

**【目的】** 生物は、ウイルスなどの外来 DNA に対する防衛機構を備えている。脊椎生物においてその機構の中心的な役割を果たすのが自然免疫である cGAS (cyclic GMP-AMP synthase) -STING (stimulator of interferon genes) 経路である。この経路では、cGAS が外来 DNA に結合して活性化し、環状ジヌクレオチド cGAMP を合成する。そして、STING が cGAMP を認識してその後続く経路を活性化し、最終的にインターフェロンを産生して炎症反応を引き起こす。cGAS-STING 経路は、自己免疫疾患、がん、脳炎など非常に広範な疾病の原因となることが日進月歩で解明されており、その制御機構の解明が期待されている。これまで cGAS は細胞質因子として考えられてきたが、最近になって細胞核内でゲノム DNA と一緒に存在することが報告された。本研究では、核内に存在する cGAS とクロマチンとの相互作用とその機能の解明を目的とする。核内における cGAS の制御機構はまだ不明な点が多いだけでなく、cGAS がこれまで予期されていなかった新たな機能を持つ可能性がある。特に、先行研究区から、cGAS は核内因子との相互作用によってクロマチンを制御、またはクロマチンによって制御されているという、クロストークが存在する可能性が考えられた。そこで、クロマチンと cGAS のクロストークとその意義を解明するために、細胞核内の cGAS の相互作用因子を探索した。

**【方法】** 細胞の核内での cGAS の相互作用因子を探索するため、まず、タグを融合した全長のヒト cGAS タンパク質と細胞の核抽出液を調製した。ヒト cGAS タンパク質を大腸菌にて発現させ、アフィニティクロマトグラフィーによって精製した。また、HeLa 細胞の核から、クロマチン結合タンパク質を抽出した。そして、タグを利用して cGAS ビーズを作製し、核抽出液から cGAS 結合因子を精製した。得られた cGAS 結合タンパク質について、質量分析によってタンパク同定を行った。

**【結果】** cGAS 相互作用因子を同定するために、MBP タグ融合の全長のヒト cGAS の精製系を確立した。また、HeLa 細胞の核抽出液を調製した。cGAS を固定した cGAS ビーズを核抽出液と混合し、cGAS をプルダウンすることで cGAS の相互作用因子を精製した結果、cGAS に特異的に結合するタンパク質が観察された。これらの結合因子について、LC-MS によりタンパク質同定を行い、cGAS に特異的に結合した因子を解析した。その結果、ミトコンドリアタンパク質 C1QBP や、リボソームを構成するタンパク質 60S acidic ribosomal protein P2、ヌクレオソームを形成するヒストンタンパク質 H2A、H2B、H4 などの、cGAS に結合する因子として知られている既知の因子を同定した。興味深いことに、これらの因子に加えて、Anp32e、FACT 複合体 (SPT6 および SSRP1)、Nap1L4、SET、Nucleolin、Nucleophosmin などのヒストンシャペロンが複数同定された。本結果から、ヒストンシャペロンが cGAS 相互作用因子であることが示唆された。既知の cGAS 相互作用因子の C1QBP がヒストンシャペロンであり、cGAS の負の制御因子であるという先行研究の知見を踏まえると、核内ではヒストンシャペロンが cGAS を負に制御することが考えられる。核内にはゲノム DNA が存在するため、cGAS は抑制されていなければならないことを考えると、核内ではヒストンシャペロンによって cGAS のゲノム DNA に対する応答を抑制されている可能性が考えられた。

本研究により示唆された細胞核内での cGAS の相互作用因子の概念図

