

令和2年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		自然免疫応答に関わるゴルジ体膜脂質ドメインの動態解析		
新規・継続の別		継続		
研究代表者	所属	東北大学大学院・生命科学研究科	40歳 以下○	35歳 以下○
	職名・氏名	教授・田口 友彦		
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	東北大学大学院・生命科学研究科		
	職名・氏名	大学院生・高谷 英子		○
	所属	東北大学大学院・生命科学研究科		
	職名・氏名	大学院生・高橋 花乃子		○
	所属	東北大学大学院・生命科学研究科		
	職名・氏名	大学院生・見目 悠		○
	所属			
	職名・氏名			
受け入れ教員	職名・氏名	田中 一馬		
概要 (100～150字程度)		本研究は、細胞質 DNA 応答性自然免疫分子 STING の活性化に必要なゴルジ体脂質ドメインの機能の解明を目的とする。本年度は、脂質ドメインの分布や動態と STING の活性化の間にみられる相関の解明を目指し、脂質可視化をメインとした細胞学的解析を中心に進めた。		
研究目的 (300字程度)		申込者の田口は、細胞質 DNA 応答性自然免疫分子 STING の活性化には、STING のパルミトイル脂質修飾およびゴルジ体のスフィンゴミエリンが必要であることを明らかにした (Mukai et al., Nat Commun 2016)。これらの知見から、スフィンゴミエリンが形成するゴルジ体脂質ドメインが、パルミトイル化修飾を受けた STING のクラスター化を促し、STING の活性化を引き起こしているものと考えている。本研究では、スフィンゴミエリンを含有するゴルジ体脂質ドメインを種々の脂質関連プローブにより可視化し、これまでの生化学的アプローチでは問うことができなかった STING の活性化に必要なゴルジ体脂質ドメインの動態および物理的な特性を明らかにすることを目的とする。		
研究内容・成果 (1000字程度・Web 会議の回数も記載)		令和元年度までに進めた膜状態（膜の脂質充填密度）とクラスター化の解析の結果、ゴルジ体膜における脂質充填密度とクラスター化に関連性を示す可能性を見出した。膜の脂質充填密度は脂質ドメイン形成に重要な要素であるが、我々は、現在までの解析からラフトドメインに含まれる脂質との関連性を見出している (Mukai et al., Nat Commun 2016)。このような知見から、令和2年度はラフト脂質		

	の中でもコレステロールと STING の分布に焦点を当て解析を進めた。解析を進める上で、生細胞においてゴルジ体膜などの細胞内小器官上に存在するコレステロールの可視化は、現段階では技術的に困難である事が課題となった。そのため、当該年度は脂質イメージングを専門としている田中研究室岸本助教に参画していただき複数回に渡る議論（電話及び web 会議、合計 10 回）を行い、解決策を模索した。そして、コレステロール可視化プローブ (id4H) の共同開発に成功し、現在はその特徴づけを中心に進めている。これについては、プローブが示す結合試験の生化学的解析（北大グループ）と動物細胞を用いた顕微鏡観察などの細胞学的解析（東北大グループ）の二方面から進行している。今後の解析では、コロナ禍が継続しその対応を余儀なくされることが予測される事から、当研究室顕微鏡装置での細胞内解析にシフトするため、条件の最適化を行っている。現在までに北大グループの生化学的解析結果を、東北大での細胞内実験に反映させ、その結果を相互にフィードバックして議論を展開させている。また、別の共同研究から、超解像度顕微鏡解析により STING のクラスター化とラフトドメイン構造との関連性が窺える結果も得られており、本課題で開発したコレステロールプローブの観察も予定している。このように、脂質可視化技術を有効に使える田中研究室との共同利用から、STING 活性化における脂質の機能の一端が明らかになりつつあり、このようなアプローチを継続していきたい。一方、コレステロールの細胞内解析が進むにつれ、STING クラスター化と脂質量における相関をステロール合成阻害実験や脂質定量など生化学的解析により証明する必要性が生じると予測される。そのため、令和 3 年度も継続して共同利用により円滑に解析を進めるため、実験条件の検討を進めている。
成果	【学会報告】 田口友彦、ゴルジ体膜上の自然免疫活性化反応、大阪大学蛋白質研究所セミナー、オンライン学会、2021 年 3 月 4 日
	【論文発表】
	【新聞報道】