
革新的抗トリインフルエンザウイルス剤の開発

岡山大学大学院自然科学研究科・教授 世良 貴史

■ 目的

我々は、ヒトパピローマウイルスのような DNA ウイルスを不活性化する革新的な技術を開発した。すなわち、標的 DNA ウイルスゲノムに特異的に結合する人工 DNA 結合タンパク質に DNA 消化酵素を融合させた「人工 DNA 切断酵素」を開発し、従来の抗ウイルス剤よりも 10 万倍高い抗ウイルス活性を示すことに成功した。世界に先駆けて成功した、本手法を拡大適用することにより、効率よく RNA ウイルスを不活性化する先導・革新的な人工 RNA 切断酵素を開発し、トリインフルエンザウイルスを不活性化することを目指す。

■ 方法

本研究では、トリインフルエンザウイルスを標的とした人工 RNA 切断酵素を開発する。そのため、以下の実験を行った。

・トリインフルエンザ用の人工 RNA 切断酵素のデザインと遺伝子合成

我々のデザイン法に基づいて、高病原性のトリインフルエンザウイルスの標的 RNA に特異的に結合する人工 RNA 結合タンパク質をデザインし、各々に RNA 消化酵素を融合させた人工 RNA 切断酵素遺伝子を作製した。

・トリインフルエンザ用の人工 RNA 切断酵素の動物細胞内での切断活性の検証

作製した人工 RNA 切断酵素遺伝子を動物細胞用発現ベクターに導入した。すでに、当研究室では、ヒトインフルエンザ用の動物細胞でのウイルス複製系を構築している。そこで、これを応用して、トリインフルエンザ用のウイルス複製系を構築し、この系に人工 RNA 切断酵素の発現ベクターを導入し、トリインフルエンザウイルスの複製の阻害能を評価した。

■ 結果および考察

まず、デザインした人工 RNA 結合タンパク質の標的 RNA への結合能を評価した。この動物細胞を用いた評価系において、レポーター活性の減少率から、人工 RNA 結合タンパク質は細胞内で高い親和性で標的配列に結合することが示された。そこで、標的配列を変異させた評価系を用いて配列特異性を評価したところ、非特異的な結合は確認されず、人工 RNA 結合タンパク質が標的配列に特異的に結合していることが示された。

次に、動物細胞を用いたレポーター遺伝子の翻訳評価系において、人工 RNA 切断酵素の翻訳阻害能を評価したところ、標的配列のコピー数依存的にレポーター活性の減少を確認でき、標的配列が 1 コピーにおいても効果的に翻訳阻害が見られた。また、標的配列を変異させた評価系において配列特異性を確認したところ、非特異的な結合は確認されず、本評価系においても人工 RNA 切断酵素は標的配列に特異的に結合しており、効果的に翻訳を阻害していることが示された。

最後に、作製した人工 RNA 切断酵素を用いて、動物細胞でウイルス複製を模倣した複製系において性能を評価したところ、この系においても大幅な翻訳阻害能が見られ、人工 RNA 切断酵素の有効性が示された。

■ 結語

以上の結果より、開発した人工 RNA 切断酵素が細胞内で標的 RNA 配列に特異的に結合し、切断することで、効果的に標的遺伝子の翻訳を阻害できることを実証することに成功し、本研究目的を達成することができた。今後、当該人工酵素を用いて、さらに研究を進め、革新的抗トリインフルエンザウイルス剤の開発につなげていきたいと考えている。