

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）

研究分担者：川口 大地（東京大学大学院薬学系研究科）

研究分担者：方 凌艶（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のアダプター分子 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 をリン酸化することで IPS-1 の機能を変化させる可能性を示唆する結果を得た(未発表)。更に、リン酸化による機能変化のメカニズムとして、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と共に、他の分子に対しても同様の翻訳後修飾の有無を調べることを目的とした。

[1-2]研究の方法・経過

昨年度の共同利用による支援を受け、キナーゼ「X」と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可能性を示唆する結果が得られた。そこで申請者らはそ

の可能性を更に検証するために、新規翻訳後修飾に対する特異的抗体を作製した後、その抗体を用いて HEK293T 細胞に発現させた IPS-1 をウェスタンブロット法にて検出することを試みた。すると、野生型 IPS-1 はこの特異的抗体により認識されるのに対し、修飾サイトをアラニン置換した IPS-1 は認識されることが分かった。更に IPS-1 と共にキナーゼ「X」を発現させると、この特異的抗体との反応性が減弱することも分かった。従って、質量分析により示唆された新規翻訳後修飾が実際に IPS-1 で起こっており、キナーゼ「X」により修飾が抑制される可能性が示唆された。

更に、IPS-1 において新たに見出した新規翻訳後修飾を受けるタンパク質が他にどの程度存在するか調べるために、質量分析法により細胞内タンパク質に対する本修飾の有無を網羅的に探索した。すると、IPS-1 以外にも本修飾を受ける可能性のあるタンパク質候補が多数見つかった。

そこで、新たな修飾タンパク質候補が実際に修飾を受けているか更に調べるために、タグを付加した遺伝子を HEK293T に過剰発現し、精製後に質量分析法により修飾の有無を調べた。その結果、実際に修飾されたタンパク質が再び検出されることが分かった。以上より、IPS-1 において見出した新規翻訳後修飾が他のタンパク質においても存在している可能性が

示唆された。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

これまでの申請者らの研究により、キナーゼ「X」によるリン酸化によって IPS-1 の機能が抑制されることが分かっていたが、いかなる仕組みで抑制されるかは分かっていなかった。本共同利用の支援により、キナーゼ「X」によるリン酸化が IPS-1 の他の新規翻訳後修飾を抑制する可能性を見出した。

更に、この新規翻訳後修飾が IPS-1 のみならず他のタンパク質にも存在する可能性が示された。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本研究では IPS-1 の新規翻訳後修飾の同定をきっかけに、更なる修飾基質の探索・同定に至った。今後は見出した新たな基質群の解析を進めることにより、新規翻訳後修飾が制御する生命現象の全容が明らかになっていくことが期待される。

また、本研究により確立した手法を応用することで、これまで見出されていない新たなタンパク質翻訳後修飾がみつかる可能性も十分期待できる。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

無し

[3-2]学会発表

1. 岡崎朋彦、野崎啓史、後藤由季子。「新規細胞内翻訳後修飾による細胞の抗ストレス応答制御機構の解析」,第6回北大部局横断シンポジウム,2020年10月19日

2. 岡崎朋彦。「ウイルス感染細胞におけるアポ

トーシスとインターフェロン産生の使い分け戦略」,千里ライフサイエンスセミナー,2021年2月3日

3. 野崎啓史、岡崎朋彦、後藤由季子

「中枢神経炎症における抗ウイルス応答使い分け機構の役割の解析」,日本薬学会 第141年会,2021年3月29日

[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

質量分析による翻訳後修飾の探索において、サンプル調整や測定の際に外れてしまう修飾も多数存在する。サンプルの調製・精製法、修飾の検出法や反応条件等を最適化していくことにより、翻訳後修飾を維持した解析方法の確立を目指していきたいと考えている。