

研究題目 転写因子 Batf3 の標的遺伝子群を規定する結合タンパクの同定

研究組織

研究代表者：近藤健太（滋賀医科大学 医学部 分子生理化学）

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：縣保年（滋賀医科大学 医学部 分子生理化学）

寺田晃士（滋賀医科大学 医学部 分子生理化学）

口分田美奈（滋賀医科大学 医学部 分子生理化学）

新田信人（滋賀医科大学 医学部 分子生理化学）

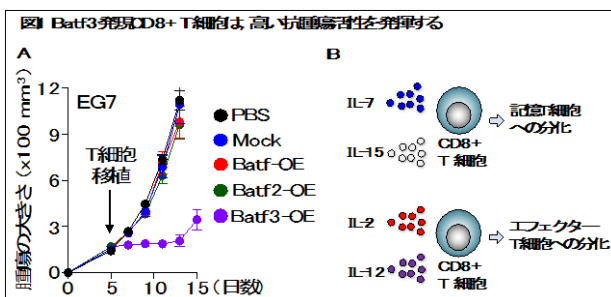
横江真弥（滋賀医科大学 医学部 分子生理化学）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

申請者は、Batfファミリー遺伝子 (Batf, Batf2, Batf3) の機能を比較し、Batf3 の過剰発現が最も CD8⁺ T 細胞の抗腫瘍能を亢進させることを明らかにしてきた (図 1A, 論文リバイス中)。Batf3 過剰発現 CD8⁺ T 細胞は、サイトカインシグナルに応じて記憶 T 細胞もしくはエフェクター T 細胞への分化が亢進していたが、このような表現型を獲得する機序は不明である (図 1B)。

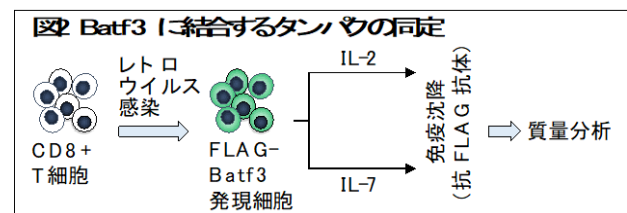
Batf3 は、その他の転写因子と複合体を形成することで転写活性を発揮することが知られている。一般的に、IL-7 や IL-15 は記憶 T 細胞への分化を促す転写因子、IL-2 や IL-12 はエフェクター T 細胞への分化を促す転写因子の発現を促すため、Batf3 は各サイトカインにより発現誘導された転写因子と結合することで、発現制御する標的遺伝子を変化させている可能性が考えられた。そこで本研究では、以下の方法で Batf3 に結合する新規転写因子を同定し、Batf3 と当該転写因子の複合体の役割を明らかにすることを目的とする。



[1-2] 研究の方法・経過

Batf3 に結合する転写因子を同定するため、FLAG タグ単独もしくは FLAG タグを付加した

野生型 Batf3、機能が欠失することを確認している変異 Batf3 を CD8⁺ T 細胞にレトロウイルスを用いて過剰発現させた後、IL-2 もしくは IL-7 存在下で培養して、エフェクターもしくは記憶 T 細胞への分化を誘導した。培養後、抗 FLAG 抗体を用いて免疫沈降を行い、質量分析により免疫沈降物に含まれるタンパク質の同定を行なった (図 2)。



【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

免疫沈降物を質量分析で解析した結果、既存の Batf3 結合タンパク質として知られている Jun ファミリーや IRF4 が検出された。さらに、新規 Batf3 結合タンパク質を多数同定することに成功した。興味深いことに、野生型 Batf3 と比較して、機能が欠失した変異 Batf3 では、いくつかの転写因子との結合能が低下していた。したがって、これら転写因子は、Batf3 が転写活性を発揮するのに重要である可能性が示唆された。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

研究代表者は、細胞やマウスを用いた実験により、Batf3 がサイトカイン条件の違いにより異なる転写因子と複合体を形成している可能性を示唆するデータを得ていたが、プロテオーム

ム解析の経験が乏しく十分な解析が出来ていなかった。本共同研究により、新しい Batf3 結合タンパクを多数同定することに成功し、それらの機能解析を進めることで、Batf3 の転写制御機構を明らかにすることが期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

なし

[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

免疫沈降物の質量分析を行うことで、新規 Batf3 結合転写因子を多数同定したが、それら転写因子との相互作用が Batf3 の機能にどのような影響を及ぼしているのかは不明である。今後、同定した Batf3 結合転写因子をノックアウトもしくは過剰発現させた CD8+ T 細胞を解析することで、Batf3 の機能に及ぼす影響を検討する予定である。

また、研究代表者は、Batf ファミリー遺伝子 (Batf, Batf2, Batf3) は、それぞれ異なる機能をもつことを見出している (論文リバイス中)。Batf ファミリー遺伝子の機能的な違いが、結合する転写因子の違いによるものではないかと考え、解析を進めている。