流でリン酸化されている可能性が強く示唆された。そこで次に、このキナーゼ「X」による IPS-1 のリン酸化の機能を調べるために IPS-1 SA 変異体発現細胞株を樹立しその働きを調べたところ、この SA 変異体は I 型 IFN 産生経路活性化を促進することが分かった。従って、キナーゼ「X」による IPS-1 のリン酸化は IPS-1 による I 型 IFN 産生を抑制している可能性が示唆された。

また興味深いことに、キナーゼ「X」の共発現によって検出頻度が減少する IPS-1 の新規翻訳後修飾が存在することが質量分析により分かった。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

これまでの申請者の研究により、キナーゼ「X」が IPS-1 の翻訳後修飾を変化させる可能性を見

出していたが、その修飾の実体と機能に関しては明らかでなかった。本共同研究により、キナーゼ「X」による IPS-1 のリン酸化修飾を見出し、更にこのリン酸化が IPS-1 の機能抑制に働く可能性を見出した(論文投稿準備中)。

また、キナーゼ「X」が IPS-1 の機能を制御するメカニズムとして、IPS-1 の他の翻訳後修飾を変化させる可能性を見出した。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

これまで IPS-1 を活性化する翻訳後修飾は多く見出されてきたが、その働きを抑制する修飾はほとんど明らかにされていなかった。過剰な I 型 IFN 産生は、造血幹細胞の枯渇や自己免疫疾患発症の引き金となることが知られており、今後は見出した IPS-1 リン酸化とこれら障害・疾患との関係について調べていく予定である。

また本共同研究により、IPS-1 上の珍しい翻訳後修飾を見出すことが出来た。確立したタンパク質サンプル精製法と修飾の検出法を応用することで、他の様々なタンパク質上の翻訳後修飾を同定することが出来る可能性も期待できる。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表
なし

[3-2]学会発表

Tomohiko Okazaki and Yukiko Gotoh. First line defense mechanisms against viral infection. AMED-CREST international symposium, Miyazaki, 2/1, 2020

Tomohiko Okazaki, Moe Inoue, Shinpei Toyoda, and Yukiko Gotoh. A division of labour for the type I Interferon and apoptosis induction after viral

infection. 17th International Congress of Immunology, Beijing, 10/21, 2019

後藤由季子. ウイルス感染細胞における抗ウイルス応答の使い分け戦略. 第 28 回日本 Cell Death 学会学術集会, 東京, 7/12, 2019

[3-3]成果資料等
なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

本共同研究では、質量分析法を用いた IPS-1 の翻訳後修飾の網羅的探索を行い、リン酸化を含む様々な修飾を見出した。しかしながら、それら修飾状態がウイルス感染時や細胞種によってどう変化しているかは明らかでなく、新たな網羅的定量解析が必要である。将来的には、今年度に確立した手法を踏襲すると共に、最新のデータ解析ソフトウェアを用いた定量解析を行うことで、本研究課題が十分に達成されると期待している。