

令和6年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		ウイルスタンパク質間相互作用を標的とした抗新型コロナウイルス薬の開発		
新規・継続の別		新規・継続		
研究代表者	所属	島根大学・医学部・微生物学講座	40歳 以下○	35歳 以下○
	職名・氏名	教授・飯俵 久		
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	島根大学・医学部・微生物学講座	/	/
	職名・氏名	講師・岡田俊平	○	
	所属	島根大学・医学部・微生物学講座	/	/
	職名・氏名	研究員・Tumurugan Zolzaya		○
受け入れ教員	職名・氏名	吉松組子		
概要 (100～150字程度)		新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の複製には、2つのウイルスタンパク質の相互作用が重要と考えられている。この相互作用を阻害するペプチドまたは化合物を探索し、感染細胞及びウイルス感染動物を用いて候補物質の抗ウイルス効果を明らかにする。		
研究目的 (300字程度)		SARS-CoV-2 は、強い伝播性と高い増殖性により、高頻度にゲノムが変異する。従って、従来と異なる作用機序を持つ抗ウイルス薬の開発が望まれている。SARS-CoV-2 は、ゲノム RNA 複製と同時に、8本のサブゲノム RNA を転写する。サブゲノム RNA 転写は、ウイルスの RNA ポリメラーゼと RNA ヘリカーゼが関わりとされている。我々は、組換えウイルスにより、この2つのタンパク質相互部位が、サブゲノム RNA 転写とウイルス複製に必須であることを見出した。そこで、この相互作用を阻害するペプチドまたは化合物を同定し、細胞や動物を用いて、候補物質の抗ウイルス効果を明らかにする。		
研究内容・成果 (1000字程度・Web会議の回数も記載)		ウイルス RNA ポリメラーゼ nsp12 とウイルス RNA ヘリカーゼ nsp13 の相互作用部位は、それぞれ酵素の活性中心から離れている。しかしながら活性中心以外でも、酵素活性に影響を与えている可能性がある。そこで、大腸菌を用いて、野生型及び変異体の組換えタンパク質を作成した。nsp13 の nsp12 との相互作用部位4箇所を全てアラニンに置換した nsp13-4A 変異体では、酵素の ATPase 活性及び RNA ヘリカーゼ活性は、野生型 nsp13 と同等であった。次に、nsp13 と nsp12 の結合を EMSA アッセイで調べた。その結果、RNA 存在下で2つのタンパク質は相互作用を示したが、nsp13-4A では、この相互作用は認められなかった。同時に、複数のプライマーを設計し、nsp13-4A 及び nsp12-4A 組換えウイ		

	<p>ルス感染細胞の再解析を行った。その結果、nsp12-4A 及び nsp13-4A 変異を挿入したウイルスゲノムでは、サブゲノム RNA の発現が劇的に低下するのみならず、ゲノム RNA の発現量も低下していた。SARS-CoV-2 のゲノムサイズは、30kB 近くもある。これらの結果は、nsp13-nsp12 相互作用部位は酵素活性に重要ではないが、2つのタンパク質が相互作用しながらウイルスゲノム上を移動することが、ウイルス複製に重要であることを示唆している。これらの研究成果の一部は、昨年度の日本ウイルス学会で発表した。現在、研究成果の論文投稿の準備を進めており、令和7年の前半には論文を投稿する予定である。</p> <p>これらの実験と同時並行で、タンパク質立体構造解析を Web 上で行う AlphaFold3 を用いて、nsp12-nsp13 の相互作用を阻害するペプチドの探索を行った。この解析によって、複数の候補ペプチドを発見した。現在、これらのペプチドが本当に相互作用を阻害するか、細胞及び組換えタンパク質の解析を行っている。</p> <p>出雲市から札幌市への直行便は夏の1ヶ月間しかなかったが、昨年夏にはまだこれら研究成果は、一部しか得られていなかった。このため、北海道大学に行くことができなかった。その代償として、実験結果、及び実験計画などについて、受け入れ教員と Zoom を用いて2回の話し合いを行った。また e-mail でも複数回の打ち合わせを行った。</p>
成果	<p>【学会発表】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと <u>岡田俊平</u>、Mosammat Mahmuda Khatun、東浦彰史、Moushumi Akter、宇田川愛美、松岡茂、上村尚人、吉山裕規、坂口剛正、<u>飯笹久</u>、SARS-CoV-2 複製における RNA ポリメラーゼ-ヘリケース相互作用の重要性、第71回日本ウイルス学会学術集会。(名古屋),(2024年11月4日-6日)。(コロナウイルス6, Workshop oral presentation)</p> <p>【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ、IF入力のこと</p> <p>【新聞報道】 令和6年10月30日 山陰中央新報「コロナのレプリコンワクチン 接種に一部から懸念の声 メーカーは安全性説明」解説</p> <p>【学位取得者】 学部名・学年または職名・氏名入力のこと</p>