

「ウイルスにより形成されるNLRP3インフラマゾームの構造解析」

研究者名：尾瀬 農之	研究分野	研究キーワード
所属・役職：北海道大学大学院薬学研究院・准教授	番号：薬学	インフラマゾーム NLRP3蛋白質

背景・目的

IL-1βやIL-18などのサイトカイン分泌を担っているセンサーであるインフラマゾーム細胞内環境を検知しサイトカイン分泌を制御している精緻なメカニズムを明らかにすることを目的としている。ターゲットにしているのはインフラマゾームによるcaspase-1の活性化である(図1)。活性化したcaspase-1は、細胞質に存在する前駆体であるpro-IL-1β, pro-IL-18を切断して成熟させる。これを試験管内で再構築し、将来的な結晶構造解析へと繋げ研究である。

研究の成果

NLRP3同士はNOD (nucleotide-binding oligomerization domain) により多量体化する。NLRP3とASCは両蛋白質が保持するPD (pyrin domain)により結合し、さらにASCとpro-IL-1βは両者が保持するCARD (caspase-recruitment domain)により結合することが報告されている。一般的にはNLRP3は活性化前には折り畳まれており、活性化により伸展した状態になると考えられている。微生物、昆虫細胞、哺乳類細胞を使用した組換え発現系の作製を試みた。その結果、下図2の通り単一バンドとして精製することが出来た。また、精製標品をゲル濾過クロマトグラフィに供したところ、図5のように推定分子量約120 kDaの位置で溶出されたことから、NLRP3単体すなわち活性化前の状態で調製に成功したことがわかる。

将来展望

NLRP3インフラマゾームは、病原体の成分以外にもアスベストや内在性コレステロール結晶などによっても活性化され、活性化と様々な疾患との関連が報告されている。病原体認識によるNLRP3インフラマゾームの活性化機構や、内在性危険シグナルがもたらす疾患においてNLRP3がどのように関与するか、その分子機構の解明が待望されているNLRP3インフラマゾームを再構成し、NLRP3が相互作用分子によりどのような影響を受けるかを測定する。具体的には、非活性型・活性型体間の構造変化を構造学的手法で検出し、両者の結晶構造解析を行う。

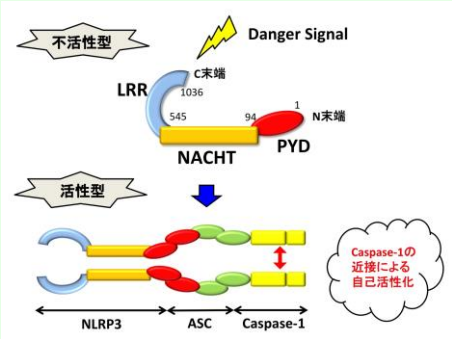


図1 インフラマゾーム活性化の模式図

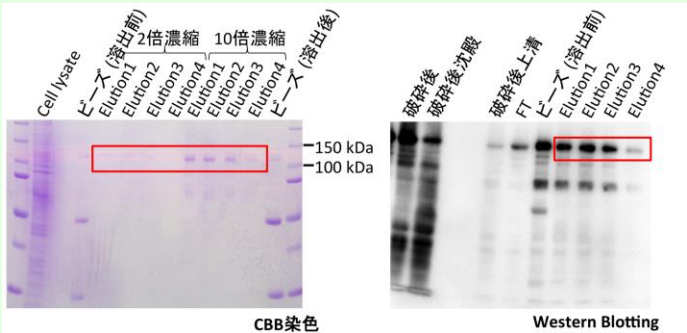


図2 インフラマゾーム構成因子の精製。左図はCBB染色を行ったもので、アミノ酸配列より計算される分子量位置(約118 kDa)に、単一バンドが存在する(赤枠内)。また、特異的抗体によるwestern blottingで検出したものが右図となり、目的バンドであることが確認できた。