

図3 今後の研究計画

細胞の極性形成、維持に関与する新規遺伝子を線虫で同定し、そのダイナミクスを解析すると共に相同遺伝子の欠損マウスを作製して哺乳類でのその遺伝子の機能を解析することで、その遺伝子の種を超えた役割を解明する。

*J. Cell Biol.*, **170**, 521–526.

4) Segev, N. (2001) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **13**, 500–511.

5) Lafont, F., Lecat, S., Verkade, P., & Simons, K. (1998) *J. Cell Biol.*, **142**, 1413–1427.

6) Mostov, K.E., Verges, M., & Altschuler, Y. (2000) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **12**, 483–490.

7) Sato, T., Mushiake, S., Kato, Y., Sato, K., Sato, M., Takeda, N., Ozono, K., Miki, K., Kubo, Y., Tsuji, A., Harada, R., & Harada, A. (2007) *Nature*, **448**, 366–369.

8) Huber, L.A., Pimplikar, S., Parton, R.G., Virta, H., Zerial, M., & Simons, K. (1993) *J. Cell Biol.*, **123**, 35–45.

9) Huber, L.A., de Hoop, M.J., Dupree, P., Zerial, M., Simons, K., & Dotti, C. (1993) *J. Cell Biol.*, **123**, 47–55.

10) Harada, A., Oguchi, K., Okabe, S., Kuno, J., Terada, S., Ohshima, T., Sato-Yoshitake, R., Takei, Y., Noda, T., & Hirokawa, N. (1994) *Nature*, **369**, 488–491.

11) Pecache, N., Patole, S., Hagan, R., Hill, D., Charles, A., & Papadimitriou, J.M. (2004) *Postgrad Med. J.*, **80**, 80–83.

原田 彰宏

(群馬大学生体調節研究所細胞構造分野)

Analyses of molecules involved in intracellular polarized transport

Akihiro Harada (Laboratory of Molecular Traffic, Department of Molecular and Cellular Biology, Institute for Molecular and Cellular Regulation, Gunma University, 3-39-15 Showa, Maebashi, Gunma 371-8512, Japan)

## シアノバクテリア概日時計タンパク質 KaiC のリン酸化

### 1. はじめに

概日リズムは高等動植物から原核生物に至るまで自然界で広く見いだされる約24時間周期の生物リズムである。このリズムは環境の照度や温度などの日周変動に対する直接的な反応として生じるのではなく、内因性の概日時計により駆動されている。1990年代を中心に、様々な生物種において、概日時計遺伝子がクローニングされたのを機に、概日時計の発振メカニズムの研究がさかんに行われているが、その全貌は未だ不明である。本稿では、概日時計研究における唯一の原核モデル生物であるシアノバクテリア概日時計発振機構の研究の現状を、特に時計タンパク質 KaiC のリン酸化に注目して紹介したい。

### 2. 概日リズムとは？

概日時計は、昼夜の照度や温度の変化などの環境変動をあらかじめ予測し、それに備えることによって効率的に生

命活動を行うために生物が備えた機構であると考えられる。また光周性にも関わっており、概日時計を用いて日長を測定することによって、適切な季節に植物の花成や動物の生殖、休眠などを行うことができる。概日リズムの周期は温度補償性を示し、生理的な温度の範囲内ではほぼ一定である。もう一つの特徴として、同調性があげられる。照度や温度などの変動のない恒常条件下においては、リズムは24時間から少し離れた固有の周期で自律的に継続するが、周期的に変化する環境因子が存在する場合は、それと一致した周期で一定の位相関係を保ちながら振動する。近年概日リズムと様々な疾患との関連も指摘されており、概日時計のメカニズムを解明することは医学的にも大きな意義がある。

### 3. 概日リズムの普遍性

概日リズムは高等動植物から原核生物まで広く観察されているが、概日時計遺伝子も広く保存されているというわけではない。哺乳類と鳥類、ショウジョウバエの概日時計システムは、共通な時計タンパク質のホモログから構成されているものの、アカパンカビやシロイヌナズナ、およびシアノバクテリアの概日時計システムは、それぞれ全く起源が異なる時計遺伝子によって構成されている<sup>1,2)</sup>。これまで概日リズムの普遍性は、異なる時計遺伝子のセットにより構成される「転写・翻訳のネガティブフィードバックループ」<sup>1,2)</sup>という共通の発振機構によってもたらされると考えられてきた。このモデルをごく簡単に説明すると、正の転写因子による、負のフィードバック因子をコードする遺伝子の転写促進と、その翻訳産物による、正の転写因子の活性の抑制が交互に繰り返して起こることによって、概日時計が発振しているということになる。しかしながら、2005年のシアノバクテリアでの試験管内概日リズム再構成の報告<sup>3)</sup>は、このモデルに対する反証となった。

### 4. シアノバクテリアの概日時計遺伝子

ここで、シアノバクテリア時計遺伝子の発見から、概日リズム再構成までを振り返ってみたい。シアノバクテリアは、概日時計研究における唯一の原核モデル生物である。シアノバクテリアは高等植物と同様の、酸素発生型光合成を行い、細胞共生説では葉緑体の祖先とされている。1998年に石浦らによる、ルシフェラーゼ発光レポーターを用いたスクリーニングにより、シアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC7942 の時計遺伝子として *kaiA* および *kaiBC* オペロンが発見された<sup>4)</sup>。 *kaiBC* プロモーター活性

は概日リズムを示し、*kaiA*, *kaiB*, *kaiC* のいずれを破壊してもリズムは消失する<sup>4)</sup>。さらに *kaiBC* プロモーター活性は *KaiA* により促進され、*KaiC* により抑制されることから、シアノバクテリアにおいても転写・翻訳のフィードバックループの存在が示された<sup>4)</sup>。当初は、このフィードバックループが概日時計の発振機構であると考えられてきた。

### 5. KaiC の自己リン酸化/自己脱リン酸化

*KaiC* は自己リン酸化<sup>5)</sup>および自己脱リン酸化活性<sup>6)</sup>を示し、*KaiC* のリン酸化レベルは、シアノバクテリア細胞内で概日リズムを示す<sup>7)</sup>。*KaiA* は *KaiC* の自己リン酸化を促進し<sup>7)</sup>、*KaiB* は *KaiA* の効果を打ち消す形で、自己リン酸化を抑制する<sup>8)</sup>。*KaiC* は N 末端側半分 (CI ドメイン) と C 末端側半分 (CII ドメイン) で高い相同性を示し、それぞれに ATPase に広く保存されている WalkerA および B motif が存在する<sup>4)</sup>。X 線結晶構造解析の結果、*KaiC* は ATP 存在下でドーナツを二つ重ねたような形の六量体構造をとることが明らかとなった<sup>9)</sup>。質量分析により、自己リン酸化部位として、CII ドメインの S431 と T432 の 2 箇所が同定されたが<sup>10)</sup>、これらは六量体を構成するプロトマーの境界面で、隣のプロトマーに結合する ATP の  $\gamma$ -OH 基から 10 Å 以内の距離に存在している<sup>11)</sup>。林らは、CII ドメイン単独型の *KaiC* 単量体と自己リン酸化活性を欠く E318Q 変異を持つ全長型 *KaiC* 単量体を混合することによって形成されたヘテロ六量体においては、E318Q 変異型 *KaiC* プロトマーもリン酸化を受けることから、リン酸化反応は、隣り合うプロトマー間で起こる反応であることを示している<sup>12)</sup>。リン酸化部位のいずれか一方でも Ala に置換したシアノバクテリア株においては、概日リズムが失われたことから、これらの残基のリン酸化は、概日時計機構において重要な役割を果たしていることが推測される<sup>10)</sup>。

### 6. 概日時計の試験管内再構成

シアノバクテリアは、光合成ができない恒暗条件下では、転写・翻訳をふくめ、細胞の様々な活性が著しく低下する。しかしながら、富田らによって *KaiC* のリン酸化リズムは依然として継続していることが明らかとなった<sup>13)</sup>。これは、転写・翻訳フィードバックループモデルと矛盾する。この結果を受けて中嶋らは反応条件の検討を行い、*KaiA*, *KaiB*, *KaiC* を ATP とともに混合することによってリン酸化の概日リズムの試験管内再構成に成功した<sup>3)</sup>。リ

ン酸化リズムの周期は、35℃、30℃、25℃でほとんど変わらず ( $Q_{10}=1.1$ )<sup>脚註</sup>温度補償性を示す<sup>3)</sup>。伊藤らは、異なる位相でリン酸化リズムを刻んでいる KaiC を混合すると、リズムは単純な重ね合わせにより打ち消し合うのではなく即座に同調し、混合前と同程度の高い振幅を保っていることを発見した<sup>14)</sup>。この同調の過程には、六量体間での単量体交換反応が重要な役割を果たしていると考えられている<sup>14)</sup>。

以前は細胞レベルでの課題であった概日時計発振メカニズムの解析が、試験管内再構成が可能になって以来、新たにタンパク質科学の課題としても捉えられるようになった。また得られた結果を用いて、概日振動子のモデリングなどの、数理生物学的研究がさかんに行われるようになった。

#### 7. 4種類のリン酸化/脱リン酸化型 KaiC の同定

筆者らはこの *in vitro* 概日リズム再構成系を用いて、自己リン酸化部位の機能を明らかにしようとして試みた。二つの部位の状態の組み合わせから、リン酸化状態の異なる4種類の KaiC が存在することになるが、これらを区別して検出するために、まず KaiC を SDS-PAGE により4本のバンドとして分離できるアクリルアミドゲルの濃度および泳動距離を検討した。次に質量分析により、これらのバンドと4種類のリン酸化/脱リン酸化型との対応づけを行い、それぞれの経時変化を追った (図 1A 上段)。その結果、脱リン酸化型 (S/T) → T432 リン酸化型 (S/pT) → 二重リン酸化型 (pS/pT) → S431 リン酸化型 (pS/T) の順に約4時間の位相差を持ってリズムを刻んでいることが明らかとなった (図 1B)。さらに  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$  ATP を用いて、リン酸基の取り込みを調べたところ、リン酸基はまず S/pT に、続いて pS/pT に取り込まれるが、pS/T への取り込みはほとんど見られなかった (図 1A 下段)。これらの結果から、リン酸化サイクルの反応は、T432 のリン酸化 → S431 のリン酸化 → T432 の脱リン酸化 → S431 の脱リン酸化の順で起こっていると考えられる<sup>15)</sup>。

#### 8. KaiC のリン酸化状態による活性の制御

これらの結果から、KaiC のリン酸化/脱リン酸化反応

$Q_{10}$ : 温度係数

ある過程の 10℃ の温度差に対する反応速度の比率。温度  $T_1$  のときの反応速度を  $v_1$ 、 $T_2$  のときを  $v_2$  とすると  $Q_{10} = (v_2/v_1)^{10/(T_2-T_1)}$  と表される。化学反応を含む生物学的過程では  $Q_{10}$  の値は 2 から 3 であることが多い。

は、KaiC のリン酸化状態により制御されているのではないかと予想した。そこで一方の残基をアラニンに置換することで脱リン酸化状態を、あるいは酸性アミノ酸で置換することによってリン酸化状態を模倣した変異型 KaiC のセットを作成し、他方の正常な残基におけるリン酸化/脱リン酸化反応への影響を調べた。その結果、(1) S431 がリン酸化、脱リン酸化されるためには、それに先立って T432 がリン酸化/脱リン酸化されている必要があること、(2) S431 は KaiC の活性を切り替えるスイッチのような役割を果たしており、S431 が脱リン酸化状態のときは、KaiC は自己リン酸化活性を示し、S431 がリン酸化されているときは、自己脱リン酸化活性を示すことが明らかとなった<sup>15)</sup> (図 1C)。おそらく活性中心付近における、S431 のリン酸化に伴う構造変化により、活性の切り替えが起こっているものと想像される。一方 O'Shea らのグループによっても4種類のリン酸化/脱リン酸化型 KaiC が決まった順序で現れることが報告されているが、彼らはその原因を Kai タンパク質間相互作用 (後述) による、KaiC の自己リン酸化/自己脱リン酸化活性の調節によるものと考えている<sup>16)</sup>。

#### 9. Kai タンパク質間相互作用とリン酸化

S431 のリン酸化状態は自身の活性制御だけでなく、Kai タンパク質間相互作用の制御も行っていることも明らかとなった。KaiA、KaiB、KaiC は *in vivo*、*in vitro* ともに KaiC のリン酸化レベルが高い時刻に複合体を形成することが明らかになっていた<sup>17,18)</sup>。そこでリン酸化部位変異体を用い、タンパク質間相互作用の解析を行ったところ、Kai タンパク質複合体形成は KaiC のリン酸化の結果として起こり、KaiB は S431 がリン酸化状態の KaiC に結合すること、KaiA-KaiC の結合は、KaiB によって促進され、その効果は KaiB が KaiC と結合している場合に特に高いことを見いだした<sup>15)</sup> (図 2A)。さらにリン酸化サイクルにおいて、リン酸化活性の高い 20 時間目と低い 8 時間目において (図 2B 上段)、 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$  ATP によるラベル後、ゲル濾過クロマトグラフィーを行い、複合体形成とリン酸基の取り込みの関係を調べた。20 時間目には KaiC 単独の六量体にあたる、約 440 kDa のピークが検出され、この画分で高いリン酸基の取り込みが見られた。8 時間目に形成されている高次複合体中へは、リン酸基の取り込みは起こらなかった<sup>15)</sup> (図 2B 中段および下段)。これらの結果から、KaiA は KaiC と弱い結合と解離を繰り返す形で相互作用することによって KaiC のリン酸化を促進し、KaiB-KaiC 複

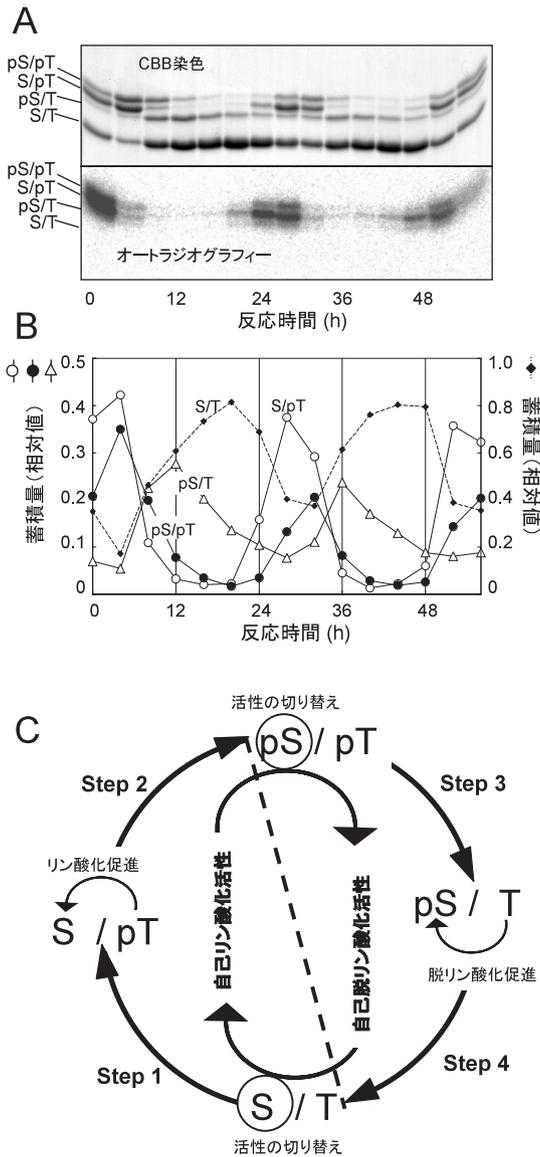


図1 S431とT432のリン酸化状態に由来する4種類のリン酸化/脱リン酸化型 KaiCの蓄積量の経時変化 (文献15)より改変

(A) KaiCリン酸化リズムを *in vitro* で再構成し、4時間毎に一部をサンプリングした。ここに  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$  ATPを加えさらに30分反応させた後、SDS-PAGEを行い、CBB染色 (上段) およびオートラジオグラフィ (下段) によりシグナルを検出した。4本のバンドと各リン酸化/脱リン酸化型との対応づけには、質量分析を用いた。これらは、脱リン酸化型 (S/T)、T432単独のリン酸化型 (S/pT)、二重リン酸化型 (pS/pT)、S431単独のリン酸化型 (pS/T) の順でサイクルを繰り返していた (上段)。リン酸基はまず S/pTに、続いて pS/pTに取り込まれた。pS/Tへの取り込みはこれらに比べると非常に低かった (下段)。

(B) CBB染色の結果をデンストメトリーにより定量した。

(C) 上の結果およびリン酸化部位変異体を用いた解析<sup>15)</sup>より考えられる、KaiCリン酸化の振動メカニズム。S431のリン酸化状態により、KaiCの活性は自己リン酸化活性/自己脱リン酸化活性の間でスイッチされる。

合体が KaiA を強固にトラップすると、KaiA の機能が阻害されるのではないかと考えられる。筆者らは、Kai タンパク質間相互作用は、先に述べた KaiC 単量体交換反応とともに、系内の個々の KaiC 分子が刻むリズムを同調させ、安定化させているものと考えている。秋山らは、時分割 X 線小角散乱法により、溶液中で Kai タンパク質複合体の動態を観測した。その結果、リン酸化サイクル開始後初期のステージにおいては、Kai タンパク質の離合集散の過程はリズムの位相決定に関与しており、その後のステージにおいては、KaiC のリン酸化状態に従って離合集散を繰り返していることが示唆された<sup>19)</sup>。

## 10. リン酸化サイクルの周期決定機構

では、周期を約 24 時間にする因子は何であろうか？最近 KaiC は非常に低い ATPase 活性 (15ATP/KaiC 1 分子/1 日) を持つことが明らかとなった<sup>20)</sup>。いくつかの周期変異体を用いて KaiC の ATPase 活性を測定したところ、活性は概日時計の振動数に比例していること、すなわち 1 周期で消費される ATP 量は周期長によらず一定であることが明らかとなった<sup>20)</sup>。このことは、シアノバクテリアでは、ATPase 活性が周期を決めていることを示唆する。また KaiC の ATPase 活性は温度補償されており ( $Q_{10}=1.0$ )、

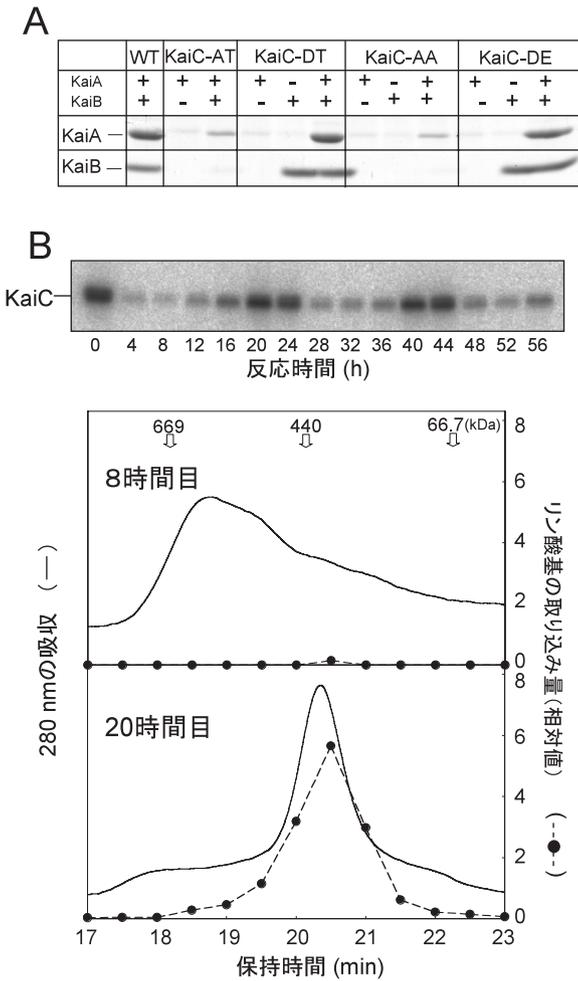


図2 Kaiタンパク質間相互作用とKaiCのリン酸化状態の関係(文献15)より改変)

(A) FLAGタグを持つ野生型およびリン酸化部位変異型 KaiC と KaiA, KaiB との結合を, 抗 FLAG 抗体を用いた免疫沈降により確かめた. 変異型タンパク質は, リン酸化部位をアラニンに置換することによって, 脱リン酸化状態を, 酸性アミノ酸に置換することによってリン酸化状態を模倣している. 以下に用いたタンパク質を示す(括弧内は変異). KaiC-AT (S431A), KaiC-DT (S431D), KaiC-AA (S431A; T432A), KaiC-DE (S431D; T432E). KaiB は S431 がリン酸化状態の KaiC に結合する. また KaiB は KaiA-KaiC の結合を促進し, この効果は KaiB が KaiC と結合している場合に特に高い.

(B) KaiC へのリン酸基の取り込みと Kai タンパク質複合体形成との関係. KaiC リン酸化リズムを再構成し, 4 時間毎にサンプリングした後, [ $\gamma$ - $^{32}$ P] ATP を加えさらに 30 分反応させた. SDS-PAGE およびオートラジオグラフィーにより検出した. リン酸基の取り込み活性はリズムを示した(上段). リズムの谷にあたる時刻(8 時間目, 中段)とリズムのピークにあたる時刻(20 時間目, 下段)において, ゲル濾過クロマトグラフィーを行った. 280nm の吸光度および各フラクションの放射活性を測定した. 20 時間目においては, 約 440 kDa の KaiC 単独の六量体にあたるフラクションから放射活性が検出された(下段). 8 時間目においては, 440 kDa より大きな複合体が形成されており, 複合体からは放射活性は検出できなかった. 20 時間目と同じ位置のフラクションからごくわずかな放射活性が検出された(中段).

概日時計の温度補償性も ATPase 活性という単一の酵素活性からもたらされている可能性がある<sup>20)</sup>. さらに S431, T432 を共に酸性アミノ酸に置換した KaiC においては, ATPase 活性は野生型の約 3 分の 2 に, 共にアラニンに置換した場合は約 2 倍になっていることも明らかになり, リン酸化状態もまた, ATPase 活性に影響を及ぼしていることが考えられる<sup>20)</sup>. 最近村上らはリン酸化部位をアラニンに置換することによって温度補償性が影響をうけることを報告している<sup>21)</sup>.

### 11. 今後の課題

今後は, 自己リン酸化/自己脱リン酸化活性の切り替えメカニズムを, 構造生物学的手法も用いて明らかにしていくこと, ATPase 活性と自己リン酸化/自己脱リン酸化活性および温度補償性との関係を解明していくことが重要であると考えられる.

### 謝辞

本稿で紹介した筆者らの研究は, 名古屋大学大学院理学研究科 近藤孝男先生のご指導のもと, 大阪大学 蛋白質研究所 高尾敏文先生, 里見佳典先生, ならびに近藤研究室の皆様との共同研究により行われました. 改めて感謝いたします. 本研究は文部科学省 学術創成研究費 (15GS 0308), 科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 発展研究 (SORST) によりサポートされました.

- 1) Young, M.-W. & Kay, S.-A. (2001) *Nat. Rev. Genet.*, 2, 702-715.
- 2) Bell-Pedersen, D., Cassone, V.-M., Earnest, D.-J., Golden, S.-S., Hardin, P.-E., Thomas, T.-L., & Zoran, M.-J. (2005) *Nat. Rev. Genet.*, 6, 544-556.
- 3) Nakajima, M., Imai, K., Ito, H., Nishiwaki, T., Murayama, Y., Iwasaki, H., Oyama, T., & Kondo, T. (2005) *Science*, 308, 414-415.
- 4) Ishiura, M., Kutsuna, S., Aoki, S., Iwasaki, H., Andersson, C.-

- R., Tanabe, A., Golden, S.-S., Johnson, C.-H., & Kondo, T. (1998) *Science*, **281**, 1519–1523.
- 5) Nishiwaki, T., Iwasaki, H., Ishiura, M., & Kondo, T. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 495–499.
  - 6) Xu, Y., Mori, T., & Johnson, C.-H. (2003) *EMBO J.*, **22**, 2117–2126.
  - 7) Iwasaki, H., Nishiwaki, T., Kitayama, Y., Nakajima, M., & Kondo, T. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 15788–15793.
  - 8) Kitayama, Y., Iwasaki, H., Nishiwaki T., & Kondo, T. (2003) *EMBO J.*, **22**, 2127–2134.
  - 9) Pattanayek, R., Wang, J., Mori, T., Xu, Y., Johnson, C.-H., & Egli, M. (2004) *Mol. Cell*, **15**, 375–388.
  - 10) Nishiwaki, T., Satomi, Y., Nakajima, M., Lee, C., Kiyohara, R., Kageyama, H., Kitayama, Y., Temamoto, M., Yamaguchi, A., Hijikata, A., Go, M., Iwasaki, H., Takao, T., & Kondo, T. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 13927–13932.
  - 11) Xu, Y., Mori, T., Pattanayek, R., Pattanayek, S., Egli, M., & Johnson, C.-H. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 13933–13938.
  - 12) Hayashi, F., Iwase, R., Uzumaki, T., & Ishiura, M. (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **348**, 864–872.
  - 13) Tomita, J., Nakajima, M., Kondo, T., & Iwasaki, H. (2005) *Science*, **307**, 251–254.
  - 14) Ito, H., Kageyama, H., Mutsuda, M., Nakajima, M., Oyama, T., & Kondo, T. (2007) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 1084–1088.
  - 15) Nishiwaki, T., Satomi, Y., Kitayama, Y., Terauchi, K., Kiyohara, R., Takao, T., & Kondo, T. (2007) *EMBO J.*, **26**, 4029–4037.
  - 16) Rust, M.-J., Markson, J.-S., Lane, W.-S., Fisher, D.-S., & O’Shea, E.-K. (2007) *Science*, **318**, 809–812.
  - 17) Kageyama, H., Kondo, T., & Iwasaki, H. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 2388–2395.
  - 18) Kageyama, H., Nishiwaki, T., Nakajima, M., Iwasaki, H., Oyama, T., & Kondo, T. (2006) *Mol. Cell*, **23**, 161–171.
  - 19) Akiyama, S., Nohara, A., Ito, K., & Maeda, Y. (2008) *Mol. Cell*, **29**, 703–716.
  - 20) Terauchi K., Kitayama, Y., Nishiwaki, T., Miwa, K., Murayama, Y., Oyama, T., & Kondo, T. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 16377–16381.
  - 21) Murakami, R., Miyake, A., Iwase, R., Hayashi, F., Uzumaki, T., & Ishiura, M., (2008) *Genes Cells*, **13**, 387–395.

大川(西脇) 妙子

(名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻  
時間生物学研究グループ)

Phosphorylation of cyanobacterial clock protein KaiC  
Taeko Ohkawa-Nishiwaki (Division of Biological Science,  
Graduate School of Science, Nagoya University, Furo-cho,  
Chikisa-ku, Nagoya 464-8602, Japan)

## ウイルス RNA センサー RIG-I による非自己 RNA 認識機構

### はじめに

ウイルスは、我々の細胞に感染しその機能を巧みに利用して増殖する。一方で細胞は、感染を検知し自然免疫などの生体防御システムを発動させてウイルスの増殖を抑制する。ウイルス感染症の発症と治癒は、これらのバランスが重要なファクターとなる。これまで、ウイルス感染特に RNA ウイルスに対する生体防御機構として I 型インターフェロン (IFN) の発現誘導を介した自然免疫についての解析が進んできた。近年、実際にウイルス RNA を検知する分子が発見されたことで、その非自己 RNA 検知とシグナル誘導の分子メカニズムが急速に解明されつつある。そのひとつが細胞外やエンドソーム内で感染を検知する Toll like receptor (TLR) である。TLR3 と TLR7 はそれぞれウイルス由来の二重鎖 RNA (dsRNA) と一重鎖 RNA (ssRNA) を検知し、IFN や炎症性サイトカインを誘導する。これらは主に樹状細胞などにおける獲得免疫制御に深く関わっていることが知られている。一方、細胞質でウイルス RNA を検知する分子として、retinoic acid inducible gene I (RIG-I) とそのファミリー分子が同定されている。RIG-I は RNA ヘリカーゼであるが、N 末に caspase recruitment domain (CARD) を二つ持つことが特徴であり、ヘリカーゼの RNA 結合能を利用してウイルス RNA を検知し、CARD を介して下流へとシグナルを伝達する。RIG-I ファミリーは多くの組織に発現しており、RNA ウイルス感染に応答した自然免疫誘導において必須な役割を担っている。本稿では、最近明らかになった RIG-I による非自己 RNA 認識機構について概説する。

### 1. RIG-I ファミリーによる IFN 誘導

RIG-I ファミリーは RIG-I, melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5), laboratory of genetics and physiology 2 (LGP2) の三種からなる (図 1)<sup>1,2)</sup>。それぞれ高い相同性を示すヘリカーゼドメインを持つが、N 末に CARD を持つのは RIG-I と MDA5 である。ノックアウトマウスの解析から、両者は共にウイルス検知とそれに続く IFN 誘導において必須な役割を担うことが明らかになっている<sup>3,4)</sup>。ウイルス RNA を検知した RIG-I と MDA5 は、ATP