

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 30 年 5 月 1 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 愛媛大学 プロテオサイエンスセンター
 職 名 講師
 研究代表者名 高橋 宏隆

下記のとおり平成29年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号: 282004)

1. 共同利用研究 課題名	コムギ無細胞タンパク質合成系を用いて同定した Caspase-1 の新規基質の細胞の老化における役割の解明			
2. 共同利用研究 目的	申請者が同定した Caspase-1 の新規基質について、生物学的役割の解明を目指す。			
3. 共同利用研究 期間	平成 29 年 4 月 1 日 ~ 平成 30 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 高橋 宏隆	愛媛大学プロテオサイエンス センター	講師	研究立案・実験全般	
(分担研究者) 澤崎 達也 上松 篤史 野村 俊介 山中 聡士	愛媛大学プロテオサイエンス センター	教授 大学院生 大学院生 大学院生	研究立案 細胞実験 細胞実験 <i>in vitro</i> 実験および細胞実験	
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	細胞増殖分化制御研究 分野	氏 名	鎌田 真司 教授

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同利用研究計画

1. 鎌田教授が保有する各種老化モデル細胞の中で、カスパーゼ1が活性化され、かつ基質が切断されているものを探索し、細胞の老化と基質の切断の関連について明らかとする。また健常細胞に老化処理を誘導する処理を加え、カスパーゼ1の活性化や新規基質タンパク質の切断の有無を確認する。
2. T細胞由来の細胞株やマウスT細胞に、カスパーゼ1による切断部位をアミノ酸置換したカスパーゼ1耐性の基質や、切断フォームの基質をレトロウイルスベクターを用いて高発現させ、各種サイトカイン産生や細胞の増殖、細胞死にどのように影響するかを調べ、本基質の役割やカスパーゼ1による切断の生理学的意義について明らかとする。
3. 上述のように新規基質タンパク質は転写因子であることから、切断前・切断後のDNA結合能や転写活性について、*in vitro* および細胞レベルで解析を行う。またそれらのデータをもとに、新規基質タンパク質の切断による遺伝子発現の変動をRNAseq法などによって調べる。

7. 共同利用研究の成果

本研究において、カスパーゼ1はT細胞分化に関わる転写因子(転写因子X)を切断することを見出している。しかしカスパーゼは従来、マクロファージや樹状細胞において、主に pyroptosis を伴う細胞死を誘導する因子として知られている。そこで、マクロファージ由来の培養細胞株を用いて、poly-IC 刺激の有無など、いくつかの条件下でカスパーゼ1によって転写因子 X が切断されているかを調べた。しかし、マクロファージ由来の培養細胞株においては、転写因子 X の発現量が少なく、カスパーゼ活性化条件下においても切断は認められなかった。

さらに、コムギ無細胞タンパク質合成系を用いて作製した転写因子 X の切断前・切断後の断片について、標的DNA配列との結合をAlphaScreen法で検出した。その結果、DNA結合ドメインを有するN末端は標的配列に結合能を示したが、C末端は結合能を示さなかった。また転写因子 X は Batf, JunB と協調して働いていることが報告されていることから、これらとの関係性についても調べた。その結果、JunB, Batf のどちらの転写因子も、全長の転写因子 X の存在下で標的DNA配列への結合能が上昇したが、興味深いことに転写因子 X の N 末断片を加えることで、より顕著な結合能の上昇が認められた。以上のことから、転写因子はカスパーゼ1によって切断されることで、他の転写因子と協調してT細胞の分化などに関わっていると考えられた。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載, 又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお, 論文の場合は, 別刷りを1部提出してください。)

該当事項なし

9. 共同利用研究に関連した受賞, 博士学位論文の取得, 大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

該当事項なし