

領域略称名：感染コンピテンシ  
領域番号：3405

平成26年度科学研究費補助金「新学術領域研究  
(研究領域提案型)」に係る中間評価報告書

「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」

(領域設定期間)

平成24年度～平成28年度

平成26年6月

領域代表者 筑波大学・学長・永田恭介

# 目 次

## 研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要	2
2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	4
3. 研究の進展状況	6
4. 若手研究者の育成に関する取組状況	9
5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	10
6. 総括班評価者による評価	11
7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	13
8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	17
9. 今後の研究領域の推進方策	22

# 研究領域全体に係る事項

## 1. 研究領域の目的及び概要（2ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、これまでの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

ウイルス感染における宿主特異的な子孫ウイルス複製と病原性発現は、ウイルスの増殖能とこれを抑制する宿主細胞機能との攻防の結果である。本領域の研究目的は、最終的には病原性発現に帰結する宿主特異的なウイルス複製と細胞内防御メカニズムとの拮抗の分子基盤を理解することである。ウイルスは、ウイルスの複製にはウイルス側の因子に加えて、宿主（の因子）が必須である。細胞の機能／因子群を自身の感染および複製過程に動員・奪取することで増殖する。一方、宿主は個体レベルのみならず細胞レベルでも防御系を発動する。すなわち、ウイルスは、自身にとってポジティブおよびネガティブな効果を持つ宿主環境の中で、感染サイクルを動かしていることになる。宿主は感染状況の中では、多くの生命プロセスを正常状態とは異なる均衡の中で維持するか、細胞内防御系を含む緊急応答を発動しなければならない。つまり、ウイルスは自然宿主の中では高い病原性は示さず、感染現象と細胞内防御系を含む生命プロセスが折り合った状態で感染サイクルを繰り返しながら存続するか、もしくは、この均衡がウイルス側に偏ることで高い病原性が発現する。トリを自然宿主とするインフルエンザウイルスが、トリでは高い病原性を発現しないが、ヒトで高い病原性を発現する場合は、均衡とその均衡からのずれの良い例である。本研究領域では、このような結果に繋がる細胞の特性を『宿主細胞コンピテンシー』と捉え、この均衡の中で、ウイルスが宿主を選択し、また宿主に適合した戦略的なメカニズム（感染の細胞・組織特異性、あるいは種特異性）を明らかにする。我が国のウイルス研究からは、ウイルス感染のレセプター原理、プロテアーゼ原理などの重要な概念、RNA 依存性RNA ポリメラーゼに関する先駆的な研究やmRNAのキャップ構造の発見なども生まれている。このように個々には優れた研究成果が生み出されてきたが、研究の着眼点と研究推進方法について再考し、これまでに集中して遂行されることのなかった視点から、『宿主細胞コンピテンシー』を念頭にウイルスと宿主の攻防に焦点を絞って領域を提案することとした。研究手法としては、ウイルス感染現象を対象とする学問・研究領域で遅れている構造生物学的解析、数理モデル解析、およびポストゲノム時代の考え方と方法を取り入れる計画である。これらの領域の専門家とウイルス研究者が協業する体制を構築し、これまでもオリジナリティーある研究成果をあげてきた我が国のウイルス関連研究をさらに推進する。インフルエンザウイルス薬として用いられているタミフルは、同ウイルスのNA の構造解明を基盤として創出された薬である。ウイルス因子と宿主因子の相互作用インターフェースの構造生物学、*in situ* 相互作用場での様態/動態観察、細胞特異性についての宿主因子の網羅的な解析、感染によって変動する宿主機能のオーム解析などを展開し、ウイルスと宿主の競合によって規定される宿主特異性の本質的な理解の推進に資する。

これらを背景に、本領域では、ウイルスと宿主の細胞内攻防、および個体内攻防に焦点をあて、構造解析、網羅的解析および数理モデル解析を特長とする研究者の参画によりコンテンポラルな概念と方法を取り入れ、この研究分野の大きな革新を図る。領域内の協業に基づく具体的な研究内容は以下のとおりである。

### （1）ウイルスと宿主の細胞内攻防（永田・朴、脇田・竹安、藤田・高折）

ウイルス増殖の根幹であるゲノム複製に関与するウイルス由来因子と宿主因子の同定、および機能解析を進める。宿主因子の同定は、ウイルスゲノムの複製機構の詳細を理解するために必須であるだけでなく、細胞の生理にとって重要な新たな機能要因の発見や既知の細胞因子であっても新たな機能の発見に繋がる。また、複製許容な宿主と非許容な宿主間での宿主因子の有無・多寡、機能性などの比較を行う。一方、複製したウイルスゲノムは細胞内防御系、特に自然免疫系の引き金となる。RIG-I-like receptor (RLR) が、ウイルスゲノムを認識する機構、およびRLR に対しウイルスが競合するメカニズムを明らかにする。加

えて、細胞内には自然免疫系以外の種々の防御反応（たとえば、APOBEC3G による変異導入によるHIV 不活性化、ウイルス抵抗性miRNA など）があり、これらについて作用機構を明らかにする。遺伝学的／逆遺伝学的方法、生化学的方法、構造生物学的な方法などを駆使して、因子のスクリーニング、および相互作用メカニズムを含む機能解析を行う。加えて、AFM、電子顕微鏡、蛍光プローブなどの可視化技術を導入して、攻防の細胞内現場（*in situ*）でのダイナミクスを明らかにする。

### （２）ウイルスと宿主の個体・生体内攻防（柳・荒瀬、小池）

ウイルスの増殖は、ウイルス粒子上のウイルスタンパク質と宿主細胞上のレセプターの結合によって開始する。ウイルスタンパク質によるレセプター選択は、宿主域や細胞・組織特異性の決定において、重要な役割をもつ。本項目では、レセプター特異的に感染して特定の宿主細胞と競合するウイルス、および特定組織の自然免疫と競合して高い組織特異性を示すウイルスを対象とする。新規レセプターの同定、ウイルスタンパク質とレセプターの構造解析、および感染した宿主細胞と宿主個体の応答について網羅的に理解することで、また高い病原性を発現する宿主と自然宿主を比較することで、病原性発現機構、および宿主適応・選択のメカニズムを明らかにする。

### （３）ウイルス-宿主攻防とその帰結（夏目・伊庭、佐々木・小柳）

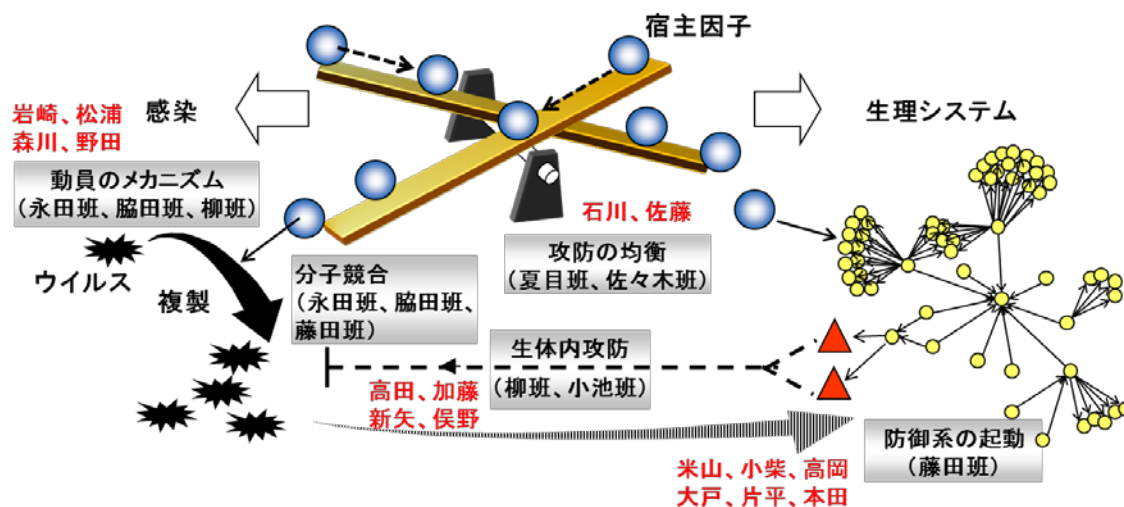
ウイルスの増殖機構と元来の生理機能過程の間での宿主因子の奪い合いのメカニズムを明らかにするとともに、それによってもたらされる宿主側の帰結について、ポストゲノム時代の網羅的解析法（網羅的質量分析、各種アレイ技術など）を用いて明らかにする。また、宿主因子とウイルス因子との相互作用、および宿主因子が関与する細胞内の生理機能経路の各因子との相互作用について分子、原子レベルで攻防のメカニズムを明らかにする。ウイルス増殖に関わるウイルスおよび宿主の非コードRNA についても網羅的に同定と機能解析を行う。また、宿主とウイルスの攻防、およびその帰結である宿主適応を、感染実験結果をもとに数理モデル化し、各ウイルスと宿主の攻防による個別論から一般論としてのウイルス感染現象の理解をめざす。

多様なウイルスを対象として、ウイルス増殖にポジティブ、およびネガティブに働く多様な細胞種由来の宿主因子を同定し、それらの機能および構造を明らかにすることで、ウイルスと宿主の攻防の上に成立しているウイルス感染の宿主依存性と宿主特異性（宿主細胞コンピテンシー）の理解を推進し、ウイルスの病原性発現の理解と宿主選択と適合の基本構図を浮かび上がらせることができると期待できる。ウイルス増殖に関わる因子の原子レベルでの構造解明は、ウイルスと宿主の攻防を分子レベルで理解するために重要であるばかりではなく、創薬開発の基盤形成に繋がっている。ウイルス関連研究では、構造生物学や数理モデル解析の参入が遅れている。本領域では、ウイルス研究者と構造生物学や数理モデル解析の専門家が協業する組織を設定し、本研究領域を我が国のみならず世界的な学術水準の向上に繋げることを目指している。また、宿主とウイルスの攻防をとりまく宿主側とウイルス側の機能分子は、関わる反応場を構成する要因（クロマチン、細胞内膜系、など）も含めて、1 MDa を超える複合体として機能している場合が多い。原子レベルの分解能を持つ分光学的な方法に加えて、本研究では、参加する研究者が確立している高い分解能を持たせた電子顕微鏡や高時間分解能高速AFM などを解析に用いることから、新たな観察技術の確立が期待できる。さらに、我が国の数理生物学は国際的にも高い水準にあるが、理論的な研究と実験とが必ずしも融合していない。増殖が速く変異も起こりやすいウイルスは、理論と実験を結びつけた数理生物学解析に最も適している。ウイルス研究に数理生物学の手法や視点を積極的に導入することで、新展開が期待される。

## 2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2ページ程度）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

計画研究の内容や研究対象に基づいた連携状況は以下のものである。計画班員に公募班員（赤字）が参加した。



### ウイルスと宿主の細胞内攻防

ウイルス増殖にポジティブな要因の解析については、インフルエンザウイルス（永田）およびC型肝炎ウイルス（HCV）（脇田）を材料としてアプローチしている。インフルエンザウイルスについては、ウイルスRNA合成の基本酵素であるRNA依存性RNAポリメラーゼ（RdR Pol）について、X線結晶回折法（朴）を用いて、機能構造決定を進めている。さらに公募班員岩崎が加わり電子顕微鏡による解析を行っている。ついで、これらの機能を制御する宿主因子の網羅的同定は夏目との協業で行うハイスループットな相互作用モニター系などを用いて進めている。また、RdR Pol、NP およびウイルスRNAと宿主因子の相互作用部位を決定し、その立体構造を明らかにする。HCV複製・粒子形成に関与する宿主因子をプロテオーム解析、およびリピドーム解析により網羅的に宿主因子を同定し、ウイルス複製、粒子形成、成熟化における役割を明らかにする。特に、複製複合体を形成する過程、また感染細胞の細胞核および核周囲の生体膜系の感染の進行に伴う動的な変化についてリアルタイムAFM（竹安）を用いて明らかにし、プラス鎖RNAウイルスの複製複合体形成、ならびに生体膜系を利用する分子機構の理解へと結びつける。HCV複製機構解析には公募班員松浦が連携し、複製・粒子形成に必要な因子の同定・解析を行う。その他公募班員奥野、森川、野田がそれぞれ植物ウイルス複製因子の研究、HIVの輸送・出芽機構、エボラウイルス・インフルエンザウイルスの複製・粒子形成機構について補強する体制が確立でき、計画班員でカバーしきれない領域の研究を行う。

藤田はウイルスの非自己RNA認識の分子機構の解明をRLRの結晶構造を基礎として、AFM（竹安）、逆遺伝学的手法によって解析する。また、細胞生物学、生化学的手法によってウイルスRNAの感知の「場」の解析とその形成機構の検討を行い、ウイルス感知の全貌を明らかにすることによって、その誘導の促進、ウイルスによる阻害からの回避の道を探ることを目指す。公募班員米山、小柴はこの項目で連携する。また高岡は非自己DNAに対するパターン認識受容体の解析を行う。大戸はX線結晶解析法でTLRの構造を解析する。高折はAPOBEC3ファミリー分子の解析、および対応するウイルス側の阻害因子との相互作用の特異性、新たな診断法、治療法の開発への道を探る。以上のウイルス増殖に関わるポジティブな要因とネガティブな要因についての解析成果を基盤に、この項目に参画している研究者の協業で、攻防の分子レベルでの実態を把握する。公募班員片平はNMRの手法でAPOBEC3の機能解析を目指す。本田は核内で増殖

するボルナウイルスを取り上げ、宿主の認識・応答機構について解析する。

### ウイルスと宿主の個体・生体内攻防

ウイルスの増殖は、ウイルスと宿主細胞上のレセプターの相互作用によって、ウイルスが細胞に侵入することによって始まる。この項目では、ウイルスの種特異性や細胞・組織特異性の決定における、ウイルスとレセプターの相互作用に焦点を当て、宿主細胞コンピテンシーの分子基盤を解明する。モルビリウイルスレセプター（柳）と免疫制御レセプター（荒瀬）を取り上げる。公募班員高田はエボラウイルス受容体解析を行う。小池は神経向性を示すポリオウイルス、エンテロウイルス71 を取り上げ、ウイルスレセプターを発現するトランスジェニック動物モデルを用いて、標的組織が決定されるメカニズムを明らかにする。公募班員加藤、新矢はそれぞれ単純ヘルペスウイルス、インフルエンザウイルスを取り上げて個体レベルでの病原性研究を補強する。

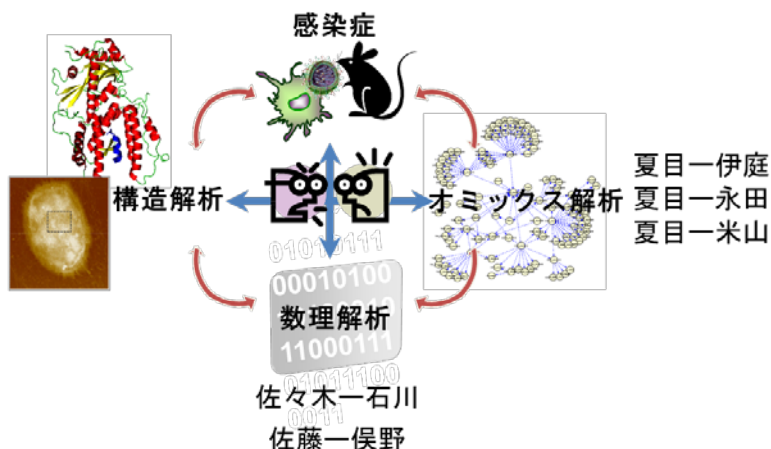
### ウイルス-宿主攻防とその帰結

ウイルスの増殖機構と病原性発現のプロセスは、宿主因子の奪い合い（遷移状態）とその帰結としての正常化あるいは病原性発現という平衡状態への移行と捉えることができる。このダイナミクスを、タンパク質レベルで捉えるために、感染継時的な宿主細胞の変化をポストゲノムの方法を用いて網羅的に把握するとともに、ウイルス因子と宿主細胞タンパク質の相互作用ネットワークを定量的に解析し、感染前、遷移状態、平衡状態で比較する（夏目）。細胞レベルでのウイルスと宿主の攻防に関わるmiRNA についても、機能解析をすすめる（伊庭）。これらの基礎データをもとに、数理科学研究者とともに、トランスクリプトーム・エピゲノムデータとの統合を行い、細胞レベルでのウイルスと宿主の攻防について分子基盤を明らかにし、病原性発現の分子メカニズムの理解を深化させることを目指す。ウイルスと宿主の均衡の帰結予測について、数理モデルの構築とその実証実験を融合させる。ヘルペスウイルス、HIV などのウイルス遺伝子群の発現に続くウイルス産生と細胞破壊過程における、ウイルス分子群と細胞性因子の相互作用ダイナミクスの帰結について、数理モデルの構築（佐々木）とその実証実験（小柳）を行う。公募班員石川はゲノム欠損ウイルスの集団からの排除の問題を数理モデリングと実験的に検証する。公募班員佐藤は数理解析からRNAウイルスの変化の制約がある部分を予測しその機能的な重要性を探る。公募班員俣野もHIV/SIVを用いて、宿主の防御機構とウイルスの変異について実験的・理論的な解析を行う。

上記研究対象別の共同研究

以外に、下図のような新規実験手法を共有するための共同研究が多数行われるようになり、領域の目標であるウイルス学と構造生物学、数理生物学、オミックス解析との融合が進行している。

朴一永田  
朴一脇田  
朴一高田  
野田一高田  
野田一柳  
野田一本田  
岩崎一永田  
岩崎一奥野  
岩崎一朴  
竹安一藤田  
竹安一米山



### 3. 研究の進展状況〔設定目的に照らし、研究項目又は計画研究毎に整理する〕（3ページ程度）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究毎に記述してください。

#### 研究計画① 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

研究代表者：永田恭介（筑波大学）、研究分担者：朴三用（横浜市立大学）

ウイルスゲノムの転写・複製には、多様な宿主因子が関与しており、宿主因子をウイルス複製系と細胞生理系の間で奪い合う分子レベルでの競合（攻防）が起こっている。本計画研究班では、インフルエンザウイルスを対象として、その攻防の構図を明らかにする。インフルエンザウイルス RNA 合成の基本ユニットである RdR Pol 複合体と NP について、機能構造および完全構造の決定を行う。ついで、これらの機能を制御する宿主因子を同定し、機能解析を行う。これまでの成果により、スプライシング因子である UAP56 は分子シャペロンとして NP を新規複製鎖にリクルートし、RNP 複合体形成と協調して伸長反応を促進することを見出した。UAP56 との結合に必須な NP の N 末端 20 アミノ酸は、誘導適合により機能的な構造を形成すると予測され、NP-UAP56 複合体の立体構造を解析中である。また、子孫ウイルスゲノムの細胞内動態を決定する宿主因子として YB-1 を同定した。YB-1 は、中心体にウイルスゲノムをリクルートすることで微小管依存的にウイルスゲノムの輸送を促進することを見出した。さらに、超解像顕微鏡観察より、ウイルスゲノムと共に中心体に集積した YB-1 は、中心小体の周囲でプロペラ様の局在を示し、中心体をリモデリングすることで微小管重合活性を促進することを明らかにした。完全長 RdR Pol 複合体の精製にも成功し、クライオ電顕観察による構造解析も開始している。また、高病原性株の RdR Pol の生化学的な機能解析も進行中である。

#### 研究計画② 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

研究代表者：脇田隆宇（国立感染症研究所）、研究分担者：竹安邦夫（京都大学）

本計画では、C型肝炎ウイルス（HCV）の場合である細胞内膜系、脂質膜ラフト、脂肪滴などでゲノム複製と粒子形成に関わる宿主因子を同定し機能を明らかにし、ウイルスと宿主の間で起こる分子レベルでの競合（攻防）を明らかにする。ウイルスゲノム複製複合体形成過程や粒子形成過程に関与する高次複合体のそれぞれの機能場における動態について解析を進める。原子間力顕微鏡（AFM）によりウイルスRNAの高次構造解析にすでに成功した。また、一体型蛍光顕微鏡/高速AFMを用いて開口分泌の過程を解析する方法を開発した。この方法は今後ウイルスの分泌過程の解析に有効であると期待される。また、HCV 翻訳・複製・粒子形成の過程に重要とされる二重膜小胞（DMV）とウイルス因子NS5Aに注目し、DMV におけるNS5A結合膜タンパク質の翻訳・複製における調節機構を解析した。pull-down法によりNS5Aに結合する膜タンパク質から翻訳・複製に関与しているタンパク質としてELAVL1を見出した。その細胞内発現を調べたところ、レプリコン細胞では複製複合体が存在すると考えられている界面活性剤不溶性分画（DRM）に移行していた。HCV翻訳・複製が低下したELAVL1ノックダウンレプリコン細胞にELAVL1の欠損変異体を発現させた実験から、ELAVL1が HCV RNAと結合し、さらにNS3、NS5Aタンパク質と結合することで複製の場DRMへ移行するものと考えられた。また、膜分画のトリプシン処理、ヌクレアーゼ処理により、主に複製はDMV内側、翻訳はDMVの外側で行われているものと考えられ、今後はその機構について解析していく。

#### 研究計画③ 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）、研究分担者：高折晃史（京都大学）

RIG-I様受容体（RLR）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。また、APOBEC3、TRIM5など、HIV-1感染を制御する宿主因子は「内因性免疫」として理解されている。本研究



では自然免疫および内因性免疫の制御機構を解明し、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、(感染コンピテンシー)の理解を深める事を目的とする。藤田はRLRが「非自己」ウイルスRNAを識別する機構を解明する。ウイルス感染によって誘導されるストレス顆粒において「非自己」RNAの識別はRLRだけではなく、その他のRNA結合タンパク質との共同作業であるとの仮説を立て、その検証を行う。これまでの成果により、ウイルスの増殖は細胞内の特定の場で行なわれるが、それとは別に抗ウイルスストレス顆粒(avSG)が誘導されることを明らかにした。生細胞中でこれらを観察すると、特にRIG-I様受容体はavSGに局在しており、シグナル伝達のプラットフォームであることが強く示唆された。高折はAPOBEC3によるウイルス抑制の分子機構とHIV由来の阻害因子Vifの機能、並びに関わる分子の構造解析を進め、これらの解明を試みる。また、Vifの機能発現に必要なVif結合タンパク質を同定し、相互作用機構を明らかにして、ウイルスが内因性防御応答を回避し複製する新たな機構を解明し、新たな抗ウイルス剤開発の基盤を明らかにする。これまでにVifの補助因子であるCBF $\beta$ を同定し、さらにVif変異体の作製により、E88、W89がCBF $\beta$ との相互作用に重要であることを明らかにした。Vifの誘導する細胞周期停止とそれに伴うウイルス複製の増強について、p53のS15のリン酸化が必要であること、また、そのリン酸化の責任キナーゼとしてAMPKを見出した。

#### 研究計画④ ウイルスの宿主細胞選択における攻防

研究代表者：柳雄介（九州大学）、研究分担者：荒瀬尚（大阪大学・微生物病研究所）

柳は主に麻疹ウイルスを取り上げ、ウイルスの宿主細胞選択における攻防について研究を進める。膜融合と細胞侵入機構、自然免疫との攻防、宿主因子との相互作用を明らかにすることにより、ウイルスの感染成立機構を明らかにする。麻疹ウイルスの細胞侵入には、ウイルスエンベロップ上のHタンパク質、Fタンパク質と宿主細胞上のレセプターの相互作用が関わっている。Hタンパク質の変異体の構造と機能を解析することにより、Hタンパク質四量体(dimer of dimers)の構造変化がFタンパク質を活性化して膜融合を誘導するのに重要であることを明らかにした。また、神経細胞への麻疹ウイルス感染には、細胞外領域の変異によるFタンパク質の膜融合能亢進が重要であることを明らかにした。さらに、ウイルスRNA合成に重要な宿主タンパク質SHCBP1を同定した。荒瀬は、ウイルス分子と免疫レセプターとの相互作用を解析することにより、新たなウイルスの細胞内侵入機構を解明し、ウイルスと免疫システムの新たな接点の解明を行う。特に、ウイルスがどのように感染性を獲得したか、また、宿主がどのように感染抵抗性を獲得したかを解明する。単純ヘルペスウイルスレセプターのPILR $\alpha$ の認識機構と構造を解析することにより、エンベロップ分子のペプチド部分と糖鎖部分の両方を認識していることを解明した。水痘帯状疱疹ウイルスの感染に他のSiglecファミリーも感染に関与することが明らかになった他、HHV-6の感染時の膜融合に必須なエンベロップ分子を同定した。また、ウイルス感染等で引き起こされる炎症の制御にPILR $\alpha$ が関与していることを明らかにした。

#### 研究計画⑤ 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（東京都医学総合研究所）

ポリオウイルス(PV)やエンテロウイルス71(EV71)は、ヒトに経口的に感染し、中枢神経系に達すると運動神経細胞などの神経細胞を標的として爆発的に増殖し、脊髄炎や脳炎を引き起こす。マウスはこれらのウイルスに非感受性であるが、ヒトのPV受容体(PVR)を発現させたトランスジェニックマウスはウイルス感受性を獲得し、ヒトと類似の病態を再現することが可能である。マウスモデルでは受容体の発現分布を人為的に変化させることや、自然免疫系を破壊したマウスとの交配した系統を作製する事が可能である。これにより感染の進行に影響を与える細胞種の特定、感染に伴って誘導される自然免疫経路



の同定などを行う。さらに網羅的な遺伝子発現解析などや数理モデルを活用することにより、特定の組織によるウイルス-宿主の攻防がウイルス側に傾いて標的組織となるのか、宿主側に傾いて非標的となるのかその決定メカニズムを明らかにすることを目標とする。現在までに、EV71 受容体であるScavenger receptor B2 (SCARB2) -Tgマウスの作製に成功し、このマウスモデルがヒトと類似のトロピズムを示すことを明らかにした。またPVR-TgマウスモデルでIII型インターフェロン受容体 (IL-28RA) ノックアウトを行い、粘膜上皮の感染防御においてIII型インターフェロンが重要な役割を果たすことを明らかにした。

#### 研究計画⑥ 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）、研究分担者：伊庭英夫（東京大学・医科学研究所）

ウイルスの感染・侵入から、感染性ゲノムの複製・遺伝子発現と、ウイルス粒子へのパッケージング・放出に至るまでには、多くの宿主因子とウイルス因子との相互作用が存在し、大きな感染体-宿主ネットワークを形成していると考えられる。本計画では、超高感度・ハイスループット質量分析システムを活用し、（1）感染側因子と宿主因子の相互作用の網羅的な解析を定量的に行うとともに、（2）宿主細胞のタンパク質量の変動もプロテオームワイドに定量する。これまでにインフルエンザNS1タンパク質、インフルエンザRNPの輸送に関わるYB-1、ウイルス受容体タンパク質RIG-Iと相互作用する因子の網羅的解析を行い、候補を同定した。また、細胞内の代謝酵素の絶対定量を行いウイルス感染時の量的変化を明らかにした。このように感染体の複製メカニズムと病原性発現機構を、宿主因子制御機構との分子競合ネットワークおよび量的変動という視点で理解することを試み、領域内のポストゲノム解析を必要とする研究を支援する。さらに細胞レベルでのウイルスと宿主の攻防に関わる宿主miRNA についてmiR-199a-5p/3p および miR-214 に注目して、これらの miRNA が宿主細胞のコンピテンシーにどのように関与し、細胞の抗ウイルス活性を規定する分子スイッチとして機能するのかその機構を明らかにする。これまでにmiR199 遺伝子クラスター、*Egr1*、*Brm* の間にdouble-negative feedback loopが形成されていて、*Brm* を発現に必要とし、かつmiR-199a の標的となっている*CD44*、*Met*、*Caveolin 1* の発現がヒト上皮細胞においてall-or-non に発現を制御されていることを明らかにした。

#### 研究計画⑦ ウイルス-宿主攻防の数理科学解析

研究代表者：佐々木顕（総合研究大学大学院）、研究分担者：小柳義夫（京都大学・ウイルス研究所）

宿主内でのウイルスと宿主の攻防の結果、ウイルスはダイナミックな遺伝的変化をとげる。本研究計画では、数理解析と実証実験の真の融合を目指す。ウイルスの複製とそれに対する細胞ならびに個体内宿主反応は、それぞれ遺伝的にプログラムされた機構が働く時系列システムである。これまでの記述的な理解から、帰結予測も含めた定量的な理論化を数理モデルによって行う。その上で、実験による検証、およびモデルの改良を行う。本研究班は他の計画研究班と協働し、各種のウイルスの感染現象の解明のために数理科学解析を行う。これまでに、EV71感染の数理モデル解析を行い、ウイルス株間でのそのバーストサイズおよび基本再生産数が、感染細胞の半減期に比べて顕著に異なることを見出した。ヒトの対レトロウイルス防御タンパク質であるAPOBEC3G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。APOBEC3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って免疫系からの抗原エスケープの能力を失うに至るか、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どのような条件のもとで出現するかを解析し、Vif/A3G発現量が進化のタイムスケールで振動する共進化サイクルをもたらすことを理論的に示した。

#### 4. 若手研究者の育成に係る取組状況（1 ページ程度）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

本領域では、若手研究者の育成を目標に若手研究者を対象として、（1）研究会の開催、（2）各種研究会への参加支援、（3）領域内での異分野協業による育成（共同研究インターンシップシステム）を進めている。

##### （1）研究会の開催

2013年1月に The 2nd Meeting on RNA and Biofunctions-ASIA study（博多）、2013年5月に第10回ウイルス学キャンプ（湯河原）の運営を補助し、2013年9月に感染コンピテンシー若手研究会（湘南国際村）を主催した。

The 2nd Meeting on RNA and Biofunctions-ASIA study は機能性 RNA に関わる研究者を集めた国際会議であり、台湾（4名）と韓国（2名）、の研究者が参加し、本領域の若手研究を多く参加させることで、国外の研究者やウイルス領域外の研究者との人的交流のサポートを行った（参加者数 47 名）。また、ウイルス学キャンプでは、領域内外のウイルスを専門とする研究者（参加者数 26 名）が参加し、若手研究者の啓蒙、交流の場とした。本領域が主催する若手会である、感染コンピテンシー若手研究会では、本領域の若手を中心に、企業の研究員（キリン、アステラス製薬等）も参加して開催した（参加者数 28 名）。本研究会では、次世代の新学術領域を組織する基盤形成を目標に、学際的な共同研究や産学連携研究を推進するための研究成果発表と人的交流を行った。

##### （2）各種研究会への参加支援

領域の若手研究者の国際学会への参加を支援した（2013年度、2名；2014年度、1名を予定。さらに募集中）。今後、さらに支援数を増やす予定である。

##### （3）共同研究インターンシップシステムによる支援

本インターンシップでは、班員が進める研究に参加する若手研究員・大学院生を、ウイルス感染症に関わる研究室から構造生物学／数理科学／オミックス解析に関わる研究室に、あるいはその逆に若手を派遣し、方法・手技を相手の研究体制の中で実践し、単なる講習会ではなく、共同研究を推進する目的をもって派遣を行っている。これまで、5件のインターンシップを支援し、1件は論文として発表され（Onomoto et al. *PLoS One*, 2012）、他4件は現在も継続的に支援中である。

## 5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

総括班では、領域の研究推進を支援することで新たな研究概念の創出を支援することを目的とし、その運営に必要となる主だった経費は、1. 本領域が主催・共催する研究集会の補助、2. 若手研究者の育成（学会参加補助、インターンシップ等）、3. ホームページの運営、4. ニュースレターの発刊である。研究会の運営では、2013年1月に The 2nd Meeting on RNA and Biofunctions-ASIA study（博多）、2013年5月に第10回ウイルス学キャンプ（湯河原）の運営を補助し、2013年9月に感染コンピテンシー若手研究会（湘南国際村）、2013年11月に第12回あわじしま感染症・免疫フォーラムを主催した。本年度は、11月に国際会議を主催することを予定している。若手育成では、3件の学会参加支援と5件のインターンシップを支援している。ホームページも作成し、本領域で得られた成果を社会に公表している（<http://www.md.tsukuba.ac.jp/basic-med/infcompetence/index.html>）。また、ニュースレターは年1度で発刊している。

本研究領域は、ウイルス学を主体とする班員と構造生物学／数理科学／オミックス解析を専門とする班員とで構成される。以下、主だった研究費の使用用途を記す。

### 研究計画① 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（永田、朴）

既存の設備に超解像顕微鏡（ELYRA）に必要な検出モジュールを追加することで、50～100 nmの解像度で感染細胞を観察することができるようになった。本機器を用いた論文は投稿中である。

結晶化ロボット（モスキート）を購入し、少ない試料でも高速に結晶化条件を検討できるようになった（永田、脇田らとの共同研究に活用）。

### 研究計画② 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（脇田、竹安）

液中走査用カンチレバー（オリンパス、OMCL-AC160TS-W2）を購入し、ウイルスセンサータンパク質分子および分子複合体の液中観察技術を改良した。また、同カンチレバーを用いて、細胞内小器官の直接可視化技術を用いた解析系も新たに立ち上げ、ウイルス感染に伴う細胞内構造体の形態変化を解析する系を立ち上げた。また、新たにコロイダルプローブカンチレバー（東陽テクニカ、CP-PNP-PS）を導入し、細胞内小器官の力学測定評価の実験系を立ち上げた（藤田らとの共同研究に活用）。

### 公募班 ウイルス増殖機構のメゾスケール解析（野田）

透過型電子顕微鏡解析あるいは電子線トモグラフィー解析のために本経費が用いられ、それをもとに、微細形態学的・構造学的手法による領域内共同研究（柳、高田、加藤、本田ら）を推進中である。

### 公募班 インフルエンザRNAポリメラーゼ全体構造の解明（岩崎）

クライオ電子顕微鏡での高分解能解析は、ハードウェアだけでなく、画像解析技術と一体となって実現されるものである。そのための専用の画像解析ソフトウェアを購入し、最新のクライオ電子顕微鏡と併せて、本領域内に最新の技術として提供できる体制を整えた。これにより、本領域内全体で要望される、タンパク質から細胞まで、あらゆるスケールの電子顕微鏡観察の機会が一挙に促進された（永田、朴、奥野らとの共同研究に活用）。

### 公募班 RNAウイルスの進化的脆弱性に関する研究（佐藤）

共有メモリサーバSGI UV2000用ブレードサーバ、ストレージ、およびUPS関連機器を購入した。計算科学や情報科学の手法を用いて大規模な情報処理や解析を行う際に用い、大規模計算を必要とする構造解析の高速化が可能になった（俣野との共同研究で活用）。

## 6. 総括班評価者による評価（2ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

### 小安重夫（独立行政法人 理化学研究所・免疫・アレルギー科学総合研究センター・免疫細胞システム研究グループ・グループディレクター）

「感染コンピテンシ」領域においては、ウイルスと宿主の細胞内攻防、ウイルスと宿主の個体・生体内攻防、ウイルス・宿主攻防とその帰結、の3つの分野において、順調に研究が進行していると思われる。領域内における共同研究も盛んに行なわれており、既に複数の論文発表に至っていることは評価される。これは、本領域において、プロパーのウイルス研究者や感染症研究者のみならず、オミックス解析に長けた研究者や構造生物学に優れた研究者、数理モデルの研究者などの異なる研究背景を持つ研究者をバランス良く配置した結果と思われる。また、公募研究に参加した研究者からも質の良い研究が発信されており、本研究領域のサイエンスの質は高いものとする。若手研究者に対する配慮も色々としており、若手の研究会を開催し、さらに各種研究会への若手の派遣を積極的に行なっていることも高く評価される。また、新しい試みとして、異なる研究背景を持つ研究室間で若手の研究員や大学院生を派遣し合い、研究の手法手法が異なる研究環境に送り込むことで新しいアイデアや協同研究を醸成する仕組みを行なっており、このような試みは今後さらに発展が期待される。望むらくは若手のみならず、PIクラスもこのような仕組みを利用して短期のサバティカルのように利用することでさらに学際的な研究が広がる可能性があるのではないだろうか。中間地点を越えて、さらに本領域の研究活動が活性化され、大きな広がりを持った研究活動が引き続き継続されることを期待する。終了時には異なる研究分野間の学際研究の一つのモデルケースになることも期待したい。

### 野本明男（公益財団法人 微生物化学研究会・微生物化学研究所・理事長）

「感染コンピテンシ」研究班は従来の生化学、分子遺伝学の手法に加えて最新の構造生物学、数理生物学、オミックス解析などの手法を融合させた新しいウイルス研究の領域の開拓に向けて開始された研究班である。計画研究班の構成もそれを実現するために、ウイルス学者と上記研究手法の専門家を配置している。

領域の運営にあたり、領域代表のリーダーシップによって総括班による共同研究のコーディネートが行われ、研究手法の融合を目指す多数の共同研究が開始されている。すでに論文として発表に至っているものもあり、今後も多くの成果が期待できる。さらに、共同研究をサポートするために実施されている共同研究インターンシップシステムは、共同研究の推進だけでなく、若手研究者の育成としての意義も大きい。若手育成に関しては、若手ウイルス学者を対象とした「ウイルス学キャンプ」が開催されている他にウイルス学以外を専門とする研究者を含めたシンポジウムが開催されており、この領域の若手研究者を生物学全体にインパクトを与える研究者として育成するための工夫がなされている。若手研究者の国際学会支援はさらに支援件数を増やして実施するべきであろう。主だった備品等の経費も新しい領域創成に即した技術の開発や共同利用の為に使われており、適切である。

研究成果に関しては、論文発表もすでに200報を越えており、内容的にも質が高いものが多い。感染コンピテンシーの概念上重要な宿主因子の感染体による奪取については、インフルエンザウイルスやC型肝炎ウイルスなどで新規宿主因子の同定が進み、網羅的解析等を用いて宿主因子の相互作用ネットワークを明らかにしつつある点は高く評価できる。また、ウイルス増殖を抑制する側の解析に関して、RIG-I様受容体等による自然免疫システムの研究はもともと我が国発の世界的研究であるが、新規手法を取り入れながら順調に発展している。これまでの活動をさらに継続することにより、新しいウイルス学研究領域を開拓できると考えられる。

## 西村善文（横浜市立大学大学院生命医科学研究科・教授）

宿主特異的なウイルス複製と細胞内防御機構の拮抗の分子的基盤を理解するために、構造解析、網羅的解析、数理モデル解析を特徴とする研究者の参画により研究分野の革新を図ることが目標となっている。非常に多様な分野の研究者が集まり、疾病にとって重要なウイルスの分子基盤の研究を行うことは、将来のウイルス学あるいはウイルス由来の疾病の治療に役立つことが期待される。例えば、領域代表者を含む領域内共同研究としてインフルエンザウイルス由来の RNA ポリメラーゼの発現形構築と結晶化及び抗インフルエンザスクリーニング方法の特許はインフルエンザという世界的な疾病の治療のための分子的な基盤として重要である。インフルエンザウイルスポリメラーゼは 3 者複合体でありその複合体の接触部位の X 線結晶構造解析に基づき種に依存せず全てのウイルス株間の複合体形成を阻害する化合物は究極のインフルエンザ治療薬になる可能性を秘めているので、より一層の研究の進展が期待される。その他にも、C 型肝炎ウイルスの RNA ゲノムの原子間力顕微鏡による可視化やエンテロウイルス感受性マウスの開発や麻疹ウイルスの神経細胞感染の理解や複製されたインフルエンザウイルスゲノムの細胞内動態を決定する宿主因子の同定やエボラウイルス粒子形成における VP40 タンパク質の 2 量体形成等の多量体系性の分子機構の理解などウイルス疾病の分子的基盤の研究が進行している事を評価でき、今後の大いなる進展を期待したい。

## 7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理する]

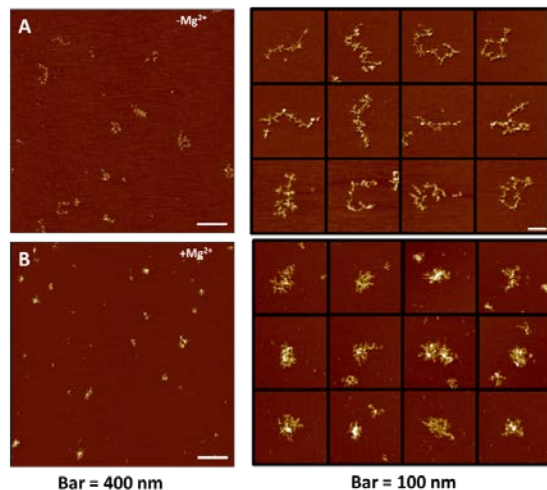
（3 ページ程度）

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（発明及び特許を含む）について、現在から順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

### 計画研究班

#### 平成 26 年度

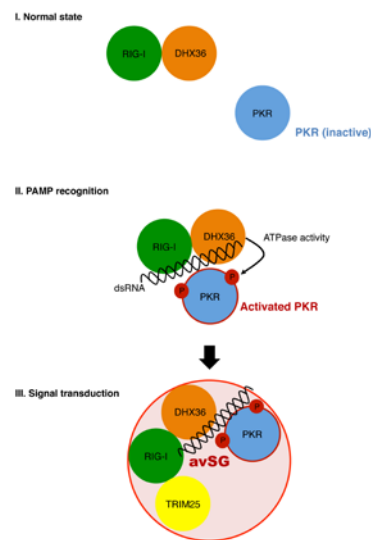
竹安・脇田：原子間力顕微鏡 AFM の技術により各種感染体のゲノム構造と動態を“まるごと”みて明らかにし、感染体ゲノム構造とその発現場としての真核細胞クロマチン／核内構造との相互作用を明らかにすることを目的としている。C 型肝炎ウイルスは 1 本鎖 RNA をゲノムとしており、そのゲノムを可視化するために「1 本鎖 RNA を如何に基板（通常は劈開した雲母片）上に吸着させ」、さらに「1 本鎖 RNA の本来の高次構造を如何に保つか」といった技術的な課題を解決し、「9Kb の 1 本鎖 HCV RNA の構造解析」を行った（Gilmore JL et al., *J. Nanomed. Nanotechnol.*, 2014）。1 本鎖 RNA（Poly(A)-RNA、18SrRNA、28SrRNA、9kb-HCV genome 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、



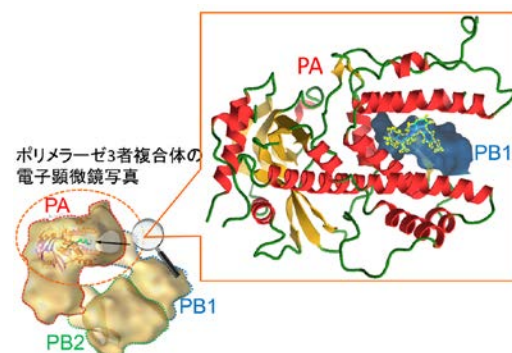
AFM 解析で求めた体積は塩基長に比例することから、「体積測定が RNA を特定する」また「特定の分子内ループの存在は AFM 画像から検出できる」ことが分かった。（領域内共同研究成果）

#### 平成 25 年度

藤田：ウイルス感染細胞ではウイルスの二重鎖 RNA がタンパク質キナーゼ PKR を活性化し、その結果、翻訳開始因子 eIF2a の 51 番目のスレオニンが、リン酸化されることによって anti-viral stress granule (avSG) が誘導される。我々は RNA ヘリカーゼの 1 つであり、二重鎖 RNA 結合能を有する DHX36 が恒常的に RIG-I と複合体を形成していること、ウイルス感染細胞ではウイルスの二重鎖 RNA を介して RIG-I/DHX36 に加えて PKR もその複合体に加わり、PKR の活性化が促進され、効率的に avSG が形成されることを見出した。重要なことはウイルス RNA が RIG-I/DHX36/PKR 複合体を活性化し、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ことである。（Yoo JS et al., *PLoS Pathog.*, 2014）（公募・米山班との領域内共同研究成果）



永田・朴：（特許）朴三用、永田恭介、川口敦史、尾林栄治 インフルエンザウイルス由来の RNA ポリメラーゼ発現系構築と結晶化及び抗インフルエンザ薬のスクリーニング方法（US8,455,229B2、米国）。インフルエンザウイルスポリメラーゼは PB1、PB2、PA からなる 3 者複合体である。我々は、PA と PB1 の結合部位の X 線結晶構造を決定し、PA の C 末端が形成するドラゴンの顎に類似したドーム構造内に、PB1 の N 末端が挿入されることで結合するこ

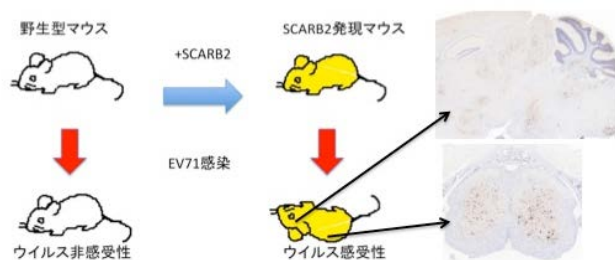




とを明らかにした。この構造は新規フォールドであり、種に依存せず、すべてのウイルス株間で保存されていた。本特許は、この構造をもとに、*in silico* ドッキングシミュレーションによる抗ウイルス薬のスクリーニング方法を構築したものである。(領域内共同研究成果)

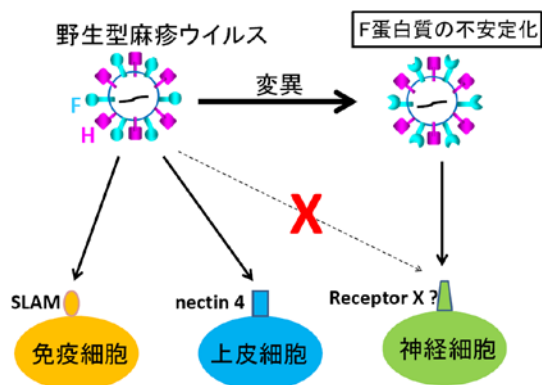
小池：エンテロウイルス 71 感受性マウスの開発:EV71

の研究に適した小動物モデルは存在していなかった。小池班で EV71 受容体 SCARB2 を同定し、それを発現するトランスジェニック (Tg) マウスを作製した。Tg マウスは EV71 感受性を獲得し、ヒトと類似の中枢神経感染症を起こすことが判明した。ウイルス受容体が種特異性を決定していることを明らかにした。このマウスモデルはウイルスのトロピズム決定機構を研究する大きな足がかりとなる。(Fujii K et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2013)

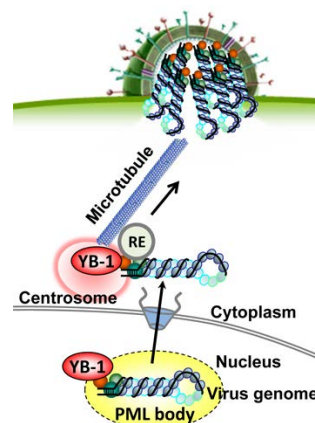


### 平成 24 年度

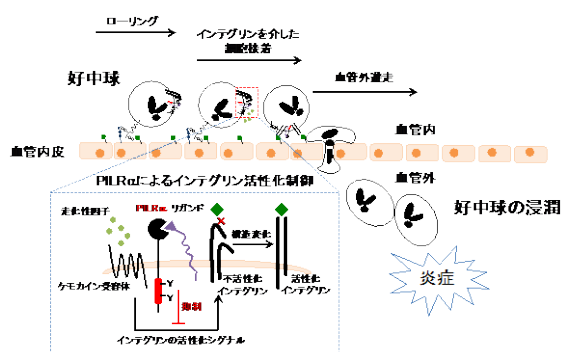
柳：麻疹ウイルスの免疫細胞、上皮細胞への感染は、レセプターが同定されよく理解されているが、神経細胞への感染機構は不明である。麻疹ウイルス F タンパク質 (膜融合に関与する) の細胞外領域の特定の変異により構造が不安定化すると、既知のレセプターを発現していない細胞においても F タンパク質が活性化されて膜融合を起こすようになることを明らかにした。また、このような変異 F タンパク質をもつ組換え麻疹ウイルスは、野生型ウイルスと異なり、ハムスターの脳で広範に伝播する (Shirogane Y et al., *Nature Commun.*, 2012; Watanabe S et al., *J. Virol.*, 2013)。これらの知見は、麻疹ウイルスの神経細胞感染の理解と治療法開発に重要な情報を提供する。



永田：複製されたインフルエンザウイルスゲノムは、核外輸送後、細胞膜に輸送されてウイルス粒子に取り込まれる。しかし、ウイルスゲノムの細胞内動態を制御する機能分子は明らかにされていない。我々はその細胞内動態を決定する宿主因子として YB-1 を同定した (Kawaguchi A et al., *J. Virol.*, 2012)。YB-1 は転写因子として機能し、転写後に宿主 mRNA に結合して、スプライシングや翻訳を制御する因子である。YB-1 は核内の PML ボディでウイルスゲノムと結合する。核外輸送後、YB-1 によってウイルスゲノムは中心体にリクルートされ、微小管依存的に中心体から細胞膜へ輸送されることを見出した。この結果は、上皮組織等でのウイルスゲノムの極性輸送の理解にもつながる。



荒瀬：炎症応答は、ウイルス感染等に対する重要な生体防御応答の一つであり、局所への免疫細胞の浸潤等を伴う。しかし、過剰な炎症は臓器障害を引き起こすため、炎症応答は適度に調節されている必要があるが、炎症の調節機構、特に、免疫細胞の局所への浸潤がどのように調節されているかは、まだ十分に明らかにされていない。我々は、好中球等の細胞



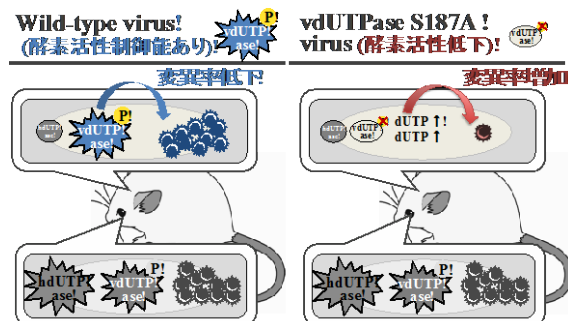


表面に発現している抑制化レセプターPILR $\alpha$ の機能を明らかにするために、PILR $\alpha$ 欠損マウスを樹立して解析した。その結果、PILR $\alpha$ はウイルス感染等によって引き起こされる炎症の強さを制御する分子であることが明らかになった。本研究成果は、ウイルス抵抗性を決定する免疫応答の制御機構の解明に貢献すると期待される (Wang J et al., *Nat. Immunol.*, 2013)。

## 公募研究班

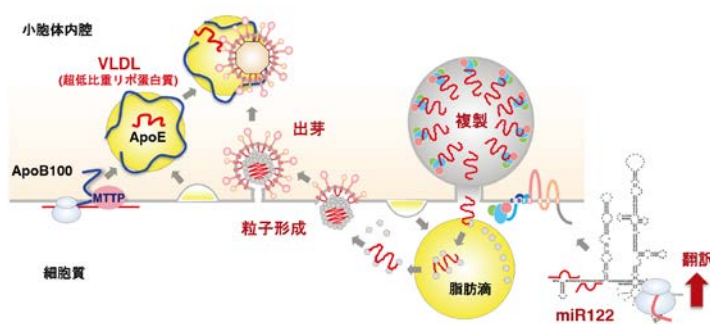
平成 26 年度

加藤：単純ヘルペスウイルス (HSV) は、ウイルス特異的なリン酸化酵素 (PK) をコードしており、ウイルス因子や宿主因子をリン酸化し、その機能発現を制御すると考えられてきた。我々は、高感度質量分析計を駆使したリン酸化プロテオーム解析により、HSV 感染細胞におけるリン酸化情報を網羅的に解明した。さらに、①HSV PK が viral dUTPase Ser-187 をリン酸化し、その酵素活性を亢進することで、宿主 dUTPase 活性の低い神経系組織において、dUTPase 活性を補填し、正確に HSV ゲノムを複製すること、②本リン酸化現象は、マウスモデルにおける神経病原性 (中枢神経系の破壊能) を特異的に司ることを解明した (Kato A et al., *J. Virol.*, 2014)。本知見は、ヘルペス脳炎克服や安全な HSV 遺伝子治療ベクター開発の糸口となることが期待される。



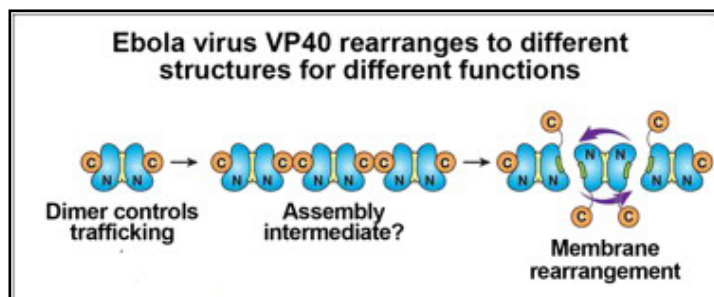
松浦：C 型肝炎ウイルス (HCV) は肝臓で増殖するが、親和性の決定機構は不明な点が多い。肝臓特異的なマイクロ RNA である miR-122 は、非肝臓細胞ではほとんど検出されない。miR-122 を強制発現させた非肝臓細胞株に HCV を接種すると、いくつかの細胞株でゲノム複製が観察されるが、感染性粒子は産生されない。非肝臓細胞株は肝臓細胞に比べて、超低比重リポタンパク質の産生に関与するアポリポタンパク質の発現が有意に低いことから、HCV の肝臓親和性は、マイクロ RNA や脂質代謝系によって規定されていることが示唆された (Fukuhara T et al., *J. Virol.*, 2012)。次に、 $\alpha$ -fetoprotein の発現を指標にして肝機能を保持した細胞株を選択し、ヒト胃癌由来の FU97 細胞が

miR-122 を強制発現しなくても、肝臓由来の 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関して、肝臓由来の Huh7 細胞とは異なる性状を示すことから、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 M et al., *J. Virol.*, 2014)。(計画・脇田班との領域内共同研究成果)



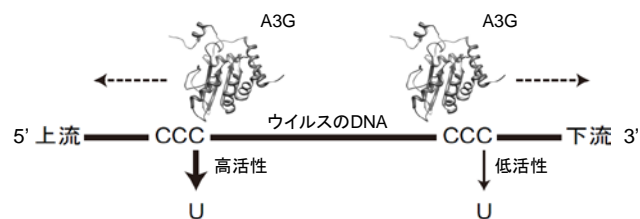
平成 25 年度

野田：RNA ウイルスは、わずか 10 種類程度のウイルスタンパク質を巧みに利用しウイルス増殖を遂行する。しかし、ウイルスタンパク質にどのように多機能性が包含されるかわかっていない。我々は、エボラウイルス粒子形成における VP40 タンパク質に関して解析した (Bornholdt ZA, Noda T et al., *Cell*, 2013)。X 線結晶構造解析により、N 末端を介した dimer 形成が脂質膜結合能・細胞表面への輸送能を担うことを明らかにした。また、C 末端を介した

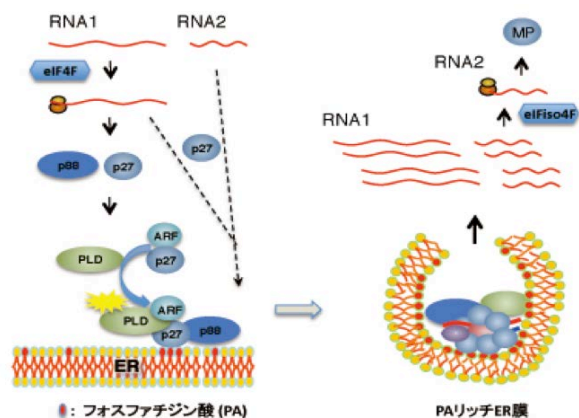


dimer-dimer 相互作用が、ウイルス粒子形成および出芽に重要であることを見出した。さらに、脂質膜結合をミミックした条件において、C 末端領域が構造変化を起こし hexamer を形成すること、この hexamer がウイルス粒子を構成することを示した。本成果は、エボラウイルスの粒子形成機構を明らかにしただけでなく、タンパク質が有する多機能性と構造の相関を明らかにしたことで生物学的に重要な意義を持つ。

片平：ヒトの APOBEC3G タンパク質 (A3G) は HIV の DNA に作用し、シトシンをウラシルに変換することで HIV 活性を発揮する。NMR シグナルを用いて A3G の塩基変換反応をリアルタイムでモニタリングしたところ、標的となるシトシンが 5' 端近くに位置するほど反応が早く進行する事が分かった。A3G の DNA への非特異的な結合と DNA 上におけるスライディングを考慮した解析の結果、A3G が DNA 上を上流にスライディングしながら標的シトシンに到達した際の方が、下流にスライディングしながら標的シトシンに到達した際より、塩基変換反応の触媒活性が大きい、とする事で上記の観測結果を合理的に説明できる事が分かった (Furukawa A et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014) (計画・高折班との領域内共同研究成果)。



奥野：Red clover necrotic mosaic virus (RCNMV) のゲノムはキャップ構造と poly(A)配列を持たない二分節の RNA1 と RNA2 からなる。シロイヌナズナを用いた遺伝学的解析から RNA1 と RNA2 はそれぞれ eIF4F と eIFiso4F という異なった翻訳開始因子を用いて複製酵素タンパク質と細胞間移行タンパク質を翻訳することが分かった。また、RNA 複製に必要な宿主因子として Arf1、phospholipase D (PLD) などを同定した (Hyodo K et al., *J. Virol.*, 2013)。ウイルス複製タンパク質により ER 膜にリクルートされたこれらのタンパク質は、PLD によりリン脂質をフォスファチジン酸に変え膜を改変し、RNA 複製工場を作ることが分かってきた。RNA2 の翻訳活性は RNA 複製とリンクしてのみ認められることから、ゲノム RNA 間で異なる翻訳、複製機構の解明は、ウイルスと宿主の攻防のさらなる理解に繋がることが期待される。



## 8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5 ページ程度）

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、現在から順に発表年次をさかのぼり、計画研究・公募研究毎に順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に\*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

主な論文等一覧 （すべて査読あり。★は領域内共同研究の成果である。）

### 平成 26 年度 計画研究

1. Yoo JS, Takahashi K, Ng CS, Ouda R, Onomoto K, Yoneyama M, Lai JC, Lattmann S, Nagamine Y, Matsui T, Iwabuchi K, Kato H, \*Fujita T. DHX36 enhances RIG-I signaling by facilitating PKR-mediated antiviral stress granule formation. *PLoS Pathog.*, 2014; 10: e1004012.★
2. Murano K, Okuwaki M, Momose F, Kumakura M, Ueshima S, Newbold R, \*Nagata K. Reconstitution of human rRNA gene transcription in mouse cells by complete SL1 complex. *J. Cell Sci.*, 2014 *in press*.
3. Sakamoto T, \*Kobayashi M, Tada K, Shinohara M, Io K, Nagata K, Iwai F, Takiuchi Y, Arai Y, Yamashita K, Shindo K, Kadowaki N, Koyanagi Y, Takaori-Kondo A. CKIP-1 is an intrinsic negative regulator of T-cell activation through an interaction with CARMA1. *PLoS One*, 2014; 9: e85762.★
4. Kuroki K, Wang J, Ose T, Yamaguchi M, Tabata S, Maita N, Nakamura S, Kajikawa M, Kogure A, T. S, \*Arase H, \*Maenaka K. Structural basis for simultaneous recognition of an O-glycan and its attached peptide of mucin family by immune receptor PILR $\alpha$ . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014 *in press*.
5. \*Mizutani T, Ishizaka A, Suzuki Y, Iba H. 7SK small nuclear ribonucleoprotein complex is recruited to the HIV-1 promoter via short viral transcripts. *FEBS Lett.*, 2014; 588: 1630-1636.
6. \*Yamamichi M, Yoshida T, Sasaki A. Timing and propagule size of invasion determine its success by a time-varying threshold of demographic regime shift. *Ecology*, 2014 *in press*.
7. \*Yashima K, Sasaki A. Epidemic process over the commute network in a metropolitan area. *PLoS One*, 2014 *in press*.
8. Kobayashi T, Koizumi Y, Takeuchi JS, Misawa N, Kimura Y, Morita S, Aihara K, Koyanagi Y, Iwami S, \*Sato K. Quantification of Deaminase Activity-Dependent and -Independent Restriction of HIV-1 Replication Mediated by APOBEC3F and APOBEC3G through Experimental-Mathematical Investigation. *J. Virol.*, 2014; 88: 5881-5887.
9. Gilmore JL, Aizaki H, Yoshida A, Deguchi K, Kumeta M, Junghof J, Wakita T, \*Takeyasu K. Nanoimaging of ssRNA: Genome architecture of the Hepatitis C virus revealed by atomic force microscopy. *J. Nanomed. Nanotechnol.*, 2014; S5:010★

### 平成 26 年度 公募研究

10. Itoh Y, Yoshida R, Shichinohe S, Higuchi M, Ishigaki H, Nakayama M, Pham V, Ishida H, Kitano M, Arikata M, Kitagawa N, Mitsuishi Y, Ogasawara K, Tsuchiya H, Hiono T, Okamatsu M, Sakoda Y, Kida H, Ito M, Mai L, Kawaoka Y, Miyamoto H, Ishijima M, Igarashi M, Suzuki Y, \*Takada A. Protective efficacy of passive immunization with monoclonal antibodies in animal models of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus infection. *PLoS Pathog.*, 2014 *in press*.
11. \*Tanimura N, Saitoh S, Ohto U, Akashi-Takamura S, Fujimoto Y, Fukase K, Shimizu T, Miyake K. The attenuated inflammation of MPL is due to the lack of CD14-dependent tight dimerization of the TLR4/MD2 complex at the plasma membrane. *Int. Immunol.*, 2014; 26: 307-314.
12. Liu Z, Kato A, Shindo K, Noda T, Sagara H, Kawaoka Y, Arii J, \*Kawaguchi Y. Herpes simplex virus 1 UL47 interacts with viral nuclear egress factors UL31, UL34, and Us3 and regulates viral nuclear egress. *J. Virol.*, 2014; 88: 4657-4667.★
13. Kato A, Hirohata Y, Arii J, \*Kawaguchi Y. Phosphorylation of Herpes Simplex Virus 1 dUTPase Up-regulated Viral dUTPase Activity to Compensate for Low Cellular dUTPase Activity for Efficient Viral Replication. *J. Virol.*, 2014 *in press*.
14. Hayashi T, Oshima H, Mashima T, Nagata T, Katahira M, \*Kinoshita M. Binding of an RNA aptamer and a partial peptide of a prion protein: crucial importance of water entropy in molecular recognition. *Nucleic Acids Res.*, 2014 *in press*.
15. Mizumoto H, Morikawa Y, Ishibashi K, Kimura K, Matsumoto K, Tokunaga M, Kiba A, Ishikawa M, Okuno T, \*Hikichi Y. Functional characterization of the mutations in Pepper mild mottle virus overcoming tomato tm-1-mediated resistance. *Mol. Plant Pathol.*, 2014; 15: 479-487.
16. Narabayashi T, Kaido M, Okuno T, \*Mise K. Base-paired structure in the 5' untranslated region is required for the

efficient amplification of negative-strand RNA3 in the bromovirus melandrium yellow fleck virus. *Virus Res.*, 2014; 188C: 162-169.

17. Shiokawa M, Fukuhara T, Ono C, Yamamoto S, Okamoto T, Watanabe N, Wakita T, \*Matsuura Y. Novel permissive cell lines for complete propagation of hepatitis C virus. *J. Virol.*, 2014; 88: 5578-5594.★
18. Nomaguchi M, Miyake A, Doi N, Fujiwara S, Miyazaki Y, Tsunetsugu-Yokota Y, Yokoyama M, Sato H, Masuda T, \*Adachi A. Natural single-nucleotide polymorphisms in the 3' region of the hiv-1 pol gene modulate viral replication ability. *J. Virol.*, 2014; 88: 4145-4160.

#### 平成 25 年度 計画研究

19. Imamura K, Imamachi N, Akizuki G, Kumakura M, Kawaguchi A, Nagata K, Kato A, Kawaguchi Y, Sato H, Yoneda M, Kai C, Yada T, Suzuki Y, Yamada T, Ozawa T, Kaneki K, Inoue T, Kobayashi M, Kodama T, Wada Y, Sekimizu K, \*Akimitsu N. Long noncoding RNA NEAT1-dependent SFPQ relocation from promoter region to paraspleckle mediates IL8 expression upon immune stimuli. *Mol. Cell*, 2014; 53(3): 393-406.
20. Binh NT, Wakai C, Kawaguchi A, \*Nagata K. The N-terminal region of influenza virus polymerase PB1 adjacent to the PA binding site is involved in replication but not transcription of the viral genome. *Front. Microbiol.*, 2013; 4: 398.
21. Binh NT, Wakai C, Kawaguchi A, \*Nagata K. Involvement of the N-terminal portion of influenza virus RNA polymerase subunit PB1 in nucleotide recognition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2014; 443: 975-979.
22. Kikuchi J, Shibayama N, Yamada S, Wada T, Nobuyoshi M, Izumi T, Akutsu M, Kano Y, Sugiyama K, Ohki M, Park SY, \*Furukawa Y. Homopiperazine derivatives as a novel class of proteasome inhibitors with a unique mode of proteasome binding. *PLoS One*, 2013; 8: e60649.
23. Cho KJ, Lee JH, Hong KW, Kim SH, Park Y, Lee JY, Kang S, Kim S, Yang JH, Kim EK, Seok JH, Unzai S, Park SY, Saelens X, Kim CJ, Lee JY, Kang C, Oh HB, Chung MS, \*Kim KH. Insight into structural diversity of influenza virus haemagglutinin. *J. Gen. Virol.*, 2013; 94: 1712-1722.
24. Matsumoto Y, Matsuura T, Aoyagi H, Matsuda M, Hmwe SS, Date T, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Ichinose S, Wake K, Suzuki T, Miyamura T, Wakita T, \*Aizaki H. Antiviral activity of glycyrrhizin against hepatitis C virus in vitro. *PLoS One*, 2013; 8: e68992.
25. Nakajima S, Watashi K, Kamisuki S, Tsukuda S, Takemoto K, Matsuda M, Suzuki R, Aizaki H, Sugawara F, Wakita T. Specific inhibition of hepatitis C virus entry into host hepatocytes by fungi-derived sulochrin and its derivatives. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2013; 440: 515-520.
26. Maruyama H, Harwood JC, Moore KM, Paszkiewicz K, Durley SC, Fukushima H, Atomi H, Takeyasu K, \*Kent NA. An alternative beads-on-a-string chromatin architecture in *Thermococcus kodakarensis*. *EMBO reports*, 2013; 14: 711-717.
27. Yadav T, Carrasco B, Hejna J, Suzuki Y, Takeyasu K, \*Alonso JC. Bacillus subtilis DprA recruits RecA onto single-stranded DNA and mediates annealing of complementary strands coated by SsbB and SsbA. *J. Biol. Chem.*, 2013; 288: 22437-22450.
28. Funabiki M, Kato H, Miyachi Y, Toki H, Motegi H, Inoue M, Minowa O, Yoshida A, Deguchi K, Sato H, Ito S, Shiroishi T, Takeyasu K, Noda T, Fujita T. Autoimmune disorders associated with gain of function of the intracellular sensor MDA5. *Immunity*, 2014; 40: 199-212.★
29. Ng CS, Jogi M, Yoo JS, Onomoto K, Koike S, Iwasaki T, Yoneyama M, Kato H, \*Fujita T. Encephalomyocarditis virus disrupts stress granules, the critical platform for triggering antiviral innate immune responses. *J. Virol.*, 2013; 87: 9511-9522.★
30. Nitta S, \*Sakamoto N, Nakagawa M, Kakinuma S, Mishima K, Kusano-Kitazume A, Kiyohashi K, Murakawa M, Nishimura-Sakurai Y, Azuma S, Tasaka-Fujita M, Asahina Y, Yoneyama M, Fujita T, Watanabe M. Hepatitis C virus NS4B protein targets STING and abrogates RIG-I-mediated type I interferon-dependent innate immunity. *Hepatology*, 2013; 57: 46-58.★
31. Takamatsu S, Onoguchi K, Onomoto K, Narita R, Takahashi K, Ishidate F, Fujiwara TK, Yoneyama M, Kato H, \*Fujita T. Functional characterization of domains of IPS-1 using an inducible oligomerization system. *PLoS One*, 2013; 8: e53578.★
32. Matsui Y, Shindo K, Nagata K, Io K, Tada K, Iwai F, Kobayashi M, Kadowaki N, Harris RS, \*Takaori-Kondo A. Defining HIV-1 Vif residues that interact with CBFbeta by site-directed mutagenesis. *Virology*, 2014; 449: 82-87.
33. Sato T, Kitawaki T, Fujita H, Iwata M, Iyoda T, Inaba K, Ohteki T, Hasegawa S, Kawada K, Sakai Y, Ikeuchi H, Nakase H, Niwa A, Takaori-Kondo A, \*Kadowaki N. Human CD1c(+) myeloid dendritic cells acquire a high level of retinoic acid-producing capacity in response to vitamin D(3). *J. Immunol.*, 2013; 191: 3152-3160.
34. \*Ichinohe T, Yamazaki T, Koshihata T, Yanagi Y. Mitochondrial protein mitofusin 2 is required for NLRP3

- inflammasome activation after RNA virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2013; 110: 17963-17968.★
35. Ito M, Iwasaki M, Takeda M, Nakamura T, \*Yanagi Y., \*Ohno S. Measles virus nonstructural C protein modulates viral RNA polymerase activity by interacting with host protein SHCBP1. *J. Virol.*, 2013; 87: 9633-9642.
  36. Tanaka Y, \*Suenaga T., Matsumoto M, Seya T, Arase H. Herpesvirus 6 glycoproteins B (gB), gH, gL, and gQ are necessary and sufficient for cell-to-cell fusion. *J. Virol.*, 2013; 87: 10900-10903.
  37. Yamayoshi S, Ohka S, Fujii K., \*Koike S. Functional comparison of SCARB2 and PSGL1 as receptors for enterovirus 71. *J. Virol.*, 2013; 87: 3335-3347.
  38. Fujii K., Nagata N, Sato Y, Ong KC, Wong KT, Yamayoshi S, Shimanuki M, Shitara H, Taya C, \*Koike S. Transgenic mouse model for the study of enterovirus 71 neuropathogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2013; 110: 14753-14758.
  39. Araki K, Iemura S, Kamiya Y, Ron D, Kato K, Natsume T., \*Nagata K. Ero1-alpha and PDIs constitute a hierarchical electron transfer network of endoplasmic reticulum oxidoreductases. *J. Cell Biol.*, 2013; 202: 861-874.
  40. \*Omori R, Sasaki A. Timing of the emergence of new successful viral strains in seasonal influenza. *J. Theor. Biol.*, 2013; 329: 32-38.
  41. \*Mpolya EA, Yashima K, Ohtsuki H, Sasaki A. Epidemic dynamics of a vector-borne disease on a villages-and-city star network with commuters. *J. Theor. Biol.*, 2014; 343: 120-126.
  42. \*Sato K, Misawa N, Iwami S, Satou Y, Matsuoka M, Ishizaka Y, Ito M, Aihara K, An DS, \*Koyanagi Y. HIV-1 Vpr accelerates viral replication during acute infection by exploitation of proliferating CD4+ T cells in vivo. *PLoS Pathog.*, 2013; 9: e1003812.
  43. Imahashi M, Izumi T, Watanabe D, Imamura J, Matsuoka K, Ode H, Masaoka T, Sato K, Kaneko N, Ichikawa S, Koyanagi Y., Takaori-Kondo A., Utsumi M, Yokomaku Y, Shirasaka T, Sugiura W, \*Iwatani Y, Naoe T. Lack of association between intact/deletion polymorphisms of the APOBEC3B gene and HIV-1 risk. *PLoS One*, 2014; 9: e92861.★

#### 平成 25 年度 公募研究

44. Maruyama J, Miyamoto H, Kajihara M, Ogawa H, Maeda K, Sakoda Y, Yoshida R, \*Takada A. Characterization of the envelope glycoprotein of a novel filovirus, Iloviu virus. *J. Virol.*, 2014; 88: 99-109.
45. Noyori O, Matsuno K, Kajihara M, Nakayama E, Igarashi M, Kuroda M, Isoda N, Yoshida R, \*Takada A. Differential potential for envelope glycoprotein-mediated steric shielding of host cell surface proteins among filoviruses. *Virology*, 2013; 446: 152-161.
46. Ohto U., Tanji H, \*Shimizu T. Structure and function of toll-like receptor 8. *Microbes infect.*, 2014; 16: 273-282.
47. Kokatla HP, Sil D, Tanji H, Ohto U., Malladi SS, Fox LM, \*Shimizu T, \*David SA. Structure-based design of novel human Toll-like receptor 8 agonists. *Chem. Med. Chem.*, 2014; 9: 719-723.
48. Bornholdt ZA, Noda T., Abelson DM, Halfmann P, Wood MR, Kawaoka Y, \*Saphire EO. Structural rearrangement of ebola virus VP40 begets multiple functions in the virus life cycle. *Cell*, 2013; 154: 763-774.
49. Goto H, Muramoto Y, Noda T., \*Kawaoka Y. The genome-packaging signal of the influenza A virus genome comprises a genome incorporation signal and a genome-bundling signal. *J. Virol.*, 2013; 87: 11316-11322.
50. Imai T, Koyanagi N, Ogawa R, Shindo K, Suenaga T., Sato A, Arii J, Kato A., Kiyono H, Arase H., \*Kawaguchi Y. Us3 kinase encoded by herpes simplex virus 1 mediates downregulation of cell surface major histocompatibility complex class I and evasion of CD8+ T cells. *PLoS One*, 2013; 8: e72050.★
51. Maruzuru Y, Fujii H, Oyama M, Kozuka-Hata H, Kato A., \*Kawaguchi Y. Roles of p53 in herpes simplex virus 1 replication. *J. Virol.*, 2013; 87: 9323-9332.
52. Mashima T, Nishikawa F, Kamatari YO, Fujiwara H, Saimura M, Nagata T, Kodaki T, Nishikawa S, Kuwata K, \*Katahira M. Anti-prion activity of an RNA aptamer and its structural basis. *Nucleic Acids Res.*, 2013; 41: 1355-1362.
53. Furukawa A, Sugase K, Morishita R, Nagata T., Kodaki T, Takaori-Kondo A., Ryo A, \*Katahira M. Quantitative analysis of location- and sequence-dependent deamination by APOBEC3G using real-time NMR spectroscopy. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2014; 53: 2349-2352.★
54. \*Honda T., Tomonaga K. Nucleocytoplasmic shuttling of viral proteins in borna disease virus infection. *Viruses*, 2013; 5: 1978-1990.
55. Honda T., Tomonaga K. Host Molecular Chaperones: Cell Surface Receptors for Viruses. In: Henderson B, editor. *Moonlighting Cell Stress Proteins in Microbial Infections*: Springer Netherlands; 2013. p. 293-307.
56. Hyodo K, Mine A, Taniguchi T, Kaido M, Mise K, Taniguchi H, \*Okuno T. ADP ribosylation factor 1 plays an essential role in the replication of a plant RNA virus. *J. Virol.*, 2013; 87: 163-176.
57. Shibata T, Sekihara S, Fujikawa T, Miyaji R, Maki K, Ishihara T, Koshihata T., \*Kawabata S. Transglutaminase-catalyzed

- protein-protein cross-linking suppresses the activity of the NF-kappaB-like transcription factor relish. *Sci. Signal.*, 2013; 6: ra61.
58. Sasaki O, Yoshizumi T, Kuboyama M, Ishihara T, Suzuki E, Kawabata S, \*Koshiba T. A structural perspective of the MAVS-regulatory mechanism on the mitochondrial outer membrane using bioluminescence resonance energy transfer. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013; 1833: 1017-1027.
59. Sudo S, Haraguchi H, Hirai Y, Gatanaga H, Sakuragi J, Momose F, \*Morikawa Y. Efavirenz enhances HIV-1 gag processing at the plasma membrane through Gag-Pol dimerization. *J. Virol.*, 2013; 87: 3348-3360.
60. Tomo N, Goto T, \*Morikawa Y. Trans-packaging of human immunodeficiency virus type 1 genome into Gag virus-like particles in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb. Cell Fact.*, 2013; 12: 28.
61. Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Iwatani Y, Yokoyama M, Yasutomi Y, Sato H, Shioda T, Sugiura W, Matano T, Adachi A, Nakayama EE, \*Akari H. TRIM5 genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. *J. Gen. Virol.*, 2013; 94: 1318-1324.★
62. Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Miyakawa K, Ryo A, Ode H, Iwatani Y, Miura T, Igarashi T, \*Sato H, \*Adachi A. Generation of rhesus macaque-tropic HIV-1 clones that are resistant to major anti-HIV-1 restriction factors. *J. Virol.*, 2013; 87: 11447-11461.
63. Kuwata T, Takaki K, Yoshimura K, Enomoto I, Wu F, Ourmanov I, Hirsch VM, Yokoyama M, Sato H, \*Matsushita S. Conformational epitope consisting of the V3 and V4 loops as a target for potent and broad neutralization of simian immunodeficiency viruses. *J. Virol.*, 2013; 87: 5424-5436.
64. Takahashi N, Nomura T, Takahara Y, Yamamoto H, Shiino T, Takeda A, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Sakawaki H, Miura T, Igarashi T, Koyanagi Y, Naruse TK, Kimura A, \*Matano T. A novel protective MHC-I haplotype not associated with dominant Gag-specific CD8+ T-cell responses in SIVmac239 infection of Burmese rhesus macaques. *PLoS One*, 2013; 8: e54300.★
65. Burwitz BJ, Wu HL, Reed JS, Hammond KB, Newman LP, Bimber BN, Nimiyoungkul FA, Leon EJ, Maness NJ, Friedrich TC, Yokoyama M, Sato H, Matano T, O'Connor DH, \*Sacha JB. Tertiary mutations stabilize CD8+ T lymphocyte escape-associated compensatory mutations following transmission of simian immunodeficiency virus. *J. Virol.*, 2014; 88: 3598-3604.★
66. Iwamoto N, Takahashi N, Seki S, Nomura T, Yamamoto H, Inoue M, Shu T, Naruse TK, Kimura A, \*Matano T. Control of simian immunodeficiency virus replication by vaccine-induced Gag- and Vif-specific CD8+ T cells. *J. Virol.*, 2014; 88: 425-433.

#### 平成 24 年度 計画研究

67. Kawaguchi A, Matsumoto K, \*Nagata K. YB-1 functions as a porter to lead influenza virus ribonucleoprotein complexes to microtubules. *J. Virol.*, 2012; 86: 11086-11095.
68. Komatsu T, \*Nagata K. Replication-uncoupled histone deposition during adenovirus DNA replication. *J. Virol.*, 2012; 86: 6701-6711.
69. Date T, Kato T, Kato J, Takahashi H, Morikawa K, Akazawa D, Murayama A, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M, \*Wakita T. Novel cell culture-adapted genotype 2a hepatitis C virus infectious clone. *J. Virol.*, 2012; 86: 10805-10820.
70. Saeed M, Gondeau C, Hmwe S, Yokokawa H, Date T, Suzuki T, Kato T, Maurel P, \*Wakita T. Replication of hepatitis C virus genotype 3a in cultured cells. *Gastroenterology*, 2013; 144: 56-58 e57.
71. \*Kumeta M, Yamaguchi H, Yoshimura SH, Takeyasu K. Karyopherin-independent spontaneous transport of amphiphilic proteins through the nuclear pore. *J. Cell Sci.*, 2012; 125: 4979-4984.
72. Prieto E, \*Hizume K, Kobori T, Yoshimura SH, Takeyasu K. Core histone charge and linker histone H1 effects on the chromatin structure of *Schizosaccharomyces pombe*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2012; 76: 2261-2266.
73. Shin M, Lagda AC, Lee JW, Bhat A, Rhee JH, Kim JS, Takeyasu K, \*Choy HE. Gene silencing by H-NS from distal DNA site. *Mol. Microbiol.*, 2012; 86: 707-719.
74. Onomoto K, Jogi M, Yoo JS, Narita R, Morimoto S, Takemura A, Sambhara S, Kawaguchi A, Osari S, Nagata K, Matsumiya T, Namiki H, Yoneyama M, \*Fujita T. Critical role of an antiviral stress granule containing RIG-I and PKR in viral detection and innate immunity. *PLoS One*, 2012; 7: e43031.★
75. Shinohara M, Io K, \*Shindo K, Matsui M, Sakamoto T, Tada K, Kobayashi M, Kadowaki N, Takaori-Kondo A. APOBEC3B can impair genomic stability by inducing base substitutions in genomic DNA in human cells. *Sci. Rep.*, 2012; 2: 806.
76. Furukawa A, Okamura H, Morishita R, Matsunaga S, Kobayashi N, Ikegami T, Kodaki T, Takaori-Kondo A, Ryo A, Nagata T, \*Katahira M. NMR study of xenotropic murine leukemia virus-related virus protease in a complex with



- amprenavir. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2012; 425: 284-289.★
77. Ito M, Yanagi Y, \*Ichinohe T. Encephalomyocarditis Virus Viroprotein 2B Activates NLRP3 Inflammasome. *PLoS Pathog.*, 2012; 8: e1002857.
78. \*Shirogane Y, Watanabe S, \*Yanagi Y. Cooperation between different RNA virus genomes produces a new phenotype. *Nat. Commun.*, 2012; 3: 1235.
79. Nakashima M, \*Shirogane Y, Hashiguchi T, \*Yanagi Y. Mutations in the putative dimer-dimer interfaces of the measles virus hemagglutinin head domain affect membrane fusion triggering. *J. Biol. Chem.*, 2013; 288: 8085-8091.
80. \*Watanabe S, Shirogane Y, Suzuki SO, Ikegame S, Koga R, \*Yanagi Y. Mutant fusion proteins with enhanced fusion activity promote measles virus spread in human neuronal cells and brains of suckling hamsters. *J. Virol.*, 2013; 87: 2648-2659.
81. Wang J, Shiratori I, Uehori J, Ikawa M, \*Arase H. Neutrophil infiltration during inflammation is regulated by PILRalpha via modulation of integrin activation. *Nat. Immunol.*, 2013; 14: 34-40.
82. Yamayoshi S, Iizuka S, Yamashita T, Minagawa H, Mizuta K, Okamoto M, Nishimura H, Sanjoh K, Katsushima N, Itagaki T, Nagai Y, Fujii K, \*Koike S. Human SCARB2-dependent infection by coxsackievirus A7, A14, and A16 and enterovirus 71. *J. Virol.*, 2012; 86: 5686-5696.
83. Abe Y, Fujii K, Nagata N, Takeuchi O, Akira S, Oshiumi H, Matsumoto M, Seya T, \*Koike S. The toll-like receptor 3-mediated antiviral response is important for protection against poliovirus infection in poliovirus receptor transgenic mice. *J. Virol.*, 2012; 86: 185-194.
84. Haraguchi T, Nakano H, Tagawa T, Ohki T, Ueno Y, Yoshida T, \*Iba H. A potent 2'-O-methylated RNA-based microRNA inhibitor with unique secondary structures. *Nucleic Acids Res.*, 2012; 40: e58.
85. Ishizaka A, Mizutani T, Kobayashi K, Tando T, Sakurai K, Fujiwara T, \*Iba H. Double plant homeodomain (PHD) finger proteins DPF3a and -3b are required as transcriptional co-activators in SWI/SNF complex-dependent activation of NF-kappaB RelA/p50 heterodimer. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 11924-11933.
86. Kurashima Y, Amiya T, Nochi T, Fujisawa K, Haraguchi T, Iba H, Tsutsui H, Sato S, Nakajima S, Iijima H, Kubo M, \*Kunisawa J, \*Kiyono H. Extracellular ATP mediates mast cell-dependent intestinal inflammation through P2X7 purinoceptors. *Nat. Commun.*, 2012; 3: 1034.
87. Sekine Y, Hatanaka R, Watanabe T, Sono N, Iemura S, Natsume T, Kuranaga E, Miura M, Takeda K, \*Ichijo H. The Kelch repeat protein KLHDC10 regulates oxidative stress-induced ASK1 activation by suppressing PP5. *Mol. Cell*, 2012; 48: 692-704.
88. \*Yamamichi M, Sasaki A. Single-gene speciation with pleiotropy: effects of allele dominance, population size, and delayed inheritance. *Evolution*, 2013; 67: 2011-2023.
89. Watanabe T, Urano E, Miyauchi K, Ichikawa R, Hamatake M, Misawa N, Sato K, Ebina H, Koyanagi Y, \*Komano J. The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDI/D4GDI limits HIV type 1 replication. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2012; 28: 913-922
90. \*Ebina H, Kanemura Y, Suzuki Y, Urata K, Misawa N, Koyanagi Y. Integrase-independent HIV-1 infection is augmented under conditions of DNA damage and produces a viral reservoir. *Virology*, 2012; 427: 44-50.
91. Sato K, Misawa N, Fukuhara M, Iwami S, An DS, Ito M, \*Koyanagi Y. Vpu augments the initial burst phase of HIV-1 propagation and downregulates BST2 and CD4 in humanized mice. *J. Virol.*, 2012; 86: 5000-5013.
92. Fukuhara M, \*Iwami S, \*Sato K, Nishimura Y, Shimizu H, Aihara K, Koyanagi Y. Quantification of the dynamics of enterovirus 71 infection by experimental-mathematical investigation. *J. Virol.*, 2013; 87: 701-705.

#### ホームページ、公開發表等

- ・ 領域ホームページ : <http://www.md.tsukuba.ac.jp/basic-med/infcompetence/index.html>
- ・ 領域ニューズレター第一号、第二号を発行し、領域の活動内容を公表した。
- ・ 2013年9月感染コンピテンシー若手研究会、第12回あわじしま免疫感染症フォーラム主催。
- ・ 2014年11月国際シンポジウム“Dynamic interplay between viruses and their hosts”を開催予定。

#### アウトリーチ活動

- ・ ウイルス学の入門書「ウイルス ミクロの賢い寄生体」(Dorothy H. Crawford 著、永田恭介監訳)を発行。
- ・ アウトリーチ活動：ウイルス学会との共催で高校生ウイルス学体験講座開催(平成25年7月石川県立泉ヶ丘高校1年生7名、平成25年8月栃木県立宇都宮女子高校1年生10名、2年生12名)。



## 9. 今後の研究領域の推進方策（2ページ程度）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募班での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

### （1）研究計画

計画研究として立ち上げたウイルス増殖に必要な宿主因子の同定やその因子の奪取等に関わる研究、宿主によるウイルス認識のメカニズム等に関する研究は順調に進行し、研究期間中の計画班員、公募班員の発表した論文は合計で200を越えている。これらの研究に関しては今後も予定通り遂行する。

従来のウイルス学研究の手法に加えて構造生物学、網羅的解析、数理モデルを取り入れることを総括班の活動の目標とした。領域会議等で積極的に共同研究をコーディネートしたことが功を奏し、数多くの共同研究が開始された（構造生物学に関わる共同研究14件、数理解析2件、オミックス解析4件）。引き続き異分野協業を推進することとする。従来のウイルス研究者間の共同研究も10件程開始された。

### （2）総括班会議・領域会議の開催

領域内の意思疎通を図り、研究成果や情報を共有する目的で一年間に二回の総括班会議ならびに領域会議を行ってきた。会議では領域評価委員ならびに学術審議官にご出席いただき、方向性やこれまでの進捗状況についてご意見を伺い、適宜確認を行っている。この方針は今後も継続する予定である。

### （3）若手研究者の育成

本領域では、若手研究者育成のため（1）若手研究会の開催、（2）国際学会への参加支援、（3）領域内での異分野協業による育成（共同研究インターンシップシステム）を行った。

若手研究会は今後も年1回のペースで企画し、国際学会支援は年に3回数件の募集を行う。

共同研究インターンシップは平成25年度には5件が採択された。うち1件はすでに実験結果を論文として発表し大きな効果があったと認められた。その他についてもデータは蓄積しつつあり、中間評価以降に多数の共同研究論文が発表できることが期待できる。総括班はこれを加速するべく今後も支援を続ける。

### （4）関連研究会の開催等

関連研究集会の開催、支援として、第12回あわじしま免疫・感染症フォーラムを主催した。領域会議以外でも班員が多数参加し、討論の機会が増えた。この方針は来年度以降も継続する。

国際シンポジウムは3年目ならびに5年目に開催を予定している。3年目に当たる今年は11月に横浜で”Dynamic interplay between viruses and their hosts“というタイトルで開催する。国際シンポジウムの開催により招聘する国外研究者との連携を深め、組織強化を行う。

### （5）研究成果の社会・国民、領域外への発信

継続して、ホームページの運用と年1～2回のニュースレターの発刊を行う。

アウトリーチ活動はこれまで通り高校生ウイルス学体験講座を企画している他、市民講座等を開催し、一般の人に向け、ウイルス学研究成果の普及に努める。平成26年10月に東京都との共催により「都民講座」を開催する予定である。

### （6）第二期公募班員の選定

当初採択時に計画班の中にウイルス病理学の解析を担当する研究者が不足しているのではないかと指

摘があった。第一期の公募班の中では該当する応募者がいなかったため、第二期の公募においては採択し、領域全体に対する貢献を図る。