

令和3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 細胞小器官疾患学教室	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	修士学生・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	修士学生・高谷英子		○
	所属	東北大学大学院生命科学研究科	/	/
	職名・氏名	修士学生・見目悠		○
	所属	北海道大学・遺伝子病制御研究所	/	/
	職名・氏名	助教・岸本拓磨		
受け入れ教員	職名・氏名	教授・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、脂質ドメインを構成する脂質の分布と量が STING の活性化にどのような影響を及ぼすかに焦点を当て研究を進めた。		
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想定している。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)		我々は、ラフトドメインに含まれる脂質との関連性を見出したこと (Mukai et al., Nat Commun 2016) をきっかけに開始した共同利用の研究を複数年に渡り進め、ゴルジ体膜におけるラフト脂質と STING クラスター化に関連性を示す多くの結果を得ている。令和2年度までは、膜状態 (膜の脂質充填密度) と STING クラスター化の相関の解析を中心に進めた。膜の脂質充填密度は脂質ラフトドメイン形成において重要な要素であることから、STING クラスタ		

	<p>一化は、ラフトドメインとの密接に関係しているという可能性がさらに強まった。そこで、この点を令和3年度も継続して調査するため、ラフト脂質のコレステロールと STING クラスター化に焦点を当て解析を行なった。解析を進める上で重要となる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、共同利用の開始前には技術的に困難であった。この対応のため、昨年度にコレステロール可視化プローブ (iD4H) の共同開発に成功し、本年度はこのプローブも導入し解析を行なっている。このプローブ解析においては、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と複数回に渡る議論 (電話及び web 会議、合計8回、また、岸本助教の東北大への出張) を行い、実験系の確立を進めた。実験とし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) の二方面から解析を行なった。コロナ禍に対応するため、研究の中心は当研究室顕微鏡装置での細胞内解析にシフトし、解析条件の最適化を行った。iD4H の解析は、北大グループの生化学的解析を進めていただき、その結果を東北大での細胞内実験に反映させ、得られた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、これらの研究をもとに別の研究グループとの共同研究を進め、超解像度顕微鏡解析により STING のクラスター化とラフト脂質との関連性を示す結果も得られた。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得られた結果をもとに、STING 活性化における脂質の機能の一端を明らかにしつつあり、令和4年度中に、誌面発表が行えるように準備を進めている。誌面発表に向け令和4年度も継続して共同利用を行い、必要な結果の取得に向け、議論を進めている。</p>
成果	<p>【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと</p> <p>【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと</p> <p>【新聞報道】</p>