

(様式 1-2)

提出日：2020 年 6 月 3 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名		免疫細胞表面受容体群のリガンド認識および活性制御機構の解明	
研究代表者	前仲勝実	前仲勝実	
	所属機関名・部局名	北海道大学・大学院薬学研究院	
	教授	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)			共同研究員
		○	超高磁場NMR 共同利用研究課題
			クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
			客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		藤原敏道教授	
免疫系を中心とする細胞表面受容体群は、自己・非自己を認識し、非自己であるウイルス感染細胞・感染微生物の表面抗原蛋白質を認識し、免疫細胞の活性化に関わっている。また、腫瘍細胞は PD-L1 などを発現して、免疫細胞の活性化を抑える一方で、その表面抗原はワクチンの有効なターゲットになりうる。そのため、これら細胞表面で起こる現象を明らかにし人為的に制御することで、自己免疫疾患やがん、感染症を克服する特異性の高い免疫制御が可能になると期待される。本申請では細胞表面受容体のうち、結核菌表面の糖脂質やコレステロールを特異的に認識する Mincle とウイルス表面や細胞表面に存在する糖タンパク質のシアル酸を含む糖ペプチドを認識する PILRα を中心に研究を進めた。これまでの本共同研究によって、両タンパク質共に帰属がほぼ完了している これまでの研究課題によって、Mincle タンパク質の化学シフトの帰属はほぼ完了している。さらに糖脂質の滴定実験の結果より、糖脂質認識に重要性なアミノ酸を見出している。本年度は、そのアミノ酸をアラニン置換した変異体を作製し、糖脂質認識に大きく影響することを確認するために実験を進めた。変異体 Mincle タンパク質については、これまでと同様の手法で高濃度に調製することに成功した。大阪大学蛋白質研究所が所有する 950 MHz NMR を用いて糖脂質の Mincle タンパク質への測定実験を行った。測定には、^1H-^{15}N Heteronuclear Single Quantum Correlation (HSQC) 法を用いた。その結果、滴定により、野生型でも化学シフトが見られた他の残基でも化学シフト変化が見られなくなることがわかった。このことは、変異を導入したアミノ酸が糖脂質認識に重要な役割を果たしていることを示唆する。 PILRα については、3 種の糖ペプチド誘導体を用いて抗原ペプチド認識について NMR から得られたケミカルシフトを用いて TALOS 解析を再解析した。X 線構造解析ではこれらのペプチドについての複合体構造に明確な変化は見られなかったが、表面プラズモン共鳴解析およびカロリメトリーの結果から、得られた情報と一致しないと考えられた。NMR から液中での結合能解析を実施しており、本解析から、明らかになっていなかった認識機構が明らかとなっており、論文投稿準備中である。			

