

(続紙 1 )

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	呉 成旭
論文題目	Functional Analysis of RIG-I and RNP Complexes in the Antiviral Interferon System (抗ウイルスIFNシステムにおけるRIG-IとRNP複合体の機能解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>RIG-I は細胞に感染したウイルスに由来する RNA を検知するウイルスセンサー分子であり、一連のシグナル伝達カスケードを惹起して抗ウイルス性サイトカインであるインターフェロン (IFN) の産生を誘導する。RIG-I は 5'末端三リン酸および二本鎖構造を有する非自己 RNA を選択的に認識することが知られている。しかしながら、ウイルス感染細胞内において、実際に RIG-I が時間・空間的にどのようにウイルス RNA と対峙して IFN の産生を誘導しているのかについては明らかではなかった。申請者は、マイナス一本鎖 RNA ウイルスである Newcastle disease virus (NDV) を用い、NDV 感染細胞における RIG-I の動態と IFN 誘導機序との関連について詳細な解析を行った。</p> <p>申請者は、感染初期の段階で NDV が細胞質に複製複合体 (viral replication complex; vRC) を形成することを見出し、RIG-I が vRC に集積して初期の IFN を誘導していることを明らかにした。さらに、RIG-I は感染後期に形成されるストレス顆粒 (stress granule; avSG) と呼ばれる顆粒状の宿主リボヌクレオタンパク質 (RNP) 複合体にも集積することを見出した。SG の形成を阻害したところ、NDV 感染時の IFN 発現レベルが顕著に減弱したことから、SG 内に局在する RIG-I が二次的な IFN 発現の亢進に関与していることが示唆された。さらに申請者は、NDV の leader 配列と N 遺伝子の融合転写産物である非キャップ型 read-through poly(A)<sup>+</sup> RNA が SG において RIG-I を活性化していることを見出した。</p> <p>以上より、申請者はウイルス感染によって誘導される RNP 複合体、すなわち vRC や SG は RIG-I がウイルス RNA と対峙する場であり、IFN の初期誘導と二次的な増幅のシグナルを発信している場であると結論し、また RIG-I の新規リガンドとして非キャップ型 read-through poly(A)<sup>+</sup> RNA を新たに同定した。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

ウイルスは、感染細胞内に自己の複製の場を形成することが知られている。申請者は、NDVのウイルスタンパク質を標的とした免疫染色法およびウイルスRNAを標的としたRNA-FISH法により、感染初期の細胞質内にNDVの複製の場(vRC)を見出すとともに、感染後期にはavSGが形成されることを示した。また、RIG-Iとその下流のシグナル伝達分子であるIPS-1がvRCとavSGに集積することを示した。そして、これらのRNP複合体形成と*IFNB*遺伝子の発現を免疫染色・RNA-FISH法により動的に可視化することで、vRCとavSGがそれぞれ感染初期と後期のIFN誘導シグナルの発信源であると結論した。さらに、遺伝子ノックダウンによるavSG形成阻害実験により、先行論文によって提唱されていた抗ウイルスIFN応答におけるavSG形成の重要性を強く証明した。また申請者は、ウイルスの転写産物であるpoly(A)<sup>+</sup> RNAがavSGに移行するという新たな知見を見出し、ノザンブロット法とRT-qPCR法により、ウイルスの poly(A)<sup>+</sup> RNAの中でもleader配列を含んだ非キャップ型のread-through RNAがavSGにおけるRIG-Iの潜在的なりガンドであると確定した。加えて申請者は、非キャップ型のread-through RNA がNDVのみならず近縁のRSVやVSVなどによっても産生されることを見出し、この特徴を持つRNAがマイナス一本鎖RNAウイルスの感染認識における RIG-Iの共通したリガンドであるという可能性を提起した。

以上の研究成果は、RNP 複合体の形成と RIG-I のウイルス RNA 検知のダイナミクス、それに伴うIFN の誘導機序を動的に示し、さらには RIG-I の新規リガンドを解明したものであり、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見と概念を提示している。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文としての評価基準を満たすものと判断した。さらに、平成28年4月12日に執り行われた公聴会にて論文内容およびそれに関連した口頭試問を実施した結果、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。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

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