

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	影山 麻衣子
論文題目	ウイルスRNAセンサーRIG-Iの活性化機構の解析：自己抑制ドメインの同定		
(論文内容の要旨)			
<p>病原体の生体内侵入の際、宿主の自然免疫が防御反応を誘導する。この誘導の第1段階では、多くの病原体に共通な分子パターンを認識する宿主のパターン認識受容体が働く。RIG-I(retinoic acid-inducible gene-I)は、C型肝炎やインフルエンザ、日本脳炎といったRNAウイルスの認識に働くことが知られている。ウイルスRNA認識後、RIG-IはI型インターフェロンや炎症性サイトカインの産生を誘導し、抗ウイルス状態に導く。RIG-Iは複数のドメインを持つタンパク質であり、平常時はドメインが相互作用して不活性型の構造をとっている。そこにウイルス感染が起きると、ウイルスの二重鎖RNAや5'末端三リン酸化RNAにRIG-Iが結合して活性型の構造に変わるモデルが提唱されている。これまでにRIG-IのC末端部に自己抑制領域が存在し、シグナル伝達領域と結合することでシグナル伝達を抑制していると示されている。しかしこの自己抑制領域の詳細な位置は明らかではなかった。</p> <p>そこで本論文ではRIG-Iを不活性型に保つ機構に着目し、その解明を試みた。まずRIG-Iの自己抑制領域をヘリカーゼドメインとC末端側ドメインの間のリンカーであると同定した。また自己抑制領域で保存性が高いアミノ酸の一部をアラニンに置換して恒常活性化変異体を得た。この恒常活性変異体はRNAウイルス感染による活性増強が起きず、またATPase活性を持たなかった。ここからATPase活性やRNA結合は自己抑制状態の解除には必要であるが、開構造をとった後のシグナル自体には不要と考えられた。さらにトリプシン消化実験の結果は、自己抑制領域がRIG-Iを閉構造に保つことを示しており、自己抑制領域は不活性型RIG-Iの構造保持に重要であると推測された。最近、他研究室からRIG-Iの部分結晶構造が報告されたが、この立体構造はリンカー部分が不活性RIG-Iの全体の閉じた構造を保持しているというモデルを強く支持するものであった。</p>			

( 論文審査の結果の要旨 )

本論文は、細胞質ウイルスRNAセンサー分子であるRIG-Iの制御機構を解析したものである。RIG-Iは通常、細胞に低レベルで発現しており、不活性型であると考えられる。その活性化には、ウイルス由来の二重鎖RNAがRIG-Iに結合することが必要であると考えられている。不活性型ではN末端側のCARDが分子構造の中にマスクされており、それがRNA結合に伴って立体構造が変化して露出するというモデルが提唱されていた。本論文では幾つかの部分欠失変異体を作製し恒常活性型になるものを得た。さらに欠失させることにより恒常活性を示す部位(抑制ドメイン)を詳細に決定した。その結果、動物種間で保存される、ヘリカーゼとC末端ドメインを結ぶリンカー(55アミノ酸)に注目した。その部分で特に強く保存されるアミノ酸を置換したところ、その置換によって恒常活性化が誘導された。また、野生型のRIG-Iとリンカーのアミノ酸置換体の立体構造を比較する目的でプロテアーゼによる消化を行なったところ、野生型は部分消化産物(CARDとヘリカーゼドメインを含む)が得られたがアミノ酸置換体はほぼ完全に消化された。このことより、このリンカーが通常状態でRIG-Iの構造を閉じた形に保持しており、アミノ酸置換体では開いた構造を取ると結論された。また、リンカーが閉じた構造を形成するのに必須なドメインであると考えられた。また、アミノ酸置換体はATPase活性を示さず、RIG-Iの活性化は立体構造の変化によっており、ATPase活性そのものはシグナル伝達には必須でないと考えられた。

以上の成果はRIG-Iによる抗ウイルス自然免疫応答の活性化の理解に関して新たな知見を加えるものである。従って本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

平成24年1月23日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行なった結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日