

**【目的】** 細菌やウイルスが感染すると、生体は免疫応答という生体防御機構を引き起こす。免疫応答には、自然免疫応答と獲得免疫応答があるが、自然免疫応答は免疫応答の初動で重要な役割を果たす即時対応型のシステムであり、サイトカインの誘導を伴う。哺乳類細胞にウイルスが感染すると、細胞外では Toll like receptors (TLRs)、細胞内では Retinoic acid-inducible gene I (RIG-I) like receptors (RLRs) といったウイルスセンサータンパク質がウイルス特有の構成成分を認識し、I 型インターフェロン (IFN) を誘導する。RLRs として RIG-I、Melanoma differentiation-associated protein 5 (MDA5)、Laboratory of genetics and physiology 2 (LGP2) が知られるが、RIG-I と MDA5 はそれぞれ異なる特徴を持つウイルス性 RNA を認識し IFN を誘導するのに対し、LGP2 はこれまでその機能が明確ではなかった。我々はこれまでの研究により、LGP2 が、RNA サイレンシングの主要因子である TAR-RNA binding protein (TRBP) と相互作用することを見出した。本研究では、LGP2 と TRBP の相互作用を介した、自然免疫応答と RNA サイレンシングのクロストーク機構の分子メカニズムの解明を目指した。

**【方法】** まずヒト培養細胞を用いた免疫沈降法により、LGP2 と TRBP の細胞内における相互作用を同定した。次にゲノム編集ツールである CRISPR/Cas9 システムにより、ヒト LGP2<sup>-/-</sup>細胞と TRBP<sup>-/-</sup>細胞を樹立し、それらを用いて RNA サイレンシング活性を測定した。さらにノザンブロットまたは定量 RT-PCR により成熟 miRNA 量を定量した。最後に、RNA シークエンス解析により、TRBP が結合しやすい miRNA の同定とその二次構造的特徴の同定、マイクロアレイ解析によるそれらの標的遺伝子群の発現変動を定量的に解析した。

**【結果】** これまでウイルスセンサーであるとされながらも機能が不明であった LGP2 が、RNA サイレンシングの主要因子である TRBP との相互作用を介して、microRNA (miRNA) による遺伝子発現ネットワークを制御することを見出した。IFN により発現量が増加した LGP2 は TRBP との相互作用を介して、TRBP が結合する特定の miRNA の成熟化を抑制し、その標的遺伝子群を発現上昇させた。LGP2 と TRBP の相互作用を介した特定の miRNA とその遺伝子群の発現制御は、ウイルス感染細胞において生体防御機構として機能していると考えられる。

LGP2 による RNA サイレンシングを介した遺伝子発現制御

