

2022 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	三宅 康之
研究機関名	名古屋大学
所属部署名	大学院医学系研究科ウイルス学
役職名	助教
研究課題名	ウイルス感染における宿主因子の動態と分子機能の解明
研究実施期間	2022 年 4 月 1 日～2023 年 3 月 31 日

研究成果の概要

エンドサイトーシスにより細胞内へ侵入したウイルスのエンドソームからの脱殻反応を試験管内再構成系で確立し、宿主因子とウイルス因子のタンパク質間相互作用を明らかにすることで、創薬研究に繋げることを目的としている。

鶏卵からインフルエンザウイルスを大量精製する方法を当研究室内で確立した。精製インフルエンザウイルスを用いた *in vitro* uncoating によって 8 分節ゲノムの集合体が観察されることを昨年度報告したが、定量的な結果を得るにはその収量を改善する必要がある。*In vitro* uncoating 反応を超遠心分離中に行う方法と試験管内で膜を可溶化処理したサンプルをグリセロール密度勾配遠心する方法とで比較検討したが、大きな改善は見られなかった。8 分節ゲノムの末端にはループ構造が頻繁に観察されていたことから、RNA ポリメラーゼ複合体が各分節末端で相互作用している可能性が示唆された。抗 M1 抗体を用いた免疫電子顕微鏡観察ではウイルスリボヌクレオタンパク質複合体 (vRNPs) 上に、そのシグナルが観察された。このシグナルは 2 本以上の vRNPs が存在するときに観察される傾向にあることから、定量化を目指し、M1 タンパク質が vRNP 同士を繋ぎ止めている可能性を評価する。また、vRNPs 複合体の分子構造基盤の詳細を明らかにするため、インフルエンザウイルスの RNA ポリメラーゼ複合体に対する特異的なナノボディーの発現・精製を行っている。

季節性コロナウイルス 229E 株を用いて高力価ウイルスの精製が可能となり、精製ウイルスおよびウイルス特異的抗体を用いて細胞内侵入後のウイルス粒子の挙動を追跡することができるようになった。ハイスループットイメージアナライザーを用いることで、コロナウイルスの脱殻に働く宿主因子のスクリーニングを開始する準備が整った。精製コロナウイルス内のユビキチン鎖の同定を試みたが、遊離ユビキチン鎖は確認されず、インフルエンザウイルスとは異なる脱殻メカニズムがあることが示唆された。