



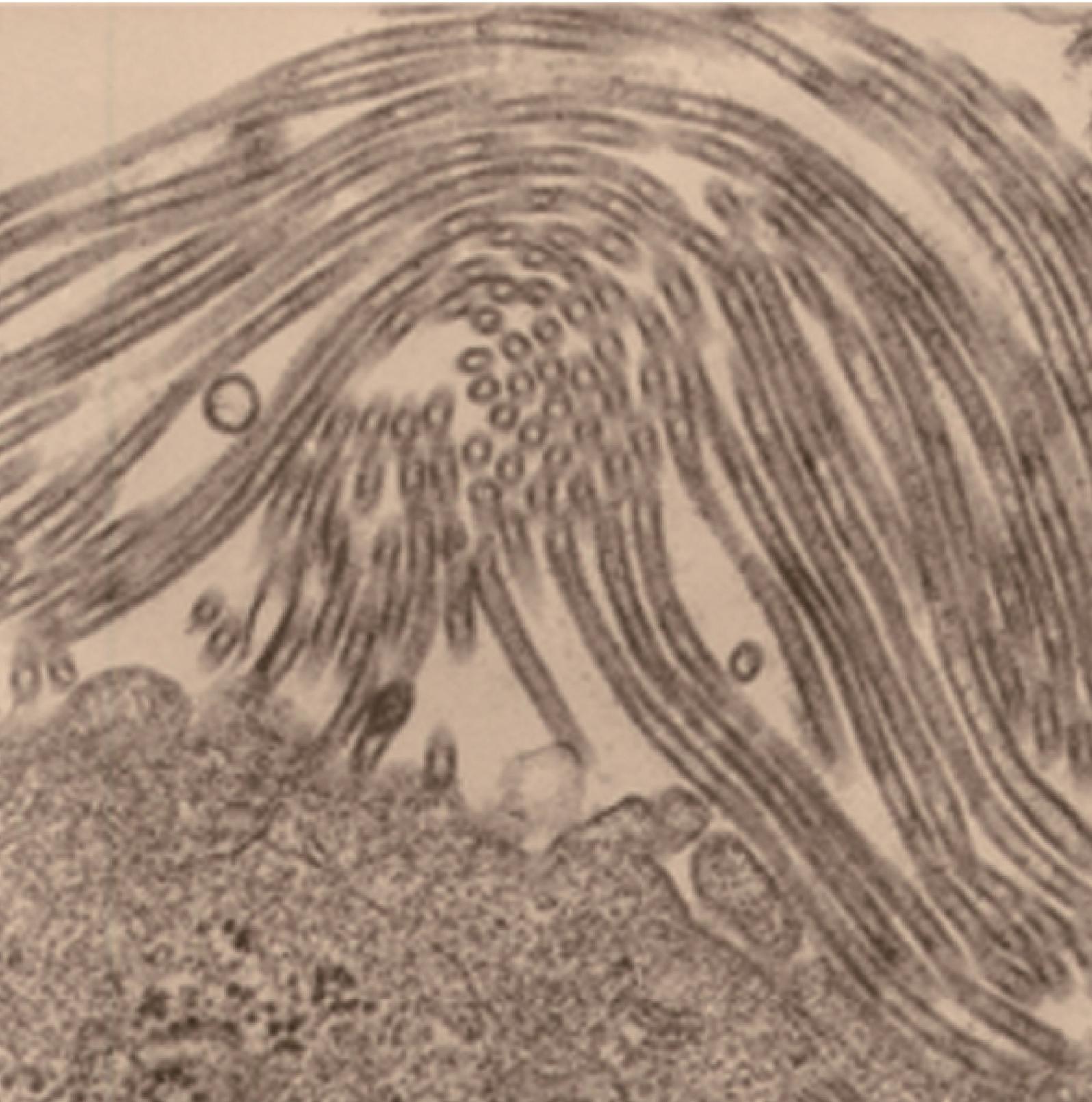
文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究

News Letter

Vol.3

2015年3月

ウイルス感染現象における 宿主細胞コンピテンシーの分子基盤



C*ontents*

領域代表挨拶	1
国際シンポジウム報告	2
研究班報告	5
若手研究会の報告	21
国際学会発表報告	22
研究班組織	23
26年度の活動報告および27年度の活動予定	25



第5回領域会議（国立感染症研究所）

「感染コンピテンシ」はどこから、 そしてどこへ

「感染コンピテンシ」研究領域代表 永田 恭介 (筑波大学・学長)



本領域、すなわち文部科学省2012-2016年度新学術領域研究「ウイルス感染現象における宿主細胞コンピテンシーの分子基盤」(略称名:「感染コンピテンシ」)は、現在3年目の研究計画を進めているところです。昨年9月には中間ヒアリングを受け、「A」の評価をいただきました。まずは順調に進行しているという評価です。

この稿は、偉大なる先輩ウイルス研究者であった野本明男先生の死去の報を受けてから書いています。大変に残念です。野本先生は神髄を見抜き、本質を語る科学者でした。野本先生の研究を一言で表せば、「ポリオウイルスの複製と病原性発現の分子メカニズム」の解明ということでしょう。数々の重要な研究成果を発表されていますが、私にとっては1989年にJournal of Virologyに発表された論文(Determinants in the 5' noncoding region of poliovirus Sabin 1 RNA that influence the attenuation phenotype)が最も印象的でした。日本のウイルス学研究に分子遺伝学/分子生物学を持ち込んで病原性基盤に迫った素晴らしい論文であったと思います。

野本先生は個人個人の研究が大切であることを述べられながら、彼の先輩や同輩や後輩達をも巻き込んで、分子ウイルス学の潮流を築き、大きなグループ研究を創設して、その潮流を太く勢いのあるものとするだけではなく、その中に若い研究者を巻き込んでいきました。1984～1986年度総合研究(A)「自己増殖性RNAの構造と機能」、1988年度総合研究(B)「ウイルス研究推進のための調査研究」、1989年度総合研究(B)「ウイルス病原性の分子的基盤研究推進のための調査研究」、1991年度総合研究(B)「RNAレプリコン」などの野本先生らを中心としたグループ研究では、ウイルス学全体の動向を分析し、ウイルス学の未来が議論されました。こういった努力が実を結んで成立したのが、野本先生が領域代表を務められた1992～1995年度重点領域研究「RNAレプリコン」でした。その後も重点領域研究の成果を継続させるための様々な努力をされ、再び野本先生が領域代表を務められた2006～2011年度特定領域研究「感染現象のマトリックス」が生まれ出されました。そして、その後を継いだのがこの領域、「感染コンピテンシ」です。

本領域研究が、後の評価で、ウイルス学研究に新たな何物かを付け加え、次代を担う若い研究者の育成に幾ばくかの貢献をしたと評価される必要があることを再認識しながら、日々のベンチワークで精一杯の努力を続けていかなければなりません。

平成27年3月 吉日

2014年11月8日、9日にパシフィコ横浜において、海外のウイルス学研究者6名と領域内研究者8名を演者とし、Dynamic interplay between viruses and their hostsと題して国際シンポジウムを開催した。演者は班員が領域の内容に関連して顕著な業績を挙げている研究者を推薦し、柳雄介シンポジウム担当委員を中心に選定した。当日約120名の参加者があり、活発な討論がなされた。以下、海外演者の講演内容を簡単に紹介する。

Tripartite motif (TRIM) タンパク質は、ユビキチンE3リガーゼのモチーフをもち、自然免疫系の制御因子である。脊椎動物以降、自然免疫系の発達とともに、TRIMファミリーも多様化し、ヒトでは70以上のホモログが保存されている。Garcia-Sastre博士はヒトに保存される75種類のTRIMによる自然免疫系の制御機構について講演した。興味深いことに、半数以上のTRIMが自然免疫の活性化因子であり、同じファミリー分子でありながら、その作用点は異なっていた。そのうち、TRIM6はE2リガーゼと結合し、K48ユビキチン化修飾を介してIKK ϵ を活性化することで、STAT1のリン酸化を促進した。本発表は、TRIMのユビキチン化修飾によるシグナル制御機構を初めて明らかにしたものである。

Greene博士は、扁桃組織を用いた初代培養システムを用いてHIV-1感染によるCD4 (+) T細胞死に関する新たな知見を発表した。HIV-1によるCD4 (+) T細胞死の多くは、HIV-1の不完全な感染 (abortive infection) によって惹き起こされており、そのメカニズムとして、細胞内で蓄積するHIV-1 DNAをIRF16が核酸センターとして認識し、caspase-1の活性化を介したpyroptosisにより細胞死と炎症を惹起することを見出した。さらに、本細胞死は、cell-to-cell contactによる感染でのみ特異的に発生し、restriction factorであるSAMHD1を介することを明らかにした。これらにより、あらたな細胞死メカニズムとcaspase-1阻害薬による新たな治療の可能性を示された。

Andino博士はポリオウイルスを題材としてウイルスのquasispeciesの研究を推進している。quasispeciesの存在はウイルスの病原性発現や進化の大きな原動力となっている。今回の講演ではquasispeciesを正確に記述するための次世代シーケンサーを用いたシーケンス技術の開発をまず概説し、RNAポリメラーゼに変異を導入し、複製の正確性や相同組換えの効率を変化させることにより、病原性への関与があることの証拠を示し、また、ウイルスタンパクとウイルスRNAの相互作用箇所を発見する新たな方法論を示された。

Plempner博士は、パラミクソウイルスによる膜融合のメカニズムと抗ウイルス薬開発に関して最近目覚ましい成果を挙げている。国際シンポジウムでは、RSウイルス、麻疹ウイルスそれぞれのRNA依存性RNAポリメラーゼを阻害する小分子化合物のhigh throughput screeningと動物モデルを用いた解析が紹介された。

Staheli博士はIFN α/β とIFN λ の機能の違いについて研究を行っている。両者はIFN自体やIFN受容体は異なっているが、JAK-STAT経路以降は同一で、同じIFN-stimulated geneを活性化することから、その機能分担は明らかではなかった。ノックアウトマウスなどを用いた解析を行い、両者はredundantな関係ではなく、IFN λ は消化管などの上皮細胞で特異的に機能し、IFN α/β は上皮細胞以外の組織において作用しているという機能分担が存在することを概説された。

Picker博士の講演では、冒頭にカーブボール投手が映しだされた。その意図は「従来にない攻めでウイルスを抑える」である。Picker博士が開発したサイトメガロウイルスベクターワクチンは持続的抗原産生により高頻度にエフェクターメモリーT細胞を誘導し、サルエイズモデルにおいて50%以上の感染防御効果を示した。その機序は従来のMHC-I拘束性でなくMHC-IIおよびMHC-Eというカーブボールによる広範囲な抗原認識であった。残る安全性等の課題に関して、博士が最後に言われた来年の第I相臨床試験が待たれるところである。

本シンポジウムでは、海外の著名なウイルス研究者と本研究領域班員の中から選ばれた演者が4つのテーマで発表した。発表時間に比較的余裕を持たせたので、様々なウイルスと内容が取り上げられたにも拘らず、研究の背景や内容をよく理解することができた。若手研究者の発表がいずれもレベルが高く優れていたことは特筆すべきであり、本研究領域の将来の発展が大いに期待された。昼間の発表に加え懇親会でも、海外の研究者を含め領域内の交流が図られた。



海外招待演者の先生方



Adolfo García-Sastre



Peter Staeheli



Louis J. Picker



Richard K. Plemper



Warner C. Greene



Raul Andino

The International Symposium 'Molecular basis of host cell competency in virus infection' 2014

granted by Grant-in-Aid for Scientific Research
on Innovative Areas.

Dynamic interplay between viruses
and
their hosts

Pacifico Yokohama 4F
411+412

November 8 (Sat)

- 11:00-12:00 Generalization Group Meeting
- 13:20: Opening remark
- 13:30-15:50 **Session 1 : Innate immunity to viral infections**
(Chairs: Takashi Fujita & Satoshi Koike)
 - Adolfo Garcia-Sastre (*Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, USA*)
Induction and regulation of antiviral innate signaling.
 - Mitsutoshi Yoneyama (*Medical mycology Research Center, Chiba University*)
Regulation of antiviral innate immunity by the host RNA binding proteins.
 - Peter Staeheli (*Institute for Virology University Medical Center Freiburg, Freiburg, Germany*)
Uncovering the role of interferon- λ in antiviral defense.
 - Umeharu Ohto (*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo*)
Structural study of Toll-like receptor 8 recognizing viral single stranded RNA.
- 16:10-17:55 **Session 2: New approaches for virus research**
(Chairs: Tohru Natsume & Hisashi Arase)
 - Takeshi Noda (*Institute of Medical Science, University of Tokyo & JST, PRESTO*)
Packaging of the influenza A virus ribonucleoprotein complexes.
 - Louis J. Picker (*Vaccine and Gene Therapy Institute, Oregon Health & Science University, Beaverton, OR 97006, USA*)
Cytomegalovirus Vectors: A New Immunology from a Very Old Virus.



- o Kyosuke Nagata (*Nagata Special Laboratory, Faculty of Medicine, University of Tsukuba*)
From the molecular mechanism of influenza virus genome replication and transcription to the influenza virus control.

• 18:30 Party

November 9 (Sun)

• 9:10-11:30 Session 3: Viral pathogenesis and treatment

(Chairs: Akinori Takaori & Yusuke Yanagi)

- o Takaji Wakita (*Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases*)
Regulation of viral lifecycle in hepatitis C virus infection.
- o Richard K. Plummer (*Institute for Biomedical Sciences, Georgia State University*)
Insights from the Measles Virus System Illuminate Paramyxovirus Entry and Highlight Druggable Targets for Anti-Paramyxovirus Therapy.
- o Akihisa Kato (*Division of Molecular Virology, Department of Microbiology and Immunology, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo*)
Central nervous system specific virulence of herpes simplex virus 1 involves phosphorylation of a viral dUTPase by a viral protein kinase.
- o Warner Greene (*Gladstone Institute of Virology and Immunology, Medicine and of Microbiology and Immunology, University of California, San Francisco, USA*)
HIV/AIDS and the Death of CD4 T cells: A Little Murder and a Lot of Suicider.

• 13:00-14:45 Session 4: Viral evolution and mathematical models

(Chairs: Yoshio Koyanagi & Hideo Iba)

- o Akira Sasaki (*Department of Evolutionary Studies of Biosystems, The Graduate University for Advanced Studies*)
Coevolutionary dynamics of human antiviral protein APOBEC3G and its viral antagonist Vif.
- o Raul Andino (*Microbiology and Immunology, University of California, San Francisco, USA*)
RNA virus population dynamics and the mechanisms of replication and adaptation.
- o Shuhei Miyashita & Masayuki Ishikawa (*Plant-Microbe Interactions Research Unit, National Institute of Agrobiological Sciences*)
Mathematical modeling of positive-strand RNA virus infection in single cells reveals a sophisticated adaptation system of the viruses.

Copyright © 2014. University of Tsukuba All Rights Reserved.

マイナス鎖RNAウイルス複製におけるウイルスと宿主の攻防

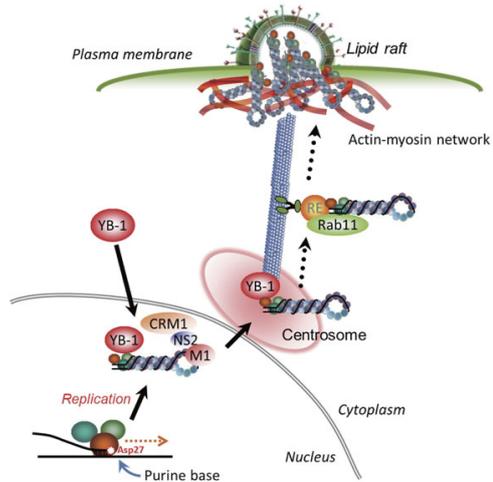
研究代表者 永田 恭介 筑波大学・学長

マイナス鎖RNAウイルスは、転写から感染サイクルを開始するウイルスであり、このウイルスゲノムの転写・複製、細胞内輸送には、多様な宿主細胞由来の因子（宿主因子）が必須である。本計画では、インフルエンザウイルスを主な対象として、ウイルス複製系と宿主生理系の攻防の構図を明らかにする。これまで本研究計画では、ウイルスポリメラーゼの機能発現機構と複製されたウイルスゲノムの細胞内動態に着目して研究を行ってきた。以下、それぞれ得られた成果について概略する。

インフルエンザウイルスのRNAポリメラーゼは、PB1を中心に、PB2およびPAがそれぞれPB1に結合して3者複合体を形成している。PB1は活性中心として機能する重要なポリメラーゼサブユニットであるが、PA結合ドメインとPB2結合ドメインがそれぞれ部分結晶構造として決定されているのみであり、その機能構造部位については不明である。我々は、GTPアナログであるリバピリンに耐性を示すPB1変異体を単離し、その原因としてAsp27のAsnへの変異を明らかにした (*Front. Virol.*, 2013; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2014)。メソトレキサートによってプリンの細胞内濃度を低下させた場合にもAsp27Asn変異は耐性を示すことから、Asp27はプリン塩基の認識に関与する部位であると推測された。

細胞核内で複製されたウイルスゲノムは、核外輸送され、リサイクリングエンドソームを利用して微小管依存的に細胞膜まで輸送される。我々は、子孫ウイルスゲノムの細胞内動態を制御する新規宿主因子として、YB-1を同定した (*J. Virol.*, 2012)。核内でウイルスゲノムと結合したYB-1は、ウイルスゲノムと共に核外輸送され、ウイルスゲノムを微小管上へとリクルートする活性をもつ。一方、

YB-1による微小管重合の促進も観察されており（投稿中）、ウイルス感染によって細胞内輸送機構がダイナミックに制御されていることが示唆される。また、ウイルスゲノムは細胞膜直下でウイルス構造タンパク質と集合し、ウイルス粒子へ取り込まれる。これには、アクチンフィラメントが足場として必要であると推測されていたがその詳細は不明であった。我々は、アクチンフィラメントの3次元構造（アクチン-ミオシンネットワーク）の形成に必須な非筋細胞ミオシンを阻害することで、ウイルス粒子の出芽が抑制されることを明らかにした (*Virol.*, 2015)。脂質ラフトのクラスタリング、もしくは出芽部位の膜構造変化に、アクチン-ミオシンネットワークが関与する可能性が示唆されている。



インフルエンザRNAポリメラーゼの核移行に関する構造生物学的研究

研究分担者 朴 三用 横浜市立大学生命医科学研究科・教授

インフルエンザウイルスが宿主細胞に効率よく感染し、増殖するためには①細胞膜と②核膜の2種類の脂質二重膜を通過しなければならない。近年、インフルエンザRNAポリメラーゼ複合体 (vRNP) のウイルスタンパク質PA、PB1、PB2、NPの核膜の通過性がウイルスの感染に影響を与えるという報告がなされている。

核内で、ウイルスゲノムの複製とmRNAの転写が、インフルエンザRNAポリメラーゼ複合体によって行われる。mRNAは細胞質で翻訳され、新たなウイルスタンパク質が合成される。合成されたウイルスタンパク質は、それぞれ別々の経路で核に移行し、vRNPを形成する。PAとPB1は細胞質で2量体を形成し核輸送運搬体であるimportin β によって認識され核に運ばれるのに対し、PB2及びNPはそれぞれimportin α に認識され核に運ばれる。

本研究グループは、上記の経路のうちNP-importin α 及びPA-PB1-importin β の立体構造の解析を目指し研究を進めてきた。NP-importin α については、大腸菌を用いたタンパク質発現系を構築し、タンパク質を大量に調製した。分析超遠心を用いた相互作用解析から、NPとimportin α がモル比1:1で結合することが明らかとなった。また、NPとimportin α の共発現系を構築し結晶化条件の探索を進めている。

一方で、PA-PB1-importin β については、importin β との相互作用部位であるPB1のNLS（核移行シグナル）領域のみを大量発現させ、GSTプルダウンによる相互作用解析を行った。その結果、PB1のNLSがimportin β と結合することが確認された。さらに、これまでの報告にはないものの、PB1のNLSは、importin α とも結合することが明らかとなった。続いて、PB1のNLSとimportin α の複合体を大量に調製し、結晶化スクリーニングを行ったところ、数種類の条件で結晶を得ることができた。これらの結晶化条件の最適化を進めたところ、現在までに分解能3.8Åまでの反射点を確認することができた。今後、構造解析に向けて更なる結晶化条件の最適化を行っていく予定である。

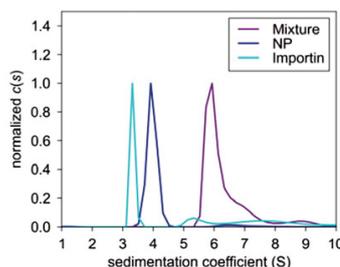


図1. NP、importin α の超遠心分析



図2. PB1(NLS) - importin α の結晶

C型肝炎ウイルス(HCV)の複製メカニズムの解析

代表研究者 脇田 隆字 国立感染症研究所・部長

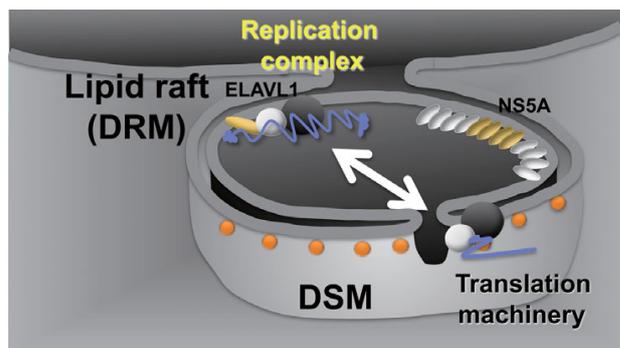
プラス鎖RNAウイルスは複製複合体を含む膜小胞を形成しその中で複製することが知られているが、そのメカニズムについては不明である。本研究ではHCVの複製の場である膜小胞(DMV)形成のメカニズムと、HCV RNA翻訳とHCV RNA合成の調整メカニズムについて検討した。

HCV感染細胞でのDMVの形成にはHCVNS4Bが関与している。プロテオーム解析およびsiRNAスクリーニングにて、NS4B結合膜タンパクとしてprolactin regulatory element binding protein (PREB)を見出した。PREBはCOPIIを介した小胞体輸送に関与するタンパクである。レプリコン細胞内でPREBはNS4Bと結合し、さらに新規産生HCV RNAと共局在した。また、PREBはNS4Bと結合して界面活性剤不溶性分画(DRM)に移行する。HCV複製複合体はDRMに存在する。siRNAによりPREBの発現を抑制すると、レプリコン細胞内のDMVの数が減少する。また、本来HCV複製複合体はDMV内でprotease・nuclease処理に対して抵抗性を示すが、PREB発現抑制により、HCVタンパクとRNAはprotease・nuclease感受性となる。従って、PREBはHCV複製複合体を含むDMV形成に重要な役割を果たしていると考えられた。また、レプリコン細胞、感染細胞、感染ヒト肝キメラマウスの肝組織において、PREBの発現の増加が認められた。

さらに、HCV RNA翻訳とHCV RNA合成について検討するため、HCV複製から粒子形成まで重要な役割を果たしているHCVNS5Aに

注目した。pull-down法によりHCVNS5A結合膜タンパクとしてEmbryonic lethal abnormal vision like 1 (ELAVL1)を見出した。ELAVL1はHCV RNAと結合し、さらにNS3、NS5A蛋白と結合することで複製の場DRMへ移行させることが示された。また、膜分画のprotease・nuclease処理により、HCV RNA複製はDMVの内側、翻訳は外側で行われていることが示された。

C型肝炎ウイルス(HCV)の複製メカニズムの解析



HCV感染に伴いPREBが増加し、HCVNS4Bと結合して複製複合体が存在するDRMに運ばれることでDMV形成に重要な役割を果たしている。さらに、ELAVL1と結合したHCV RNAはDMV外側で翻訳に、NS5Aと結合することでDMV内側に引き込まれHCV RNA合成に関与しているものと考えられた。

Ribosome RNAおよびSingle-stranded RNAウイルスゲノムの可視化構造解析

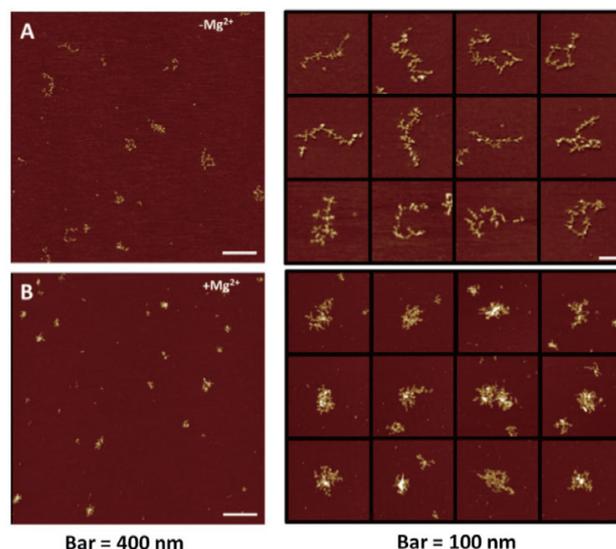
脇田班 研究分担者 竹安 邦夫 京都大学大学院 生命科学研究所・教授

FS-AFMや特異的プローブ装着型AFMの技術により、領域内研究者が扱う各種感染体のゲノム構造と動態を“まるごと”からみて明らかにし、感染体ゲノム構造とその発現場としての真核細胞クロマチン/核内構造との相互作用を明らかにするために、以下の研究を推進してきた。

●“RNAを見る”ための技術開発を行った。原子間力顕微鏡下で1本鎖RNAを可視化する場合の最大の問題点は、「1本鎖RNAを如何に基板(通常は劈開した雲母片)上に吸着させるか」であり、さらに「1本鎖RNAの本来の高次構造を如何に保つか」である。これらの点を解決し、脇田班内で「9Kbの1本鎖RNA(HCV)の構造解析」を行った(図)。1本鎖RNAは分子内でワトソン・クリック型塩基対を形成し、多くの複雑なループ構造をとるため、RNAの全長を計測することはできない。一方、AFM解析で求めた体積は塩基長に比例することから、「体積測定がRNAを特定する」また「特定の分子内ループの存在はAFM画像から検出できる」ことが分かった。

●本年度は1本鎖RNA構造の中で、特異的ドメインを定量的・定性的に同定し、各種条件下での動態を明らかにした。たとえば、28S rRNAは7つのドメインに分けられ、各ドメインはMg²⁺存在下でRIG-Iはその3'末端側に結合することが分かった。

今後は感染体ゲノム-タンパク質複合体のナノメートルレベルの構造および感染体ゲノムの細胞内動態について領域内研究者と積極的に共同研究を進めたい。



細胞内ウイルス防御系とウイルスの攻防

研究代表者 藤田 尚志 京都大学ウイルス研究所・教授

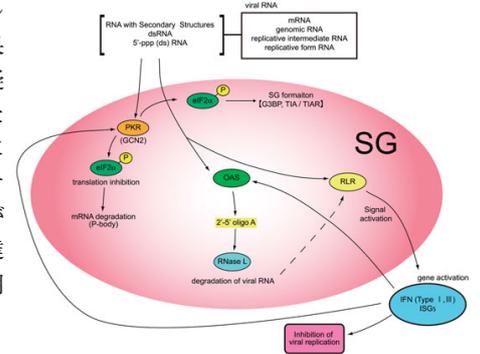
RIG-I様受容体はウイルス由来のRNAを感知して「自然免疫」を誘導する受容体である。本研究では細胞内で機能する自然免疫の正常な制御機構を解明し、様々なウイルスがどのような戦略でそれらを阻害しているかを明らかにする事で感染の細胞・組織特異性、種特異性（感染コンピテンシー）の理解を深める事を目的とする。

本研究は領域内外、および国内外の多様なウイルスの専門家と共同研究を行って、総合的な解析を行ない、個別論から一般論へと概念を創出することが特徴である。これらの知見は新興ウイルスなどによる致死的な感染症を制御するための基礎を提供するものであり、将来の感染症対策への応用が期待される。

「自然免疫」を誘導するウイルスRNAセンサーが解明されており、それ以降のシグナル分子の同定もされ、概要が明らかとなっている。しかし細胞内でのウイルス増殖複合体、センサー分子の活性化、シグナルアダプター分子群による情報の統合、転写因子の活性化によるゲノム情報の選択的読み取りまでの時空間的な理解にはほど遠い状況である。これまでの我々の解析によって、細胞集団の中でウイルス感染が起きた場合に、全ての細胞が画一的に反応するのではなく、それぞれの細胞は異なる反応をすることが明らかになった。本研究では集団の細胞での異なる反応がどのように統合され集団（個体）の運命が決定されるかを解明することを目指す。このためには生細胞を用いたシグナル分子のイメージング系の確立が必須である。

多くのウイルス感染細胞ではストレス顆粒に類似したRNA/蛋白質凝集体の形成（antiviral stress granule: avSG）が誘導され、そこにウイルスRNAセンサーであるRIG-I like receptors (RLR) が招集されること、その結果、インターフェロン遺伝子活性化が強く促進されることを報告してきた。ウイルス感染細胞ではウイルスの二重鎖RNAがPKRを活性化しその結果avSG誘導が起きるが、RNAヘリカーゼの1つであるDHX36がこのPKRの活性化に重要であることを見出した。すなわちウイルスRNAはDHX36/PKRを活性化し、

その結果avSGが誘導され、その中でRLRがウイルスRNAを効率的に感知するという機構が明らかとなった。RLRのシグナルはミトコンドリア上のアダプターであるIPS-1に伝達される。IPS-1の機能ドメインを詳細に解析した結果、RLRとの会合に必要なCARDは自身の凝集体形成に必要なものであるが、人為的にIPS-1を凝集させた時には不要であること、またシグナル伝達に必要なIPS-1の領域はTRAF結合ドメインであることを明らかにした。従ってIPS-1はCARDを介してRLRのシグナルを受け取り、その結果ミトコンドリア上で凝集し、その凝集したTRAF結合モチーフによってTRAF3, 6がそこに招集されることが下流へのシグナル伝達を引き起こすことが明らかとなった。



ウイルス感染細胞では侵入してきたウイルスRNA、あるいは細胞中で複製したウイルスRNAがストレス応答に類似した応答を引き起こす。ウイルス複製の結果生じる二重鎖RNAは蛋白質磷酸化酵素であるPKRを活性化し、その結果翻訳開始因子であるeIF2 α を磷酸化してストレス顆粒（SG）の形成を誘導する。SGには抗ウイルス蛋白質である2'-5'オリゴ合成酵素（OAS）とウイルスRNAの分解の機能を果たしているRNase L、RIG-I-like receptor (RLR) が局在しており抗ウイルス応答のプラットフォームとして機能する。SGに局在するウイルス二重鎖RNAはOASならびにRNase Lを活性化してウイルスRNAを切断し、RLRは二重鎖RNAによって活性化されインターフェロン遺伝子活性化等のシグナルを伝達する。以上、SG誘導は抗ウイルス応答として重要と考えられる。

細胞内ウイルス防御系とウイルスの攻防

藤田班 研究分担者 高折 晃史 京都大学大学院医学研究科・教授

APOBEC3は宿主に存在する強力な抗ウイルス因子であり、HIV-1感染過程におけるウイルス1本鎖DNA中間産物に多数の変異を導入することで抗ウイルス作用を発揮するが、HIV-1 Vifはこれに対抗することで、ウイルス複製を可能にしている。HIV-1 Vifは宿主のユビキチンリガーゼと複合体を形成し、APOBEC3のプロテアソーム系での分解を促進することにより機能しているが、近年転写補助因子であるCBF β がVifのユビキチンリガーゼとしての機能に必須であることが報告されており、VifとCBF β の相互作用につき、より詳細な解析を試みた。

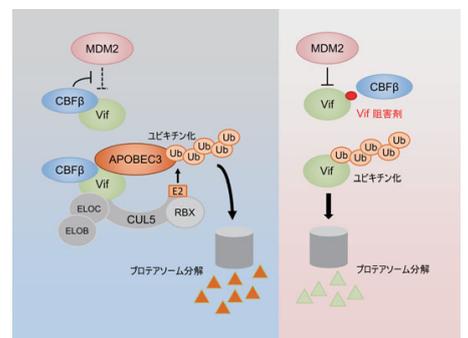
まず、CBF β と相互作用をするVifの残基としてE88/W89を同定した。これらをアラニンに置換したVif変異体ではCBF β との会合が起こらず、Vifの発現レベルが極度に低下し、VifによるAPOBEC3GやAPOBEC3Fの分解が減弱していた。また、この変異を持つHIV-1はAPOBEC3発現細胞での感染効率が著しく低下していた。

次に、CBF β がVifの機能を補助するメカニズムとして、VifのMDM2依存性分解を抑制することを見出した。前述のCBF β と会合しないVif変異体E88A/W89Aでは、Vifの発現が低下しているにもかかわらずMDM2と強く結合しており、MDM2依存性分解を強く受けることを示唆している。また、MDM2ノックアウト細胞で

はVif E88A/W89A変異体の分解速度は野生体と同等であり、CBF β のVif安定化作用はMDM2に対抗することが中心であることが示唆された。

さらに、MDM2によるVifの結合部位として新たにR93を同定した。R93E変異体ではMDM2との会合が起こらず、また、MDM2によるVifのレベル低下も見られなかった。この結果は前述したCBF β がVifのMDM2依存性分解を抑制するというメカニズムによく合致したものである。

VifはHIV-1の複製に必須の因子であり、新たな抗ウイルス療法の標的として注目されているが、我々の成果はVif阻害剤開発に向けての重要な分子の基盤となる可能性がある。すなわち、E88/W89には結合するが、R93には干渉しないような低分子化合物を有力なVif阻害剤として提案するものである。



麻疹ウイルスの細胞侵入とトロピズム

研究代表者 柳 雄介 九州大学大学院医学研究院ウイルス学・教授

われわれは、麻疹ウイルス (measles virus, MV) をモデルとして、ウイルストロピズムの分子基盤解明を目指している。MVのエンベロープには、受容体 (SLAM, nectin 4) と結合するH蛋白質と膜融合を担うF蛋白質の2つの糖蛋白質がある。H蛋白質は4量体、F蛋白質は3量体構造をとっている。H蛋白質はheadドメインで受容体と結合すると立体構造が変化し、その結果、膜貫通領域との間にあるstalk領域にも何らかの構造変化が起こり、それが隣のF蛋白質の大きな構造変化 (pre-fusion form からpost-fusion formへ) をtriggerして膜融合に至ると考えられている (図1)。これまでに、H蛋白質headドメイン4量体は、2量体の基本構造がさらに2量体を形成するdimer of dimers構造をしており、2量体同士の位置関係によりform 1とform 2があることを明らかにした (Hashiguchi, Nat Struct Mol Biol 2011)。また、2つの2量体間の界面を形成するアミノ酸残基に置換を導入すると、細胞表面発現、F蛋白質や受容体との結合に影響がないにも拘らず、膜融合の誘導が著しく低下することを見出した (Nakashima, JBC 2013)。この結果は、form 1とform 2間の構造変化が、F蛋白質のtriggeringに重要な意味を持つことを示唆している。現在、stalk領域を含むH蛋白質の構造解明に取り組んでおり、受容体との結合の有無でstalk領域にどのような変化が生じるかを明らかにすることにより、F蛋白質のtriggering機構の解明を目指している。MVは、SLAM陽性免疫細胞、nectin 4陽性上皮細胞に加え、SLAMもnectin 4も発現していない神経細胞に感染して亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) を起こすことが知られている。われわれは、SSPE患者由来のウイルス株の多くでF蛋白質の細胞外領域に変異が生じ、膜融合能が亢進していること、既知の受容体を発現していない細胞でも融合を誘導できることを明らかにし

た (Shirogane, Nat Commun 2012; Watanabe, J Virol 2013)。これらの変異F蛋白質は、野生型F蛋白質が膜融合を誘導できない25°Cでも膜融合を誘導することから、pre-fusion formが不安定化し、triggerされやすい状態になっていると考えられる (Watanabe, J Virol in press)。そのため、野生型F蛋白質がSLAMやnectin 4との結合によってのみtriggerされるのに対して、H蛋白質がそれら以外の分子と結合した場合でもtriggerされるのであろう。現在、そのような変異F蛋白質をtriggerできる神経細胞上の受容体の同定を進めている。ウイルスのトロピズムには、細胞侵入過程に加えて、ウイルスと宿主因子の相互作用が大きく関わっている。われわれは、これまでに麻疹ウイルスの増殖に重要な宿主蛋白質としてSHCBP1とcofilinを同定した (Ito, J Virol 2013)。これらの宿主蛋白質とトロピズムの関係について現在解析を進めている。

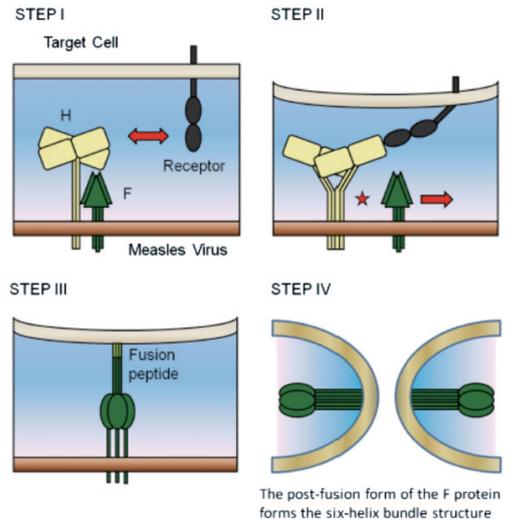


図 麻疹ウイルスによる膜融合

ヘルペスウイルスの宿主細胞選択機構の解明

柳班 研究分担者 荒瀬 尚 大阪大学微生物病研究所免疫化学分野・教授

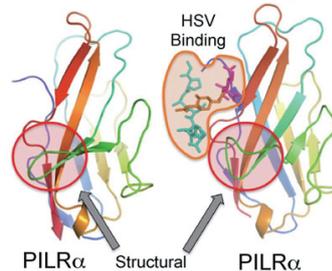
ヘルペスウイルス等の持続感染を引き起こすウイルスは、様々な免疫逃避機構を持っており、宿主免疫機構との相互作用がウイルスのトロピズムを決定する上で重要である。我々は、これらのウイルスの持続感染機構を明らかにするために、種々のヘルペスウイルスを用いてウイルス分子と宿主免疫分子との相互作用を研究してきた。その結果、免疫細胞を含めて様々な細胞に発現が認められる抑制化レセプターであるPILR α が、単純ヘルペスウイルス1型 (HSV1) のgBと会合し、HSV1感染時の膜融合に重要な機能を担っていることを明らかにした (Sato et al. Cell 2008)。さらに、神経組織に特異的に発現しPILR α と同様に水痘帯状疱疹ウイルスのgBのレセプターとなるMAGも新たに同定した (Suenaga et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2010)。このように、免疫レセプターは、単にウイルスによる免疫制御に利用されるばかりでなく、細胞内の侵入にも関与していることが明らかになり、ウイルスと免疫分子との相互作用の解明は、ウイルスの宿主への感染性を解明する上でも重要であると考えられる。そこで、本研究では、PILR α やMAGを介したウイルス感染時の膜融合の分子機構の解明や、様々なウイルスの細胞内侵入におけるこれらのレセプターの機能の解明を行ってきた。

まず、PILR α と単純ヘルペスウイルスのgBとの構造学的解析を実施したところ、PILR α には糖鎖認識部位と蛋白質認識部位の双方を持つユニークなレセプターであることが明らかになった。さらに、PILR α はgBと会合することによって構造変化が起こり、その結果、膜融合が引き起こされることが明らかになった (Kuroki et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014)。従って、PILR α の構造を基に

PILR α とgBとの結合を阻害することが、単純ヘルペスウイルスの感染防御に重要であると考えられた。

また、ヒトヘルペスウイルス6型 (HHV6) に関して膜融合機構の解析を行った。いままではHHV6の膜融合アッセイシステムがないため、どのような分子によって感染時の膜融合が引き起こされるかは明らかでなかった。その理由の一つとしてHHV6のgBが大腸菌にクローニングすることが困難であることにある。そこで、プロモーターを含むgBをPCRにて作成し、直接遺伝子導入に用いた。その結果、gB/gH/gL/gQ1/gQ2はCD46遺伝子導入細胞と強い膜融合を引き起こすことが判明した。一方、gQ1やgQ2がないと膜融合が引き起こされないため、gB/gH/gL/gQ1/gQ2の5種類のエンベロープ蛋白質がHHV-6の膜融合に必須であることが判明した (Tanaka et al. J. Virol. 2013)。今後は、さらに、ウイルスの宿主選択に関わる分子機構の解明を進める予定である。

HSV-1感染におけるPILR α の構造変化



Kuroki et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014

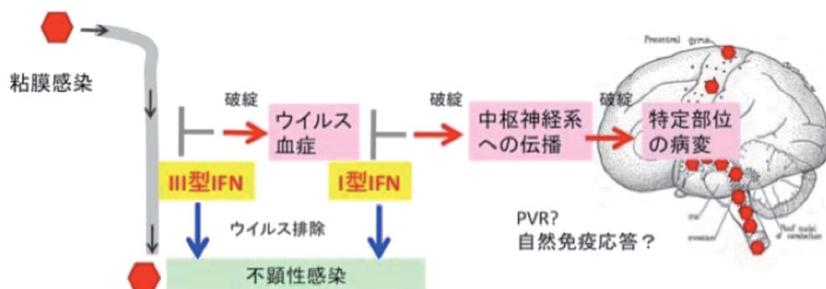
ウイルスの標的組織決定における攻防

研究代表者 小池 智 公益財団法人東京都医学総合研究所・研究員

ウイルスの感染の成立は、ウイルス受容体やウイルス複製に必要な宿主因子など正に働く因子群と自然免疫系などのウイルスを排除する負の因子群が存在する中でウイルスと宿主の攻防の結果決定される。各々の組織は正負の因子の発現レベル（「感染コンピテンシー」）の異なった細胞が混在している。ポリオウイルス（PV）やエンテロウイルス71（EV71）はヒトを宿主とし、経口感染後他の組織へ伝播していくが、標的とならない非神経系組織では僅かには増殖するものの激しい病変を生じない。一方で中枢神経系に達すると主に運動神経細胞で爆発的に増殖し、脊髄炎や脳炎を引き起こす。我々はPV、EV71をモデルとして、感染コンピテンシーの概念によりこれらのウイルスの感染組織特異性を決める原理を明らかにすることを目標としている。

ヒトPVレセプター（PVR）を発現するトランスジェニックマウス（PVR-Tgマウス）において、PVRはほぼ全臓器に発現しており、レセプター原理だけでは組織特異性は説明できない。これまでに、I型インターフェロン受容体（IFNAR）を欠損させたPVR-Tgマウスでは肝臓、脾臓などの非神経系組織においてもウイルス複製が見られ、宿主の自然免疫機構による増殖抑制が感染組織特異性の決定において主要な原因であることを明らかにしてきた。本研究計画において、我々はEV71の受容体としてScavenger receptor B2（SCARB2）を同定し、SCARB2-Tgマウスを作製した（Fujii et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013）。ヒト、Tgマウスに

おいてSCARB2は広範囲に発現が見られるが、ウイルス感染の標的となるのは延髄、橋、小脳核、脊髄の神経細胞で、中枢神経系以外の組織で効率のよいウイルス増殖は認められなかった。しかし、SCARB2-TgマウスにおいてもIFNAR1 KOにより、本来標的とならないはずの非中枢神経系組織でウイルスの増殖が認められるようになった。従ってI型IFNとの拮抗による組織特異性の決定はEV71にも一般化できることが判明した。また、PVR-Tg21マウスを用いて粘膜感染におけるIII型IFNの役割を検討した。III型IFNの受容体であるIFNLR1を欠損させることにより、胃内感染、経鼻感染の効率が上昇し、粘膜上皮での感染でIII型IFNが重要であることを見いだした。つまり、感染のステージによってウイルスは異なったIFNと折り合いをつけながら病原性を発揮する過程が明らかになってきた。



ポストゲノム解析による感染体-宿主ネットワーク

研究代表者 夏目 徹 産業技術総合研究所（AIST）、創薬分子プロファイリング研究センター（molprof）

生体を構成する個々の細胞には十数万種類のタンパク質が存在する。それらのタンパク質は、単独で機能するのではなく、常にグループ・組織を形成し、機能複合体を形成している。同様に、ウイルスの感染・侵入から、感染性ゲノムの複製・翻訳、ウイルス粒子へのパッケージング、そして放出に至るまで、そこにも、多くの宿主因子（タンパク質）の機能複合体とウイルス因子との相互作用が存在する。また、これらの相互作用は宿主生理機能系と競合しながら成立していると考えられる。

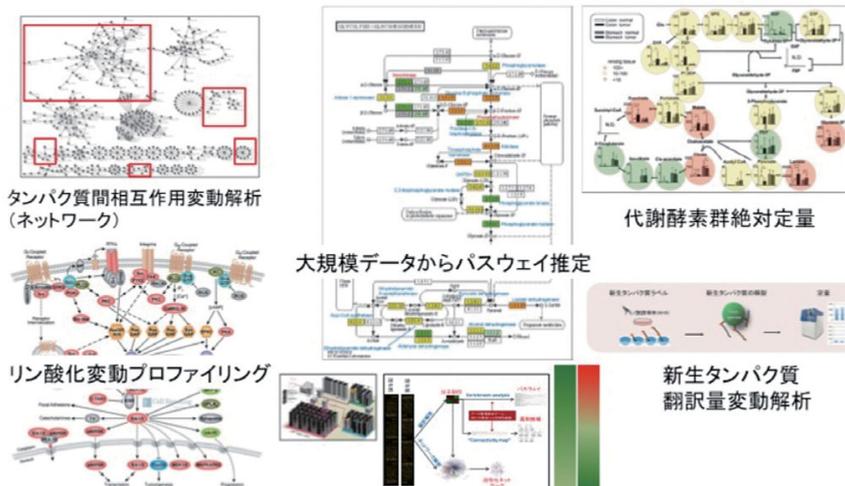
本計画では、研究代表者らが独自に開発整備してきた、世界に誇る超々高感度・ハイスループットな質量分析システムとヒト型汎用ロボットを活用し、(1) ウイルス因子と宿主因子の相互作用をネットワークとして網羅的に解析する。(2) それによって得られた情報から、感染体-宿主因子相互作用ネットワークを制御し、感染体制御が可能なタンパク質相互作用のターゲットを抽出する。(3) ターゲットタンパク質の相互作用界面をシミュレーションし、既知合成化合物から高効率・統一的な*in silico*のバーチャルスクリーニングも積極的に新規抗インフルエンザ薬のシーズ開発を目指している。

新領域開始当初より、領域内共同研究を積極的に実施し、感染体-宿主攻防に関わる重要な25分子のネットワーク解析を実施した。その結果、検

出した相互作用は、3,500以上に及ぶ。また、ハイスループットの新規な解析プラットフォームとしてリン酸化変動、代謝酵素絶対定量及び新生タンパク質翻訳量変動解析をシステムとして構築し、領域内に技術提供している。

さらに領域内共同研究で送出されたインフルエンザ治療薬の開発は、リード最適化の後期ステージへとステップアップし、製薬企業とのアライアンスも開始した。

領域内共通解析基盤：ハイスループットプロテオミクス解析プラットフォーム



miRNAが形成するコンピテンシーに関わる制御ネットワークの解析

夏目班 研究分担者 伊庭 英夫 東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 宿主寄生体学分野・教授

我々の研究室では、上皮細胞の特性やウイルス感受性に深く関与すると考えられる同一の前駆体 (pri-miRNA) から生じる miR-199a-5p、miR-199a-3pおよびmiR-214の3種類のmiRNAに注目して研究している。その過程で、これらのmiRNAが形成する制御ネットワークにより上皮癌細胞株はtype 1と2の2つの遺伝子発現様式のいずれか一方の定常状態を取るようになることを示した (Cancer Res., 71: 1680-9, 2010)。これまでにこの機構を詳しく解析し、double-negative feedback loopとそれにintegrateされる2つの feed forward loops が存在して、その結果としてCD44, Met, Cav-1, Cav-2の発現がall-or-nonに制御されていて、足場非依存的増殖をするtype1と、これができないtype2細胞株の生物活性が説明できることとなった (図、Scientific Reports *in press*)。

またこれまでに我々を含めた複数のグループから、ヘルペスウイルス、B型およびC型肝炎ウイルス、レトロ/レンチウイルス等の増殖が、miR-199a-5p/-3pによって抑制されることが報告されている。本研究では特に単純ヘルペスウイルス1型 (HSV-1) の増殖に与える影響に集中して解析を行っている。Pre-miR-199aを過剰発現させたtype1細胞株でHSV-1野生株の増殖は低下するがこの時、HSV-1遺伝子群の発現は抑制されないことから、感染後期に重要となる宿主因子が標的であることが示唆された。実際感染後期におけるHSV-1粒子を透過型電子顕微鏡で観察したところ、pre-miR-199a過剰発現下ではエンベロープの獲得効率が有意に減少することが明らかになったことから、miR-199a-5pあるいは-3pが、HSV-1のカプシドの輸送やエンベロープ形成に関与する宿主因

子を標的にすることが推測される。

これまでにmiRNA標的予測アルゴリズムによりmiR-199a-5p/-3pの標的候補分子をリストアップし、その中でmiR-199a過剰発現時に発現抑制が認められる分子をmRNAレベルおよびタンパク質レベルでスクリーニングした。特に、タンパク質発現量を網羅的に測定するために、産総研・夏目徹博士との共同研究で質量分析を行っている。絞り込んだ標的候補分子に対してshRNAによるノックダウンを行い、これまでにHSV-1増殖が低下する分子を複数種類同定した。現在type1/2の上皮細胞株の特性も念頭において、これまでに同定した標的分子の上流や下流の分子がどのようにHSV-1増殖と関わるのかを解析中である。

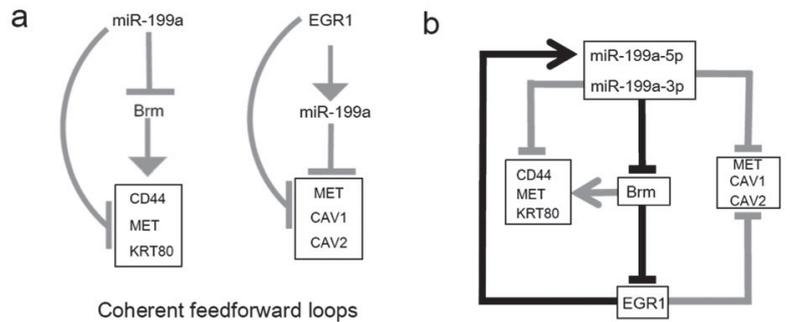


図 大多数のヒト上皮細胞株で見られる遺伝子制御ネットワークのモデル図 (a) 二つのfeedforward loopsがtype specific遺伝子発現をall-or-noneに制御している。(b) 一つのdouble-negative feedback loop (黒色矢印) に (a) に示されたfeedforward loops (灰色矢印) が取り込まれている。この結果type1細胞株では、Brm (+), EGR1 (-), miR-199a-5p/-3p (-), CD44 (+), MET (+), KTT80 (+), CAV1 (+), CAV2 (+) の発現を示し、type2細胞株は全く逆の発現様式を示す。

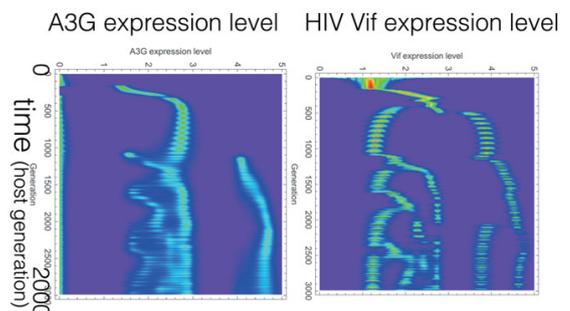
ウイルス-宿主攻防の数理科学解析

研究代表者 佐々木 顕 総合研究大学院大学 先端科学研究科・教授

- ヒトの対レトロウイルス防御タンパク質であるAPOBEC3G (A3G) と、それを阻害するHIVのタンパク質Vifの共進化の数理モデル化を行い、ウイルス突然変異率の最適化を巡る宿主とウイルスの攻防の進化動態モデルを構築した。A3Gによるウイルス突然変異率上昇とVifによる阻害による突然変異率の引き戻しの力のバランスにより、共進化過程がウイルス擬種分布の崩壊 (エラーカタストロフ) に至るか、突然変異率の過度の抑制による抗原エスケープ能を失うに至るか、ウイルスが両者をうまくバランスさせて最適な突然変異を維持できるか等の様々な共進化動態の帰結が可能であり、また、Vif/A3G発現量の共進化サイクルをもたらしうることを理論的に示した。
- 季節性インフルエンザウイルスの新系統について、抗原型の突然変異株が各年の患者数のピーク時より前に出現する系統が将来流行を起こす確率が高いこと、さらに新系統の流行は出現した年ではなく1年遅れになることを、ウイルス抗原型の抗原連続変異 (antigenic drift) による免疫からのエスケープと、宿主個体の獲得免疫状態変化のダイナミクスを組み合わせたシミュレーションと、解析的な近似理論によって明らかにした。
- インフルエンザウイルスやロタウイルスのように抗原性を変え続けて宿主免疫から逃れることで持続的流行を引き起こすウイルスに対しては、有効なワクチンの選定は困難を極める。しかし、一見予測不可能なウイルス抗原性の進化だが、その複雑な進化を駆動するのは、宿主集団の免疫状態の変化、ウイルスの突然変異

の過程、および流行の動態であり、その各々の理論的枠組みは徐々に整ってきた。ウイルス進化予測に対して残る最大の課題は、抗原情報の多次元性 (抗原性を決めるアミノ酸座位変異の組み合わせ数が膨大であること) にある。これに関して多次元尺度法を用いて低次元空間へ射影したウイルス抗原進化軌道の動態の理論構築と解析を進めており、これに関してインフルエンザのウイルス系統樹の単純性、流行の疫学動態特性 (流行ピークまでの時間など) とウイルスの進化速度と多様性について解析するための単純なモデルの構築と解析が進んだ。

- このほか、空間構造をもつ宿主集団のもとでの病原体進化の理論を発展させて、インフルエンザウイルスのcell-to-cell transmissionの進化とタミフル耐性の進化を解析する、「ただ乗り」ウイルスの排除するための植物ウイルスの感染多重度 (MOI) の進化などについても理論解析を行っている。



ウイルス-宿主攻防の数理科学解析：HIV多様性促進と抑制の機能的解析

佐々木 班 研究分担者 小柳 義夫 京都大学ウイルス研究所・教授

APOBEC3FによるHIV-1多様性誘導

APOBEC3F (A3F) とAPOBEC3G (A3G) はVifの異なるドメインと結合する。これらのウイルス抑制作用機序を数理科学解析から解明した。A3F非結合Vif変異体HIV-1 (4A)、A3G非結合Vif変異体HIV-1 (5A)、両非結合Vif変異体HIV-1 (4A5A) をヒト化マウスに接種し、それぞれの複製効率ならびにG→A置換の周辺塩基の選択パターン、そのウイルス集団頻度をDNAならびにRNA解析を行って明らかにした。A3Fは抗ウイルス作用を有するがウイルスの複製が優ることがあること、A3G変異パターンはTGGGからTAGGのもの、A3Fによる変異パターンはGAAからAAAが多かった。A3Gの抗HIV-1効果はA3Fよりも強力であること、一方、血漿ウイルスRNA配列解析から、A3Fによりその多様性が亢進していた。ウイルスが抑制される現象とそれが多様性を獲得する現象は相反するものではなく、A3Fの場合には作用イベント数の多寡により説明できることがわかった (PLoS Pathog 10: e1004453, 2014)。

実験と数理科学の融合解析によるA3FとA3Gの定量的解析

A3FとA3Gは、2つの経路によりウイルス複製を抑制する。第1の機構は、自身のシチジンデアミナーゼ活性依存的な経路である。ウイルスプラス鎖DNAに図の説明のようにG→A変異が挿入される。このG→A変異によってアミノ酸変異や終止コドン挿入が引き起こされ、ウイルスの感染性を欠失させる。第2の機構は、酵素活性非依存的な経路である。A3FとA3Gは核酸結合蛋白質であるから、HIV-1のマイナス鎖DNAに強固に結合する。それによりウイルスの逆転写反応を阻害する。A3FおよびA3GによるHIV-1複製抑制能をBliss法を用いて定量的に解析した。その結果、A3Gの抗ウイルス活性の99.3%は第1の機構 (酵素活性依存的経路) によるものであ

ること、一方、A3Fの抗ウイルス活性の30.2%は第2の機構 (酵素非活性依存的経路) によるものであることがわかった (JV 88: 5881-5887, 2014) (下図参照)。

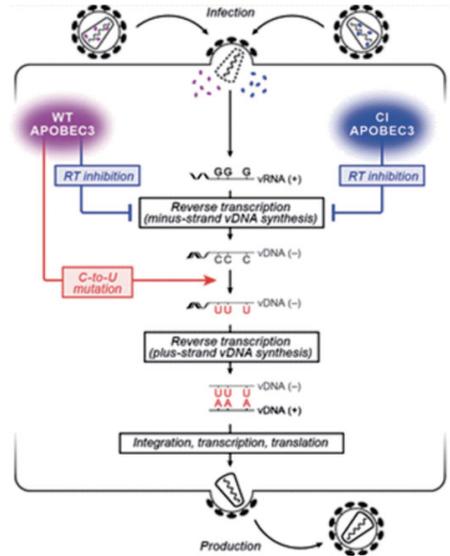


図 A3による抗ウイルス活性。第1の機構 (赤)：逆転写過程のウイルスマイナス鎖DNAのC (シトシン) を脱アミノ化し、T (チミン) へと変換させる (結果的に、相補的なウイルスプラス鎖DNAにはG [グアニン]→A [アデニン] 変異が挿入される)。このG→A変異によってウイルスの感染性を欠失させる。第2の機構 (青)：A3はHIV-1のマイナス鎖DNAに強固に結合する。それにより、ウイルスの逆転写反応を阻害する。野生型A3 (WT) は第1、第2の両方の機構によって抗ウイルス効果を発揮するのに対し (左)、酵素活性を欠失したA3 (catalytically inactive [CI]) は、第2の機構によってのみウイルス複製を阻害する (右)。

フィロウィルスの宿主域と受容体に関する研究

研究代表者 高田 礼人 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター・教授

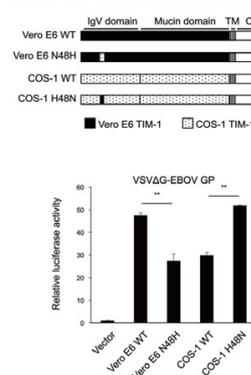
フィロウイルス科に属するエボラおよびマールブルグウイルスはヒトを含む霊長類に重篤な出血熱を引き起こす病原体として知られている。一方、同じフィロウイルス科に属するLloviuウイルスは、斃死したコウモリから遺伝子が検出されたが、感染性ウイルスが分離されていないため、コウモリ以外の動物に対する病原性は不明である。そこで、フィロウィルスの表面糖蛋白質を持つシュドタイプウイルスの感染性を様々な動物種由来の培養細胞と比較した結果、Lloviuウイルスは特定のコウモリ由来の細胞に高い指向性を示す一方で、霊長動物を含む多くの哺乳動物細胞に感染する可能性が示唆された。

これまでに、フィロウィルスの細胞への吸着および膜融合に関与する様々な宿主分子が報告されている一方、その分子メカニズムには不明な点が多い。その中で、T-cell immunoglobulin and Mucin domain 1 (TIM-1) は細胞外領域に機能ドメインであるIgVをもつI型の膜タンパク質であり、フィロウィルスの細胞への吸着に関与する分子として知られている。本研究では、様々なサル由来の細胞を用いて、フィロウイルス感受性に対するTIM-1多型の影響について解析した結果、IgVドメイン中の48番目のアミノ酸の違いがフィロウイルスに対する細胞の感受性を左右する要因の一つであることが示唆された。

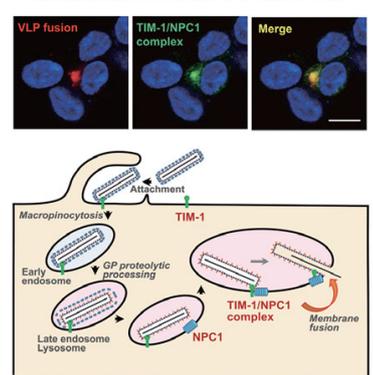
フィロウィルスの細胞侵入過程におけるウイルスおよび宿主分子の相互作用の解明を目的として、フィロウィルスの感染を阻害する抗TIM-1モノクローナル抗体M224/1の阻害メカニズムを解析した

結果、M224/1はウイルスの吸着ではなく膜融合を著しく阻害することが明らかとなった。また、TIM-1はフィロウィルスの膜融合に必須である宿主分子Niemann-Pick C1 (NPC1) と細胞内で結合し共局在することが判明した。さらに、M224/1はTIM-1とNPC1の結合を阻害することによってフィロウィルスの感染を阻害する事が示唆された。これらの結果は、TIM-1はウイルスの細胞への吸着だけでなく、膜融合にも関与している事を示している。また、ウイルスの細胞侵入過程におけるTIM-1とNPC1の結合阻害が薬剤開発の新たな標的となる可能性が示唆された。

TIM-1の遺伝子多形による細胞の感受性の変化



TIM-1とNPC1の相互作用とフィロウィルスの膜融合



ヒトサイトメガロウイルス感染により活性化されるパターン認識受容体活性化機構の解析

研究代表者 高岡 晃教 北海道大学遺伝子病制御研究所分子生体防御分野・教授

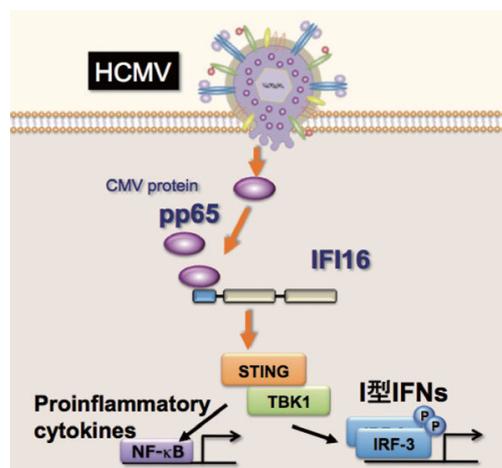
健康人に広く潜伏感染しながら、特に臓器移植患者などで重篤な感染症を引き起こすDNAウイルスであるヒトサイトメガロウイルス（HCMV）は、日和見病原体として臨床では大きな問題となっているが、その自然免疫認識機構についてはまだ十分に明らかにされていない。そこで、HCMV感染を認識するPRRの同定を試みた結果、既知のDNAセンサー分子の中でIFI16がHCMV感染による自然免疫応答の活性化に関与することを示唆した。一方、IFI16に会合するHCMV由来のタンパク質として、構造タンパク質pp65を見出した。このような結果を基に本研究では、HCMV感染によるIFI16経路の活性化の分子基盤を明らかにすることを目的とした。

我々はHCMV感染時に活性化される自然免疫応答に既知の細胞質DNAセンサー分子IFI16が関与することを見出したが、HCMV由来のDNAはIFI16に認識されない可能性を示唆され、IFI16はHCMV由来の未知なる因子を認識している可能性が考えられた。

一方、IFI16に会合することを新たに見出した。HCMV由来の構造タンパク質pp65を細胞に過剰発現しただけでもIFN-βの発現誘導が認められ、その自然免疫応答の活性化は、IFI16依存的であった。これらのことから、IFI16はHCMV感染時において、その構造タンパク質pp65を認識することで、自然免疫応答を活性化している可能性が考えられた。さらに、pp65欠損HCMVを用いた実験により、実際のHCMV感染時においてpp65が自然免疫応答を活性化することが確認された。IFI16とpp65の会合特性について検討すると、これまで報告されていたIFI16のDNA認識部位とは異なる部位にpp65が会合することが見出され、IFI16はDNA認識とは異なる機構によって、pp65を認識していることが示唆された。一方、pp65は宿主のキナーゼによってリン酸化修飾を受け、かつそれ自身キナ

ーゼ活性を有することが報告されていることから、pp65のタンパク質修飾によるIFI16認識経路への影響についての検討を行った。その結果、IFI16との会合性に対するpp65のリン酸化の関与は認められなかった。また、pp65のキナーゼ活性のIFI16経路への影響を検討すると、IFI16との会合に異常は認められず、そのキナーゼ変異体pp65を細胞に過剰発現させても自然免疫応答は認められなかった。このことは、pp65のキナーゼ作用にIFI16経路をONにする役割があることを示唆していると考えている。

今回のこのような結果は、HCMV由来のpp65のキナーゼ活性がIFI16経路を活性化してI型IFNの誘導に寄与していることを示唆している。なぜ、HCMVが抗ウイルス活性を持つIFNを誘導するのか、HCMV側にとっての利点などにも焦点を当て、ウイルスと宿主の相互作用における、新たな局面を展開することに貢献していきたい。最後になりましたが、今回このような機会をいただきましたことを心より感謝申し上げます。



宿主RNA結合タンパク質を介したウイルス感染コンピテンシー制御の解析

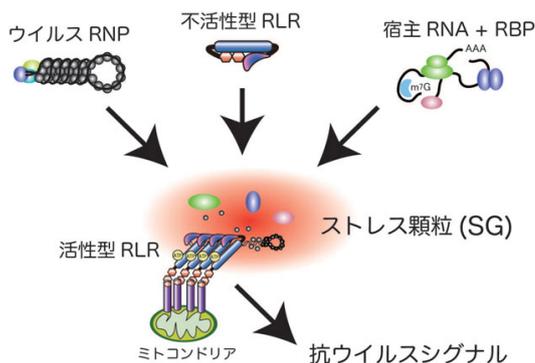
研究代表者 米山 光俊 千葉大学真菌医学研究センター・教授

本研究では、感染に応答した自然免疫誘導機構に注目し、パターン認識受容体分子がどのようにして病原体を検知してシグナルを伝達しその生理機能を発揮するのかについて、主に宿主RNA結合タンパク質（RBP）を介した制御メカニズムの解析を行うことにより、ウイルス感染に対するコンピテンシー制御の分子基盤を理解することを目的としている。

これまでの解析から、ウイルス由来非自己RNAを認識する細胞内センサーであるRIG-I-like receptor（RLR）が、インフルエンザAウイルス（IAV）などの感染に応答してストレス顆粒（stress granule: SG）様の凝集体に集積し、そこを非自己RNA認識の「場」として利用していることを示した。本研究では、そこに関わる制御因子を同定し、その機能を明らかにすることを旨とした解析を行った。藤田班との共同研究では、DHX36などのいくつかのRBPがここに関与していることを明らかにし、逆にウイルスタンパク質が積極的にSG形成を抑制することで宿主自然免疫を抑制していることを明らかにした。さらに、網羅的なSGコンポーネントの同定を旨とした解析を行った結果、これまで生化学的解析が困難であったSGの部分精製に成功し、その構成成分を夏目班との共同研究で明らかにした。その中の候補因子として、複数のRBPについて詳細な機能解析を行っている。

一方で、ウイルス感染時に感染細胞内に出現するウイルスリボ核蛋白質複合体（RNP）がどのようにRLRによって認識されている

のかを明らかにする解析も行った。リコンビナントRIG-Iタンパク質を用い、RIG-Iシグナル活性化を*in vitro*で再構成系する実験系を構築し、基質RNAの添加により下流の転写因子IFN regulatory factor 3（IRF-3）が活性化（二量体形成）することを確認した。さらにそこへ永田班との共同研究で調整したIAVのモデルRNPを導入することにより、ウイルスRNP依存的なシグナル活性化を検出することが可能となった。実際にRIG-Iが単独でこのRNPを認識しているかどうかを明確にするために、脇田/竹安班の協力を仰ぎ、原子間力顕微鏡での可視化の検討を進めている。本研究をさらに進展させることにより、RIG-IによるウイルスRNP検知の分子機構の解析を通じた宿主感染コンピテンシー制御の理解を深めたい。



宿主細胞によるウイルス由来RNA認識の構造生物学的研究

研究代表者 大戸 梅治 東京大学大学院薬学系研究科・講師

TLR8はウイルスやバクテリア由来の一本鎖RNAを認識し自然免疫を活性化させ、炎症性サイトカインやI型インターフェロンの発現を誘導する。一方で、TLR8はイミダゾキノリン系の合成低分子化合物によっても活性化される。これまでに我々はTLR8単体およびTLR8とイミダゾキノリン系化合物の複合体の結晶構造を報告し、TLR8の2量体構造がリガンド依存的に構造変化を起こすことで活性化されることを明らかにしている (Science, 2013)。しかし、天然リガンドである一本鎖RNAの認識機構は不明であった。そこで、TLR8と一本鎖RNAとの複合体の結晶構造解析を行った。

ヒトTLR8の細胞外ドメインと20-merの一本鎖RNAのORN06、ssRNA40、およびS化ORN06 (ORN06S) との共結晶化を行い、それぞれ構造決定に成功した (Nat Struct Mol Biol, in press)。いずれのRNA複合体構造もすでに報告した低分子リガンド複合体の2量体構造と類似しており、細胞外メインのC末端側が向かい合う形の活性化型の2量体を形成していた。意外なことに、RNA複合体構造中で20-merの一本鎖RNAの電子密度は確認できなかった。その代わりにRNAの分解産物と思われる電子密度が2ヶ所の結合部位で確認された (図、サイト1、サイト2)。サイト1は低分子リガンドが結合していた場所に相当しており、電子密度からウリジンモノヌクレオチドが結合していると断定した。また、サイト2はTLR8の馬蹄型構造の内側に存在しており、RNA配列からUGをアサインした。変異体を用いたリポーターアッセイの結果より、サイト1とサイト2いずれの結合部位もRNAへの応答に重要であることが分かった。さらに、TLR8との結合をITCで調べたところ、モノヌクレオチド

のなかでウリジンが最も結合が強いことが明らかになった。

上記の結果より、これまでTLR8は一本鎖RNAを認識する受容体だと考えられていたが、実際にはRNAが分解されて生じた短いRNAとウリジンモノヌクレオチドを同時に認識して活性化されるのではないかと結論付けた。この知見は、TLR8の活性を制御する薬剤を設計する際の重要な構造基盤を与えるものである。

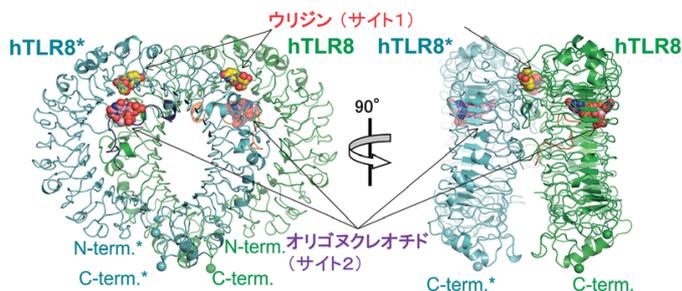
参考文献

*Tanji, H., *Ohto, U., Shibata, T., Taoka, M., Yamauchi, Y., Isobe, T., Miyake, K., & Shimizu, T.

Toll-like receptor 8 senses degradation products of single-stranded RNA.

Nat Struct Mol Biol (in press) (*equally contributed)

一本鎖RNA結合型TLR8



ウイルス増殖機構のメゾスケール解析

研究代表者 野田 岳志

東京大学医科学研究所 感染症国際研究センター 微細構造ウイルス学分野・准教授 独立行政法人 科学技術振興機構 さきがけ

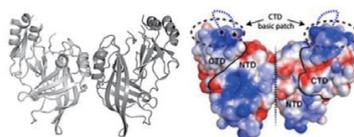
2014年にノーベル化学賞の受賞対象となった超解像顕微鏡の開発は言うまでもなく、近年の顕微鏡装置・技術の進化は、ソフト面でもハード面でも目覚ましいものがあります。従来の顕微鏡法では得ることのできなかった時間・空間分解能で生命現象を実際に可視化することが可能になり、種々の顕微鏡技術を駆使した視覚的な解析から、今後も新たな知見・予想を覆すような発見が得られることが期待されます。本研究の目的は、マイナス鎖RNAウイルスの細胞内増殖機構をメゾスケールで視覚的に明らかにすることです。これまでに、ウイルス感染におけるウイルスタンパク質複合体の微細構造変化ならびにウイルス感染に伴う細胞性因子の微細構造変化に着目し、電子顕微鏡や高速原子間力顕微鏡を用いて、ナノ・メゾスケールレベルでの視覚的なウイルス増殖機構の解析を行ってきました。

エボラウイルスをモデルとした研究では、米国Scripps研究所・EO Sapphire教授との共同研究により、マトリックス蛋白質P40の分子構造を明らかにしました (ZA Bornholdt, T Noda *et al.*, Cell, 2013)。得られた分子構造から種々の変異体を作成し、Virus-like particleの形成能を共焦点顕微鏡・電子顕微鏡で解析することで、VP40が担うウイルス粒子形成機構を明らかにしました。インフルエンザウイルスをモデルとした研究では、ゲノム転写におけるRNPの動態を明らかにするため、RNPを酵素源とした*in vitro* transcription assayと高速原子間力顕微鏡・クライオ電子顕微鏡解

析を組み合わせた研究を進めています。これまでに、mRNA合成の際にRNPの螺旋構造に変化が生じることを明らかにしました。今後は、クライオトモグラフィーを用いたRNPの立体構造解析と、高速原子間力顕微鏡を用いた転写反応中のRNPのライブイメージング解析を行い、微細構造学的観点からインフルエンザウイルスRNPの転写機構を明らかにしたいと考えています。

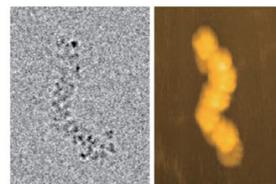
私事ですが、本領域参加中の平成26年8月に研究室を立ち上げました。ウイルスの細胞内増殖機構や視覚的な解析に興味のある修士・博士課程の学生・ポスドクを募集しています。興味のある方はぜひご連絡ください。

VP40の分子構造



X線結晶構造解析

RNPの微細構造



CryoEM

HS-AFM

単純ヘルペスウイルスと宿主細胞間の分子攻防の網羅的解析

研究代表者 加藤 哲久 東京大学医科学研究所・助教

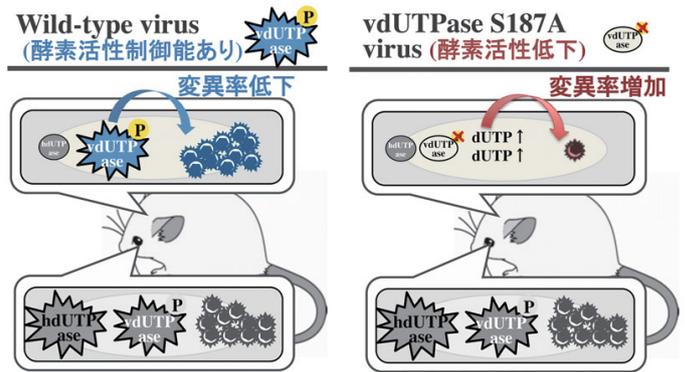
本研究は、質量解析計を駆使し、単純ヘルペスウイルス (HSV) がコードするウイルス因子と宿主因子の相互作用に基づく、ウイルス病態発現機構および宿主細胞制御機構を解明することを目標とした。

我々は、リン酸化ペプチドの特異的濃縮方法を利用したリン酸化プロテオーム解析により、HSV感染細胞における607種類のリン酸化部位を同定した (J. Virol. 88: 655-666. [2014a])。本解析で同定されたウイルス因子vdUTPase Ser-187のリン酸化は、マウス病態モデルにおいて、HSVの効率的な中枢神経破壊能に必要である一方、末梢組織における病態発現能 (ヘルペス性角膜炎等) には影響が認められなかった (J. Virol. 88: 2775-2785. [2014b])。本表現型の分子機構を探索した結果、Ser-187のリン酸化は、vdUTPaseの酵素活性を促進することで、宿主細胞がコードするdUTPaseの酵素活性が低い環境下 (Ex. 脳) においても、十分なdUTPase活性を供給し、正確なHSVゲノム複製を維持し、HSVゲノムの変異率を低下させ、HSVの中枢神経破壊能を高めることが明らかとなった (J. Virol. 88: 7776-7785. [2014c], J. Virol. 89:241-8. [2015], 右図参照)。本知見は、HSVの遺伝子治療用ベクター開発や腫瘍溶解治療法等の医学応用上、重要な基礎的知見となりうると考えられる。

次に、定量的リン酸化プロテオーム解析により、HSVがコードするウイルス特異的なプロテインキナーゼであるUs3が司る宿主細胞因子のリン酸化部位を包括的に探索した。一連の解析から、我々

はUs3がEndosomal sorting protein SNX3 Ser-72のリン酸化を介して、逆行性小胞輸送経路を活性化することで、ウイルス因子のLysosomal Degradationを阻害し、効率的な子孫ウイルスの産生を促進することを明らかにしつつある。

質量解析は感染現象の解析法として、近年盛んに利用されている。ウイルス因子と複合体を形成する宿主因子の同定、ウイルス粒子構成因子の同定、ウイルス感染時のエキソソーム成分の同定等、包括的な情報が次々と解明されている。我々は、本研究で解明された包括的なリン酸化情報を基盤し、今後も精力的にHSV研究を展開する予定である。



ウイルスと宿主の蛋白質間相互作用による抗ウイルス効果の抑制と再活性化の構造基盤

研究代表者 片平 正人 京都大学・エネルギー理工学研究所・教授

ヒトのAPOBEC3Gタンパク質 (A3G) は、HIVのプラス鎖ゲノムRNAから中間体として生成されるマイナス鎖DNAに作用し、シトシン塩基を脱アミノ化してウラシル塩基に変換する。これによってHIVの遺伝情報は破壊され、A3Gは抗HIV活性を発揮する。CCC配列の3番目のシトシン塩基が脱アミノ化反応の標的となる。我々が開発したNMRシグナルを用いたリアルタイムでの反応のモニタリング (EMBO J.) により、CCC配列が5' 端近くに位置するほど脱アミノ化反応が早く進行する事が見出された (図左図)。カイネティックモデルを構築して測定結果を解析した結果、A3Gの脱アミノ化反応の触媒活性は、A3GがDNA上を上流に向かってスライディングしながらCCCに到達した際の方が、下流に向かってスライディングしながらCCCに到達した際より大きい事が分かった (図右図) (Angewandte Chem. Int. Ed., 2014)。また変異体DNAを用いた解析より、A3GのスライディングにはDNAのリン酸基との静電相互作用が寄与している事が示唆された。反応速度のイオン強度依存性を調べた結果、この考えが支持された。

A3Gと標的1本鎖DNAとの相互作用様式に関する情報は乏しい。そこで、標的DNAの残基を一個ずつ順にリボヌクレオチドないしはエイベイシックデオキシヌクレオチドに置換した変異体DNAを用意し、脱アミノ化反応をリアルタイムNMR法によって追跡した。その結果CCC配列及びその両隣の合計5個の残基の糖と塩基が、A3Gと直接的・間接的に相互作用して酵素反応に関与している事が分かった。

A3Gがシトシンに加えてエピジェネティックマ

ーカーである5メチルシトシンも脱アミノ化するのかを、リアルタイムNMR法によって検証した。その結果反応速度は低いが、A3Gは5メチルシトシンも脱アミノ化する事が初めて分かった。

HIVのVifタンパク質は、A3Gに結合しこれを不活化する。我々はヒトのヒートショックタンパク質70 (Hsp70) がVifと相互作用する事で、A3Gの抗HIV活性を復活させる事を見出している (J. Biol. Chem.)。そこでHsp70とVifの相互作用様式を構造的に解析して、A3Gの抗HIV活性復活のメカニズムを明らかにする事を進行させている。Vifは単体では難溶性で不安定であるが、CBFβ、EloB、EloC及びCul5の各タンパク質と5者複合体を形成する事で可溶性し、安定に存在する。Vifを含めた合計5つのタンパク質の発現系を構築し、これらを共発現する事で相互作用解析に供するVifを得る事とした。これまでに5つのタンパク質に関して発現系を構築し、実際にタンパク質が発現する事を確認できている。

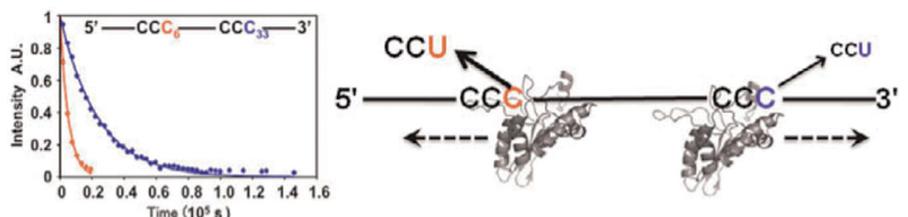


図 (左) CCCの3つ目のシトシン塩基における脱アミノ化反応を、リアルタイムNMR法によって追跡。5'端近くのCCCの方が早く反応する事が見出された。(右) カイネティックモデルを用いた測定結果の解析より、上流に向かいながらCCCに到達したA3Gの方が、下流に向かいながらCCCに到達したA3Gより触媒活性が大きい事が分かった。

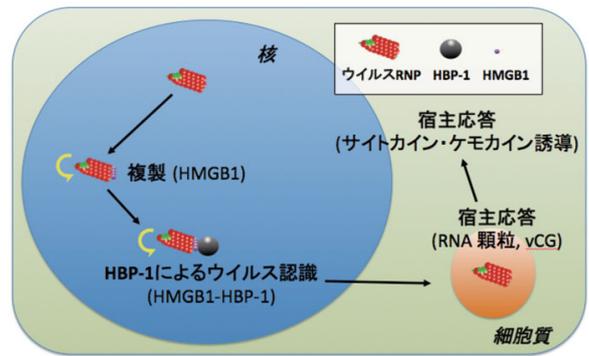
核内ウイルスRNAに対する宿主認識・応答機構の解明

研究代表者 本田 知之 京都大学ウイルス研究所 ヒトがんウイルス研究分野・助教

ウイルス感染による宿主細胞への病原性は、ウイルスの増殖能と宿主の抗ウイルス防御機構との攻防により決定される。宿主の抗ウイルス防御機構は、まず、宿主がウイルス核酸を認識することで誘導される。これまでに、ウイルス核酸を検知するセンサー分子として、RIG-Iなどの分子が報告されている。これらはすべて、細胞質に局在している。一方、ウイルスには、細胞質ではなく核内に侵入し増殖するものも存在する。宿主の核内DNAウイルス検知機構については、最近、核内DNAセンサー分子が同定された。しかし、核内RNAウイルス検知機構については、未だ手がかりすら見だされていなかった。本研究では、核に持続感染するRNAウイルス・ボルナ病ウイルス (BDV) を用いて、宿主の核内ウイルスRNA検知機構の解明を試みた。

私たちはこれまでに、宿主分子HMGB1 (high mobility group box 1) が、BDVのリボタンパク複合体 (RNP) と相互作用し、BDV複製に必須な分子であることを報告してきた。一方で、HMGB1は、様々な非自己核酸に対する宿主の初期核酸センサーとして機能し、自然免疫惹起に必須であることが知られていた。そこで、私たちは、BDV RNP-HMGB1複合体が宿主のウイルスRNA認識複合体であるという作業仮説を立て検討した。その結果、核内でBDV RNAを検知するセンサー分子として、HBP-1 (HMGB1 binding protein-1) を見出した。HBP-1は、核内でBDV RNPおよびHMGB1と共局在した。HBP-1ロックアウトにより、BDV増殖は促進した。トランスクリプトーム解析により、BDV感染時のサイ

トカインやケモカインの発現誘導は、HBP-1依存性であることが明らかとなった。HBP-1が宿主の抗ウイルス応答を引き起こすメカニズムとして、HBP-1がBDV RNPを含むストレス顆粒様RNA顆粒vCG (viral cytoplasmic granule) を形成すること、vCG形成がサイトカインなどの発現誘導に必要であることを見出した。本研究により、核内ウイルスRNAを宿主が検知し応答する機構の概要が明らかとなった。今後は、核内ウイルスRNA検知におけるHMGB1の役割の詳細やvCGの実態を明らかにし、核内ウイルスRNA認識機構を標的とする新しい免疫調整戦略の提唱に繋げていきたい。



植物RNAウイルスと宿主の翻訳・複製における攻防

研究代表者 奥野 哲郎 京都大学農学研究科・教授

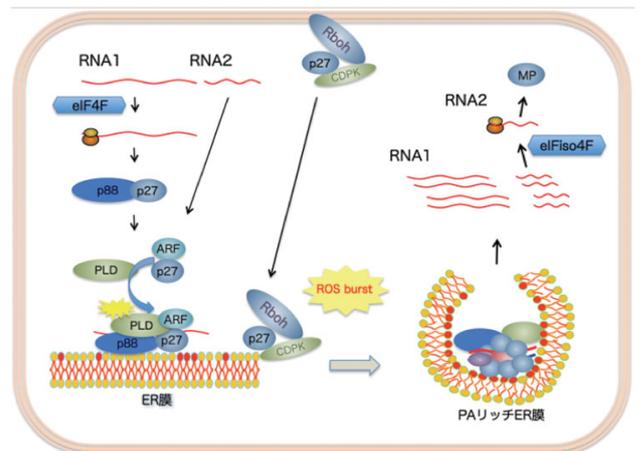
ウイルスは効率よく複製するために様々な宿主因子を利用し、細胞内環境を改変、宿主抵抗性を抑制・回避する能力を進化の過程で獲得してきたと考えられる。本研究では植物RNAウイルスが翻訳と複製に利用する宿主タンパク質の機能と役割を解明し、ウイルス-宿主間で繰り返られる攻防の分子機構を明らかにする。

Red clover necrotic mosaic virus (RCNMV) のゲノムはキャップ構造とpoly (A) を持たないRNA1とRNA2から成る。RNA1はRNA複製タンパク質p27とp88及び外被タンパク質を、RNA2はウイルスの細胞間移行に必要な移行タンパク質 (MP) をコードしている。

翻訳機構研究では、シロイヌナズナ変異体を用いた遺伝学的解析と*in vitro*翻訳・複製系を用いた生化学的解析から、RNA1はeIF4EとeIF4G、RNA2はeIFiso4EとeIFiso4G1というそれぞれ別の翻訳開始因子をキャップ非依存的翻訳に利用することが分かった。その生物学的意義については今後の研究を待たねばならないが、いずれの遺伝子もRCNMV抵抗性遺伝子として利用できることが示唆された。

複製機構研究では、免疫生化学的手法と質量分析法を用いてp27あるいはp88と相互作用する多くの宿主タンパク質を同定した。ホスファチジン酸 (PA) 産生酵素であるホスホリパーゼD (PLD) はp88と結合し、p27と結合する膜輸送系関連small GTPase Arf1とER膜に共局在した。これらのタンパク質はウイルスRNA複製に必要で、ウイルスRNA複製工場形成に必要な膜構造改変において重要な役割をもつことが示唆された。また、p27はカルシウム依存性タンパク質キナーゼ (CDPK) と植物のNADPHオキシダーゼであるRbohいずれとも相互作用してER膜で共局在し、細胞内での活性酸素種 (ROS) 産生を促進した。一方、フラビン酵素阻害剤DPI

で細胞内ROS産生を阻害するとウイルスRNA複製は阻害された。すなわち、RCNMVはp27により細胞内で積極的にROS産生を促進し、ROSにより誘導されるタンパク質修飾等を介した細胞代謝変動をRNA複製に利用することが示唆された。これらの知見はウイルス-宿主間分子ネットワークのさらなる解明に繋がることが期待される。



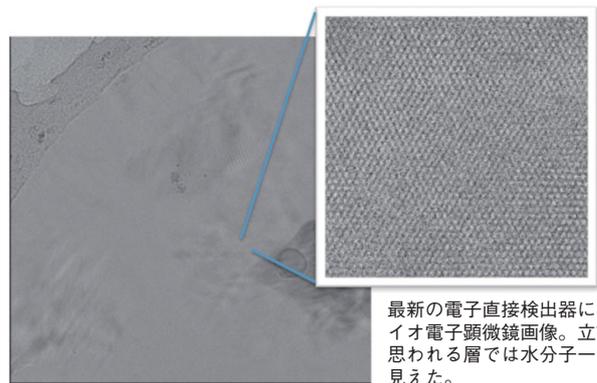
RCNMVの複製モデル

インフルエンザRNAポリメラーゼ全体構造の解明

研究代表者 岩崎 憲治 大阪大学・蛋白質研究所・准教授

インフルエンザRNAポリメラーゼは、ウイルスのRNAゲノムを転写し、mRNAを産出するだけでなく、ゲノムの完全長を複製する。この二つの機能をもつ酵素のメカニズム解明のために、その構造解明が切望されていた。PA、PB1、PB2の3つのサブユニットからなるヘテロ三量体であり、その部分構造は、本領域の朴三用博士らによって精力的に解かれていた。そして遂に2014年12月にコウモリ由来のインフルエンザA型 RNAポリメラーゼの全体構造がフランスのグループによってNature誌に報告された。同グループはさらに同号に連報としてヒトB型インフルエンザウイルスのポリメラーゼの結晶構造も掲載し、二つのインフルエンザRNAポリメラーゼの構造の比較から、RNA合成開始の機構に言及している。合成反応の前開始段階の原子構造が報告されたことで、構造学的な研究の新たな課題が上ってきた。転写状態の構造を求め、前開始状態からの大きな構造変化によってその合成反応が起こるのか、それを解明するのが、本研究計画の骨子であり、まさに当初からの計画に合致する。この研究計画実行を最新の電子顕微鏡イメージング法を使って行っている。電子顕微鏡界では、革命的な出来事が起きた。2013年暮れより相次いでトップジャーナルを飾る電子顕微鏡を使ったタンパク質の近原子分解能構造は、この革命によるものである。それは第二世代電子直接検出カメラの登場であり、2013年度終わりに私が所属する蛋白質研究所にクライオ電子顕微鏡とともに納入された。この立ち上げ等を行い、2014年10月に本格的にデータ取得が可能になった。それまでは、NPを含むvRNPの構造解析にネガティブ染色

法を使って挑んでいたが、2014年暮れより本クライオ電子顕微鏡を使い、筑波大川口敦史博士の協力を得てNPを除いたヒトインフルエンザRNAポリメラーゼのRNA合成反応時の構造解析を始めた。これまでの電子顕微鏡用カメラでは、小さな分子の凍結試料（無染色であり、水和した生の試料）は、高分解能可視化が難しかった。しかし、この最新の電子直接検出器では、わずか300kDaの膜タンパク質の構造を3.3Å分解能で得た実績をもっている（米国の報告）。我々のところではさらにエナジーフィルターとの組合せで低倍でも明瞭に観察でき、インフルエンザRNAポリメラーゼデータの画像取得に成功した。現在、鋭意解析中である。



最新の電子直接検出器によるクライオ電子顕微鏡画像。立方晶氷と思われる層では水分子一つ一つが見えた。

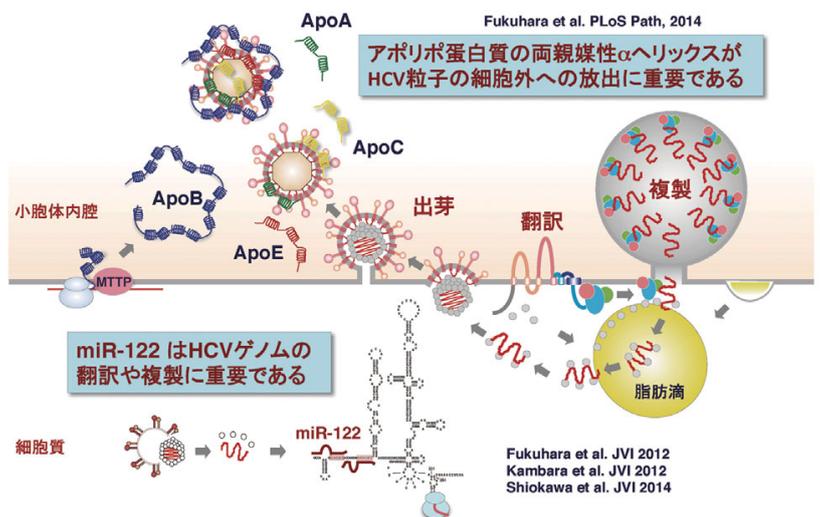
C型肝炎ウイルスの組織親和性の解析

研究代表者 松浦 善治 大阪大学微生物病研究所分子ウイルス分野・教授

C型肝炎ウイルス（HCV）は肝硬変や肝細胞癌の主要な原因ウイルスである。これまでの研究によって、HCVゲノムの翻訳と複製には肝臓特異的なmiR-122が、また、感染性粒子の産生には脂質代謝系が重要であることが明らかにされた。しかしながら、これらの宿主因子がどのような機序でHCVの親和性を規定しているのかは不明な点が多い。本研究では、miR-122やVLDL（Very Low-Density Lipoprotein）関連因子等の肝臓特異的に発現している宿主因子が、HCVの肝臓親和性を規定する上で重要な役割を演じていることを報告した（Kambara et al., JVI 2012, Fukuhara et al. JVI 2012）。また、 α -fetoproteinの発現を指標にして肝機能を保持したヒト細胞株を検索し、胃癌由来のFU97細胞がmiR-122やVLDL関連因子を高発現しており、何も手を加えなくてもHuh7細胞と同等のHCV感受性を示すことを見いだした。FU97細胞は薬剤やウイルス株に対して、肝臓由来のHuh7細胞とは異なる感受性を示すことから、HCVの増殖に関与する新しい宿主因子や新規治療薬の探索への応用が期待される（Shiokawa et al., JVI 2014）。さらに、リポ蛋白質に結合するアポリポ蛋白質の両親媒性 α ヘリックス領域がウイルス粒子に結合することが、HCVの放出に重要であることを明らかにした（Fukuhara et al., PLoS Pathogens 2014）。

また、HCVの慢性感染は肝疾病以外にも種々の肝外病変を誘発し、様々な組織でHCVゲノムが検出されていることから、HCVは非肝臓組織に潜伏感染している可能性が考えられる。非肝臓組織では、miR-122は発

現しておらず、また、アポリポ蛋白質の発現も極めて低いことから、どのような機構でHCVが増殖しているのかは不明である。今後、miR-122を欠損させたHuh7細胞株で複製可能なHCVの変異株を取得し、miR-122非依存的な複製機構を解明したい。また、非肝臓細胞では、HCV粒子の放出に重要なアポリポ蛋白質の機能を他の宿主因子が代替している可能性が考えられるため、アポリポ蛋白質の機能を代替可能な宿主因子を明らかにしたい。



ウイルス感染時の細胞・個体レベルでの網羅的状态把握法の確立とその応用

研究代表者 **たなか (新矢) きょうこ** 生物学的応用：滋慶医療科学大学院大学 客員教授
鈴木 泰博 理論・計算学：名古屋大学情報科学研究科 准教授
呂 ひろし 同 博士課程学生
藤江 正宏、角田 健治 同 卒業生
冨永 和人 Webプログラム構成：和情報網

人体では、多くのフィードバックによる自動制御系が複雑にかかりあって恒常性が保たれている。細胞・身体におこる「死」では、それら自動制御系の均衡が保たれず不可逆の状態に陥る。致死までの限界閾値を引き上げたい場合には、可逆/不可逆の決定因子を知ることが重要である。したがって、よりの確に早くその決定因子を抽出可能にする方法を知ることは重要である。

現在の生物学領域でのアプローチ法は、以下の2つに大別される。

1. 個々の因子と相互作用をすべて調べる
2. 全体の関係から個別因子へと調べていく

蛋白質を例にとると、10万以上あるといわれる総蛋白質数の中のすべての相互関係ネットワーク化は多大な労力が必要である。個々の因子と相互作用をすべて調べていくアプローチには作業の全自動化導入が必須で、さらに、未知の分子・分子間相互作用・クロストークなどの未知のものに至っては対応が困難である。

一方、全体像から個別因子へと調べていく方法は、一旦、包括的な解析作業をおこなう。これは、未知の因子を包含したまま解析が進められる点において前者に比べて優位であると思われる。しかしながら、群間比較で、対象群と比較して変動の最も大きい因子群を抽出し、その因子群の中から、重要因子と判断したものを人為的に選出する方法は、解析の初段階では全データを客観的に扱いながらも、後に続く解析で偏狭な解釈に影響される不安が拭いきれない。結果として、可逆/不可逆の決定因子を効率よく探索するためには、別の工夫が必要だと考えられた。

名古屋大学情報科学研究科の鈴木先生や学生さんと試行錯誤を繰り返し、鈴木先生から、「複数の因子が自律的にバランスを取る仕

組みが存在する。そして、それについて、典型的なふるまいをする数理モデルもすでに確立されている。」という情報を得た (Suzuki et al., eds.: WSH 2011 and IWNC 2012, PICT 6, pp. 49-70, 2013; Pigolotti et al., PNAS, 104: 6533-6537, 2007)。我々が扱っている時系列データには、多くのネガティブフィードバックの自律システム(構造)が含まれていると判断されたため、データの変動から個々の因子の関係性についての逆推定が可能ではないかという結論に至った。

しかし、逆推定のためには計算システムの開発が必要だった。現在、名古屋大学の鈴木先生、2009年当時の初代学生さんから3代目にあたる呂さん、和(かのう)情報網の冨永さんとの共同開発で全自動化し、初版が名古屋大学のサーバーで試運転されている。



本システムを用いて既存データベース内データや独自のマイクロアレイデータを解析し、株式会社KMデータのデータベースを参照してシステムの有効性を調べている。

ミトコンドリア・宿主間コミュニケーションによる抗ウイルス免疫機構の解析

研究代表者 **小柴 琢己** 九州大学大学院理学研究院・准教授

細胞内エネルギー工場であるミトコンドリアは、哺乳動物において抗RNAウイルス自然免疫と密接に関係していることが知られている。我々のグループでは、この自然免疫応答におけるミトコンドリアの役割に注目した研究を行い、以下のような研究成果を得た。

【ミトコンドリア外膜上でのMAVS活性化機構の解析】

MAVSは、RNAウイルスが細胞に感染した際に、そのセンサー分子として機能するRIG-Iのアダプター分子としてミトコンドリア膜上に局在している。一たびRIG-Iがミトコンドリア膜上のMAVSと結合すると、MAVSは活性化され、そこを足場としてTRAFファミリータンパク質などを含む様々なシグナル因子がミトコンドリア上にリクルートされて、最終的な下流因子であるI型インターフェロンや炎症性サイトカインの発現が調節されている。過去の研究では、RIG-I/MAVS結合後の詳細な分子機序が明らかになっていなかったが、我々はBRETを中心とした実験によりMAVS同士の自己

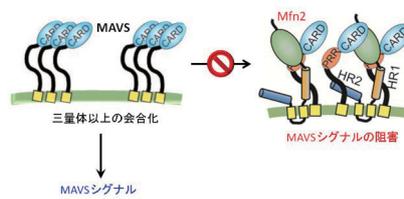
会合化が、以後のシグナル伝達の引き金になることを明らかにした。また、YFP分子を2つに分割して、会合した時のみに蛍光を発することを利用したBiFC (bimolecular fluorescence complementation) とBRETを組み合わせることで、MAVSの活性化時には三量体以上の会合体を形成していることも示せた。この会合体形成は、MAVS阻害剤であるMfn2の共発現により有意に抑制されることから、本手法による解析は特異的な分子間相互作用を観察していることがうかがえた。

[成果] Sasaki, O., Yoshizumi, T., Kuboyama, M., Ishihara, T., Suzuki, E., Kawabata, S., and Koshiba, T. (2013). A structural perspective of the MAVS-regulatory mechanism on the mitochondrial outer membrane using bioluminescence resonance energy transfer. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Cell Res.*, 1833, 1017-1027.

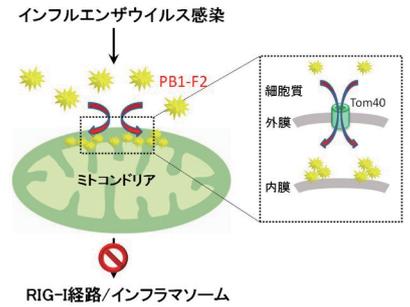
【インフルエンザウイルスタンパク質とミトコンドリアとの相互作用解析】

本研究では、A型インフルエンザウイルスタンパク質の一つPB1-F2が、感染細胞内のミトコンドリアに取り込まれ、その結果として $\Delta\psi_m$ を低下させる仕組みを明らかにした。PB1-F2は、ミトコンドリアの外膜チャンネルタンパク質Tom40を介して、ミトコンドリア内に侵入し、最終的に内膜に蓄積することで、 $\Delta\psi_m$ を低下させる。このような、PB1-F2のミトコンドリア内における蓄積は、RIG-I経路やNLRP3インフラマソーム等の抗ウイルス免疫反応の抑制に繋がることも明らかになった。

[成果] Yoshizumi, T., Ichinohe, T.,



Sasaki, O., Otera, H., Kawabata, S., Mihara, K., and Koshiba, T. (2014). Influenza A virus protein PB1-F2 translocates into mitochondria via Tom40 channels and impairs innate immunity. Nat. Commun., 5, 4713.



HIV蛋白質の細胞内輸送と粒子出芽・細胞間伝播の分子機序

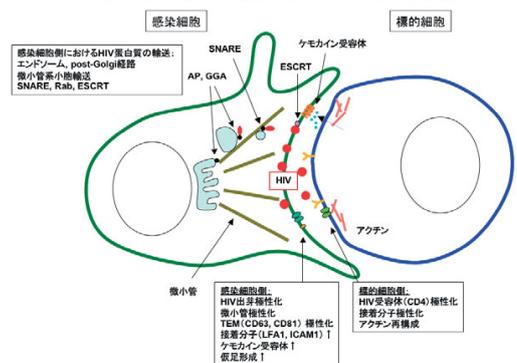
研究代表者 森川 裕子 北里大学大学院感染制御科学府・北里生命科学研究所・教授

ウイルスは様々な宿主機構を利用して複製する。しかし、その分子機構や意義は宿主因子あるいはその過程ごとで理解されているだけであり、生活環として俯瞰できていない。HIV粒子の主構造蛋白であるGag蛋白はサイトソルで合成された後、形質膜に輸送されアセンブリーにより粒子を形成して出芽する。これら一連の過程を、宿主輸送機構によるcargo Gag輸送として捉えその分子機序を解析した。小胞輸送と膜融合を制御する分子としてSNARE群やRab群が知られている。これらの制御分子をマーカーとして、Gag蛋白の輸送経路を概観した。Gag蛋白はエンドソームやpost-Golgi経路に分布するRab分子群と共局在した。また、エンドソーム、TGN、形質膜をシャトルするQc-SNAREと結合した。欠損変異体を作製して調べたところ、Gag MAドメインとSNAREドメインがこの結合の責任領域であった。生細胞ではGagとこのQc-SNAREは共局在を示しながら微小管系経路で高速移動した。MAドメインのアミノ酸置換体を作製してQc-SNAREとの共局在と高速移動を調べた。このQc-SNAREをロックダウンすると、HIV粒子産生量が減少した。このQc-SNAREは、ESCRT経路のTSG101やクラスリンアダプター分子（いずれもGag蛋白との相互作用が報告されている）とも相互作用を示したことから、Qc-SNAREがエンドソーム、TGN、形質膜をシャトルする輸送過程でGag蛋白を拾い上げ、それら宿主分子群と時系列で連携しながらGag蛋白を形質膜の粒子出芽部位に導く可能性が考えられた。

HIV感染に伴う宿主因子群の発現変動と局在変化を解析したところ、感染細胞ではESCRT経路のHRSやTSG101、テトラスパンニン分

子が発現増加し、粒子出芽部位に集積することを見いだした。また、細胞接着や走化性に関する接着因子群 (Selectin, LFA1) やケモカイン受容体 (CXCR4, CCR7) の発現も増加した。感染細胞は仮足形成が活発であった。HIV感染細胞と非感染細胞の細胞接触は非常に効率よくHIV感染を伝播する。この細胞接触部位には「感染（あるいはウイルス）シナプス」と呼ばれ、感染細胞（ドナー細胞）側ではHIV構成成分が、標的細胞側ではHIV受容体 (CD4, CCR5) が集積することが示されている。従って、感染細胞では、粒子形成・出芽に必要なとされる宿主因子群が（おそらく代償的に）発現増強して出芽部位に動員されるとともに、走化性や細胞接着を高めて標的細胞を見つけ捕捉する可能性が推測された。

HIV蛋白質の細胞内輸送と粒子出芽・細胞間伝播



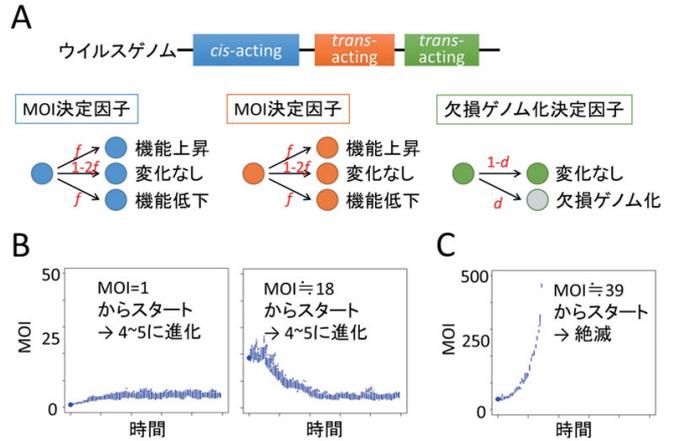
ウイルス集団からの欠損ゲノム排除機構の解明

研究代表者 石川 雅之 独立行政法人農業生物資源研究所・ユニット長
研究協力者 宮下 脩平

ほとんどの植物ウイルスは、宿主の組織内で、ウイルス粒子として細胞外に放出されることがなく隣接する非感染細胞に直接移行し、感染を成立させることが知られている (cell-to-cell感染)。また、多くの動物ウイルスでもcell-to-cell感染が報告されている。cell-to-cell感染の場合、MOI (multiplicity of infection: 新しい細胞で複製を開始するゲノム数の平均) が低すぎれば感染の失敗が多くなる一方で、MOIが高すぎれば自己増殖能力を失った変異ゲノム (欠損ゲノム) が集団内に蓄積し、いずれの場合も集団が絶滅しやすくなる

ことが予想される。そこで我々は「cell-to-cell感染するウイルスは、適切なMOIで細胞に感染するように適応している」と考え、この仮説を検証した。まず、植物RNAウイルスであるトマトモザイクウイルスを材料に、MOIが決定する過程を実験とシミュレーションにより検討した。その結果、細胞に侵入するウイルスゲノム数・複製開始確率・ゲノムRNA分解確率などをパラメータとして、確率的にMOIが決まる可能性が示された (Miyashita et al., PLoS Biology, accepted)。次に、ゲノムの変異によってcell-to-cell移行に

関わる遺伝子や複製に関わる遺伝子の機能や効率が確率的に上下すると考え、これに付随してMOIが上下すると仮定し、MOIの進化をシミュレーションした(図A)。その結果、MOIは4~5程度に進化することが予想された(図B)。この結果は、4~5程度のMOIが適応的であることを示唆する。我々の実験ではムギ類萎縮ウイルスのMOIが5~6程度、トマトモザイクウイルスのMOIが4程度と推定されており、これらのウイルスは適応的なMOIをとるように進化してきた可能性が示唆された。佐々木顕総合研究大学院大学教授(本領域計画研究班)による定式化の結果、ウイルスにとって最適なMOIは欠損ゲノムの発生頻度をパラメータとする式で表現できることが明らかとなった。これまでに知られているウイルスの変異率を元に計算した場合、その値は5~10程度の範囲に収まる。また、シミュレーションで、MOIの初期値が大きすぎる場合にはMOIの適応が起こらず、集団内に欠損ゲノムが蓄積して集団が絶滅することや(図C)、ゲノムに対してcisに機能する遺伝子とtransに機能する遺伝子では進化の様相が異なることなどが予想された。これらの予想に関して、トマトモザイクウイルスを用いた実証実験を行っている。



RNAウイルスの進化的脆弱性に関する研究

研究代表者 佐藤 裕徳 国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター・室長
 連携研究者 横山 勝

RNAウイルスの外被蛋白質は、宿主との攻防と進化に中心的な役割を果たします。私達は、この蛋白質の構造、機能、進化を司る原理に興味を持っています。この原理を知ることで、宿主との攻防を通じて長い時間をかけて選択されてきたウイルス固有の生存戦略を支える蛋白質の新たな側面が明らかになり、創薬シード探索、ワクチン開発、ウイルスのリスク評価、流行予測などの感染症対策研究の新たな土台が作られる可能性があるかと期待しています。本研究では、数理科学と計算科学の助けを借りながら、ノロウイルスとHIV-1の外被蛋白質を解析し、2年間の研究で以下のことがわかりました。

1) ノロウイルスカプシドVP1研究

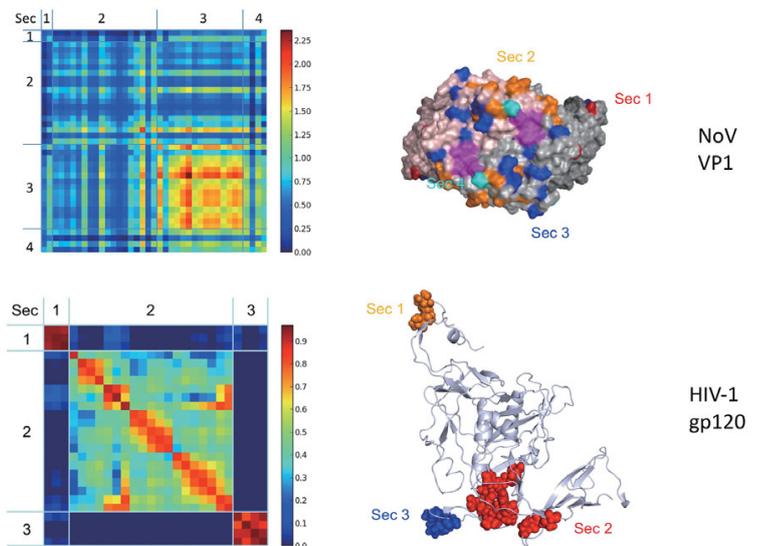
公共データベース由来VP1全長配列 (n=930) のアライメントより相互相関行列を構築し、ランダム行列理論によりノイズを除去することで、“何か理由があって必然的に”共変異している部位(セクタ)を推定し、VP1構造にマップしました。カプシドには4つのセクタが存在し、カプシドの推定機能領域(血液型抗原結合部位周辺、および二量体境界面)に位置することがわかりました。セクタにはエピトープが含まれることから、抗体の標的部位のアミノ酸残基は、自由に変化できるのではなく、構造・機能維持の変化の制約の基に共変異しなければならないことがわかりました。

2) HIV-1 gp120研究

既知の配列と部分構造の情報を基にGp120の全長構造モデルを構築し、分子動力学計算によりアミノ酸残基の溶液中の揺らぎの相互相関行列を構築し、ランダム行列理論によりノイズを除去することで、“何か理由があって必然的に”連動して動く部位(セクタ)を推定し、構造に

マップしました。Gp120には3つのセクタが存在し、機能領域を連結する未報告のアロステリックパスが存在することがわかりました。今回、見つけたアロステリックパスは、gp120がCD4に結合した後のコレセプター結合に必要な構造変化に大事な役割を果たしている可能性があると考えています。

以上、数理科学と計算科学の助けを借りることで、蛋白質の機能的ネットワークを包括的に予測する新しい方法論の構築が進みました。今後、予測した機能領域の生物学的な役割を実験で、物性と機能の維持における役割を計算科学の技術で検証し、進化上の弱点を探索する予定です。



HIV持続感染・伝播における変異蓄積と病原性変化に関する研究

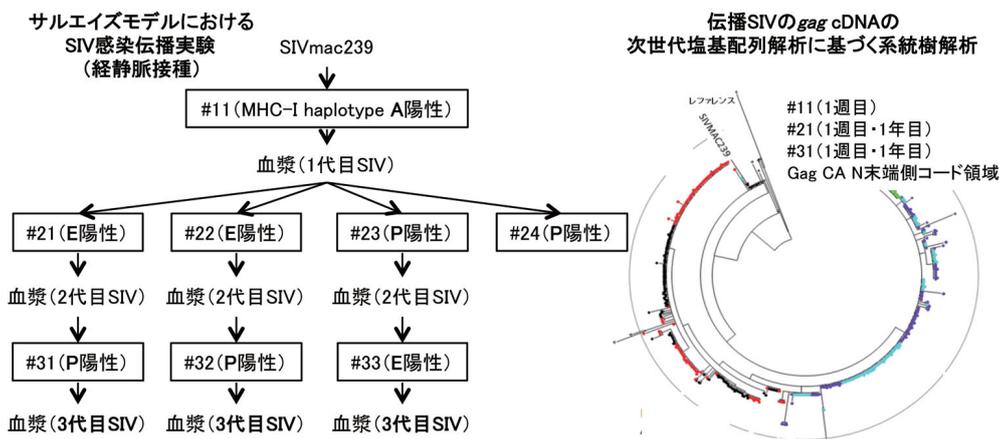
研究代表者 俣野 哲朗 国立感染症研究所エイズ研究センター・センター長

ヒトでの増殖能を有するウイルスは、増殖に必要な宿主因子との相互作用能および抵抗性因子からの逃避能を有すると考えられるが、ヒトでの感染伝播を続けることにより、ウイルスにヒト遺伝子多様性へのさらなる適応が生じる可能性がある。本研究は、このような宿主遺伝子多様性へのウイルス適応機序の解明を目指し、ウイルスと宿主の相互作用が長期間継続し病態形成にいたるHIV慢性持続感染症を対象として、宿主集団内のウイルス感染・伝播におけるウイルスの変化を知ることを目的とした。

HIV慢性持続感染症では、細胞傷害性T細胞 (CTL) の強いHIV複製抑制圧のもと、ゲノムにCTL逃避変異を有するウイルスの選択が頻繁に認められ、場合によりこの逃避変異がウイルス増殖能の低下に結びつくことも知られている。CTL標的は、宿主主要組織適合遺伝子複合体クラスI (MHC-I) 遺伝子型の違いにより異なるため、HIVは集団感染伝播において複製能確保とCTLからの逃避のバランスのもとと変化すると考えられるが、伝播におけるウイルス変化をHIV感染者で直接的に検証することは困難である。本研究では、ヒトHIV感染を反映するサルエイズモデルにて

SIVの伝播実験を行い、ウイルスの変化を検討した。

SIV感染MHC-IハプロタイプA陽性サルからMHC-IハプロタイプE (またはP) 陽性サル、さらにP (またはE) 陽性サルへと3代の感染伝播 (血漿の経静脈接種) を行ったSIVゲノムの解析から、複製能低下を伴うCTL逃避変異も比較的高頻度に維持され、伝播の繰り返しにより変異が蓄積されることが判明した。次世代遺伝子解析技術を用いたウイルスゲノムの解析から、伝播による感染成立時のウイルスゲノムの変化はわずかであり、各個体の慢性持続感染においてウイルスゲノムに変異が蓄積することが確認された。さらに、1代目・2代目・3代目の伝播SIVを血漿より回収し、いずれも培養細胞レベルでの複製能が野生型SIVと比べて低下していることを明らかにした。これらの結果は、多様なMHC-I遺伝子型を有する宿主間の感染伝播におけるウイルスの変化をエイズモデルで実証するものとして重要な成果である。今後、この3代目SIVのサルへの感染実験で病原性を検討することにより、HIVの感染伝播における病原性変化の解明に結びつくことが期待される。



東京大学医科学研究所
宿主寄生体学分野
小林 郷介

第11回ウイルス学キャンプ in 湯河原は平成26年9月17日、18日の二日間開催されました。昨年の第10回から感染コンピテンシー班との共催として行われており、6名の世話人の先生方をはじめ、助教、ポスドク、大学院生など合計32名が参加しました。

一日目は藤田保健衛生大学の谷口幸喜先生による教育講演「ロタウイルスの感染防御抗原の解析」を皮切りに、若手講演として筑波大学・川口敦史先生（宿主因子によって制御されるインフルエンザウイルスゲノムの細胞内動態）、感染研・渡士幸一先生（低分子化合物を通して理解する肝炎ウイルス生活環）、京大ウイルス研・本田知之先生（ボルナ病ウイルスと核内宿主機構）の3名による研究発表がありました。それに続いて、一般講演として5名の方々による発表があり、若手の中でも実績のある方々の大変濃い発表を聞いて勉強になりました。また本会の特徴として、優れた質問をしたひとを表彰するBest Question賞というものがあるためか、大変活発な質疑・討論が行われることも印象的でした。二日目はポスター発表でした。完成度の高いポスターがある一方で、研究を始めて間もない学生でも発表できる雰囲気があるため、そういう方には発表経験を積んだり、フィードバックを得られる貴重な機会だと感じました。

私個人のことをいえば、寄生虫学分野からウイルス学分野に転向して初めて研究発表したのが昨年（第10回）の本会であるため、大変思い入れのある会です。その時に、ウイルス学分野の若手研究者のレベルの高さを感じて研究のモチベーションを得られたのと同時に、ここで知り合った人達にはその後様々な場面でお世話になる機会が多いことから、本会は若手研究者同士の「輪」を広げる場所として貴重な会だと強く感じています。



平成26年9月17-18日にウイルス学キャンプin湯河原が開催され、今回初めて参加し、一般講演する機会をいただきました。参加するに当たり

周りの方々にどのような研究会であるかを伺ったところ、大変厳しい質問や意見が向けられ研究者として鍛えられる会であると聞き、少し不安を抱えて参加しました。実際に参加してみると、伺っていたように、様々な質問や意見が活発に飛び交い、時には答える事が難しい意見もあります。しかしこれは、純粋に興味を持ったことを質問しており、また同じウイルスの研究をしている者同士では湧かない疑問を投げかけられたために難しく感じたのだとわかりました。これまで参加した学会・研究会は他のウイルス研究に触れる機会のなかった私に、このウイルス学キャンプは様々なウイルス研究の知識を得ると同時に、これまで専門としてきたウイルスの研究を改めて深く考える良い機会を与えてくれました。

これだけでも参加してよかったと十分に思える会でしたが、私にとっての最大の収穫は初日の夜に行われた自由討論の場にあります。これは、小さな部屋に参加者全員が集まり自由に交流・討論するというものです。小さな部屋のため、これまで接点のなかった方々、普段は気軽にお話できない先生方ととても身近にお話することができました。研究の話は勿論ですが、研究者として進んでいく上での疑問や心配事、私的な事、本当に多くの事を経験談として伺うことができる、また当事者間で交換できる素晴らしい場でした。ここでお会いした方々とはその後も交流が続いており、交流の輪を広げる良いきっかけともなりました。ウイルス学キャンプは、改めてウイルス学に興味を持つこと、また交流を広げることの良いきっかけの場でありました。

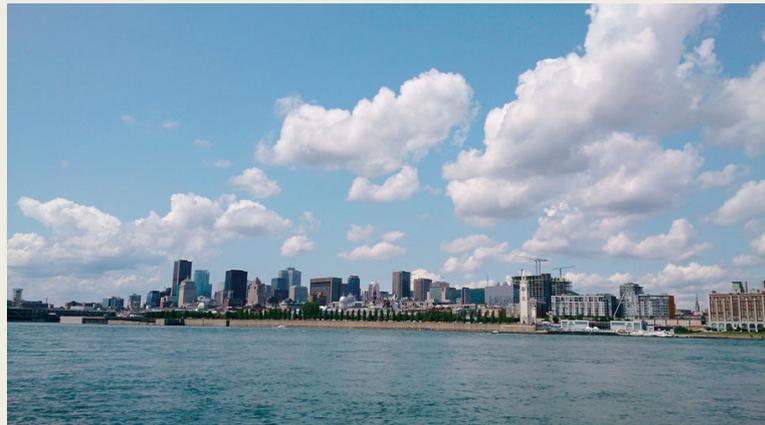
国立感染症研究所
ウイルス第二部
理化学研究所
微量シグナル制御技術開発
特別ユニット

九十田 千子

京都大学植物病理学研究室
兵頭 究

この度は、新学術領域「ウイルス感染現象における宿主細胞コンピテンシー」より感染コンピテンシ若手研究者国際学会経費補助を頂きありがとうございました。京都のうだるような暑さとはしばしの間お別れをし、爽やかな気候のもとカナダ・モントリオールにて開催された「XVIth International Congress of Virology」へ参加して参りました。

私はRNAウイルス複製のセッションで、植物RNAウイルスがホスファチジン酸というリン脂質の一種（とその産生酵素）を利用して効率よく増殖している旨の発表を行いました。本学会では、私に馴染みの深い植物ウイルス研究者の方々に加えて、私の研究領域では接触の機会あまり多くない動物ウイルス研究者の方々からも質問・コメントを頂く機会に恵まれました。そういった意見の中には自分にはない視点のものも多く、研究を進める上で大変参考になりました。記憶が風化しないうちに論文化せねばと焦燥感を覚えております。また、学会を通じてimpressiveな発表をいくつも目の当たりにし、感嘆する反面、自分もあいったレベルまで成長せねばと強く感じ、精神面においても起爆剤として働く有意義な場となりました。国際学会への参加は金銭面を含め何かとハードルの高さを感じてしまいましたが、本助成制度のおかげで実り多い日々を過ごすことが出来ました。重ねて御礼申し上げます。



モントリオールの眺望

「ウイルス感染現象における宿主細胞コンピテンシーの分子基盤」研究班組織

(研究代表者・研究分担者氏名、研究課題名)

計画	研究代表者 永田 恭介 筑波大学・学長 マイナス鎖RNAウイルスの複製におけるウイルスと宿主の攻防 〒305-8575 つくば市天王台1-1-1 筑波大学医学医療系感染生物学 knagata@md.tsukuba.ac.jp
計画	研究分担者 朴 三用 横浜市立大学生命医科学研究科・教授 マイナス鎖RNAウイルスの複製におけるウイルスと宿主の攻防 〒230-0045 横浜市鶴見区末広町1-7-29 park@tsurumi.yokohama-cu.ac.jp
計画	研究代表者 脇田 隆宇 国立感染症研究所・部長 プラス鎖RNAウイルスの複製におけるウイルスと宿主の攻防 〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1 wakita@nih.go.jp
計画	研究分担者 竹安 邦夫 京都大学大学院生命科学研究科・教授 プラス鎖RNAウイルスの複製におけるウイルスと宿主の攻防 〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町 takeyasu@lif.kyoto-u.ac.jp
計画	研究代表者 藤田 尚志 京都大学ウイルス研究所・教授 細胞内ウイルス防御系とウイルスの攻防 〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53 tfujita@virus.kyoto-u.ac.jp
計画	研究分担者 高折 晃史 京都大学大学院医学研究科・教授 細胞内ウイルス防御系とウイルスの攻防 〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町54 atakaori@kuhp.kyoto-u.ac.jp
計画	研究代表者 柳 雄介 九州大学医学研究院・教授 ウイルスの宿主細胞選択における攻防 〒812-8582 福岡市東区馬出3-1-1 yyanagi@virology.med.kyushu-u.ac.jp
計画	研究分担者 荒瀬 尚 大阪大学微生物研究所、免疫学フロンティア研究センター・教授 ウイルスの宿主細胞選択における攻防 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3-1 arase@biken.osaka-u.ac.jp
計画	研究代表者 小池 智 東京都医学総合研究所・研究員 ウイルスの標的組織決定における攻防 〒156-8506 東京都世田谷区上北沢2丁目1番6号 koike-st@igakuken.or.jp
計画	研究代表者 夏目 徹 産業技術総合研究所創薬分子プロファイリング研究センター ポストゲノム解析による感染体—宿主ネットワーク 〒135-0064 東京都江東区青海2-4-7 t-natsume@aist.go.jp
計画	研究分担者 伊庭 英夫 東京大学医科学研究所・教授 ポストゲノム解析による感染体—宿主ネットワーク 〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1 iba@ims.u-tokyo.ac.jp
計画	研究代表者 佐々木 顕 総合研究大学院大学・先導科学研究科・教授 ウイルス—宿主攻防の数理科学解析 〒240-0193 神奈川県三浦郡葉山町湘南国際村 sasaki_akira@soken.ac.jp
計画	研究分担者 小柳 義夫 京都大学ウイルス研究所・教授 ウイルス—宿主攻防の数理科学解析 〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53 ykoyanag@virus.kyoto-u.ac.jp
公募	研究代表者 高田 礼人 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター・教授 フィロウイルスの宿主域と受容体に関する研究 〒001-0020 札幌市北区北20条西10丁目 atakada@czc.hokudai.ac.jp
公募	研究代表者 高岡 晃教 北海道大学遺伝子病制御研究所・教授 ヒトサイトメガロウイルス感染により活性化されるパターン認識受容体活性化機構の解析 〒060-0815 北海道札幌市北区北15条西7丁目 takaoka@igm.hokudai.ac.jp

メールアドレスの@マークを全角表記にしております。メール送信時には@マークを半角に修正してください。

(研究代表者・研究分担者氏名、研究課題名)

公募	研究代表者 米山 光俊 千葉大学真菌医学研究センター・教授 宿主RNA結合タンパク質を介したウイルス感染コンピテンシー制御の解析 〒260-8673 千葉市中央区亥鼻1-8-1 myoneyam@faculty.chiba-u.jp
公募	研究代表者 大戸 梅治 東京大学大学院薬学系研究科・講師 宿主細胞によるウイルス由来RNA認識の構造生物学的研究 〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1 東京大学薬学系研究科蛋白構造生物学教室 umeji@mol.f.u-tokyo.ac.jp
公募	研究代表者 野田 岳志 東京大学医科学研究所・准教授 ウイルス増殖機構のメゾスケール解析 〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1 東京大学医科学研究所 微細構造ウイルス学分野 t-noda@ims.u-tokyo.ac.jp
公募	研究代表者 加藤 哲久 東京大学医科学研究所・助教 単純ヘルペスウイルスと宿主細胞間の分子攻防の網羅的解析 〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1 akihisak@ims.u-tokyo.ac.jp
公募	研究代表者 片平 正人 京都大学エネルギー理工学研究所・教授 ウイルスと宿主の蛋白質間相互作用による抗ウイルス効果の抑制と再活性化の構造基盤 〒611-0011 京都府宇治市五ヶ庄 katahira@iae.kyoto-u.ac.jp
公募	研究代表者 本田 知之 京都大学ウイルス研究所・助教 核内ウイルスRNAに対する宿主認識・応答機構の解明 〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53 thonda@virus.kyoto-u.ac.jp
公募	研究代表者 奥野 哲郎 京都大学農学研究科・教授 植物ウイルスの分節ゲノムRNA間で異なるキャップ非依存的翻訳機構 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町 okuno@kais.kyoto-u.ac.jp
公募	研究代表者 岩崎 憲治 大阪大学蛋白質研究所・准教授 インフルエンザRNAポリメラーゼ全体構造の解明 〒565-0871 吹田市山田丘3-2 ikenji@protein.osaka-u.ac.jp
公募	研究代表者 松浦 善治 大阪大学微生物病研究所・教授 C型肝炎ウイルスの組織親和性の解析 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘3-1 matsuura@biken.osaka-u.ac.jp
公募	研究代表者 新矢 恭子 滋慶医療科学大学院大学・客員教授 ウイルス感染時の細胞・個体レベルでの網羅的状態把握法の確立とその応用 〒532-0003 大阪市淀川区宮原1-2-8 kyoko.shinya1@gmail.com
公募	研究代表者 小柴 琢己 九州大学大学院理学研究院・准教授 ミトコンドリア・宿主間コミュニケーションによる抗ウイルス免疫機構の解析 〒812-8581 福岡県福岡市東区箱崎6-10-1 koshiba@kyudai.jp
公募	研究代表者 森川 裕子 北里大学北里生命科学研究所・教授 HIV蛋白質の細胞内輸送と粒子出芽・細胞間伝播の分子機序 〒108-8641 東京都港区白金5-9-1 morikawa@lisci.kitasato-u.ac.jp
公募	研究代表者 石川 雅之 農業生物資源研究所・ユニット長 ウイルス集団からの欠損ゲノム排除機構の解明 〒305-8602 茨城県つくば市観音台2-1-2 ishika32@affrc.go.jp
公募	研究代表者 佐藤 裕徳 国立感染症研究所・室長 RNAウイルスの進化的脆弱性に関する研究 〒208-0011 東京都武蔵村山市学園4-7-1 hirosato@nih.go.jp
公募	研究代表者 俣野 哲朗 国立感染症研究所・センター長 HIV持続感染・伝播における変異蓄積と病原性変化に関する研究 〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1 tmatano@nih.go.jp

平成26年度 活動報告

- 第11回ウイルス学キャンプ in 湯河原（共催）（平成26年9月17-18日 ウェルシティ湯河原）
- 市民講座の実施（共催）（平成26年10月17日 千駄ヶ谷津田ホール）
- 筑波若手ワークショップ（平成26年11月6日 筑波大学）
- 国際シンポジウム“Dynamic Interplay between Virus and Host”および第4回領域会議（平成26年11月8-9日 パシフィコ横浜）
- 第5回領域会議（平成27年1月31日-2月1日 国立感染症研究所）
- 高校生ウイルス学体験講座（共催）
金沢医大（平成26年7月26-27日）
獨協医大（平成26年8月8-9日）
- 領域ニュースレター（3号）発行
- 若手国際発表支援（5件）

平成27年度 活動計画

- 第12回ウイルス学キャンプ in 湯河原（共催）（平成27年5月23-24日 ウェルシティ湯河原）
- 第6回領域会議（平成27年5月24-25日 ウェルシティ湯河原）
- 第14回あわじしま感染症・免疫フォーラム（共催）（平成27年9月8-11日 淡路夢舞台国際会議場）
- 野本先生追悼シンポジウム（平成27年11月 ウイルス学会と共催）
- 第7回領域会議（平成28年1月頃予定）
- 領域ニュースレター（4号）発行
- 若手研究集会
- 高校生ウイルス学体験講座（共催）
- 若手国際発表支援

◆編集後記

平成26年度もあっという間に終了ですが、みなさまいかがお過ごしでしょうか。国際シンポジウムも盛り上がりました。レベルの高い講演を聴くと自分も頑張らねば、という気になります。さて、本領域も3年度目を迎え、中間評価も終了し、領域代表の永田先生の巻頭言にあるとおり、「A」評価をいただきました。班員の先生方の研究成果のおかげですが、その際に評価委員会からいただいたお小言は「領域ホームページの更新がされていない（やる気あるのか!）」でした。このニュースレターとホームページを担当している広報担当としては、反省しきりです(..;)。残りの2年間で何とかしたい…ということで、皆様の研究論文の概要を領域ホームページでは随時更新しています。研究成果をアピールできますので、どしどしご連絡ください。次号のニュースレターもより充実できるよう企画していきます。2年後の新規の研究領域につながるためにも。(TW)

文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究

ウイルス感染現象における宿主細胞コンピテンシーの分子基盤

2015年3月発行

お問い合わせ先

領域代表
永田 恭介
筑波大学
knagata@md.tsukuba.ac.jp

領域事務局
小池 智
東京医学総合研究所
koike-st@igakuken.or.jp

