
殺ウイルス活性を有する加熱変性リゾチームの 新型コロナウイルス制御への応用研究

帯広畜産大学グローバルアグロメディシン研究センター・助教 武田 洋平

■ 目的

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の制御においては、既存のワクチン接種や治療に加え、手指や環境中のウイルスの不活化といった、高度な医療行為を必要とせずとも万人が容易に実行可能な感染予防策も重要となる。我々は過去数年間にわたり、ユニークな食品由来素材である加熱変性リゾチーム(heat-denatured lysozyme: HeDeL)がSARS-CoV-2不活化物質として機能するかを解析し、強力なSARS-CoV-2不活化活性を有することを実験的に証明してきた。そこで今年度の研究では、HeDeLのウイルス不活化剤としての応用実現を目標とし、以下の2通りのアプローチ、(1)HeDeLの更なる活性増強の検討、(2)HeDeLのSARS-CoV-2不活化作用機序の解析、を行い新たな知見の獲得を目指した。

■ 方法

各試験液のSARS-CoV-2不活化活性は次の様に解析した。有効成分を含まない対照液または各試験液をウイルス液と混合し、25°Cで一定時間反応させた後、SARS-CoV-2感受性細胞に混合液を接種、培養した。その後、常法(TCID₅₀法)に従い各試験群のウイルス力価を算出した。対照群と各試験液群間で得られたウイルス力価を比較することで、各試験液のウイルス不活化活性を評価した。

これまでの研究によりリゾチームの加熱時における化合物(化合物X)を添加したり、またHeDeL溶液中のNaCl濃度を増加させることで不活化活性が増強することを既に見出している。そのため、上記(1)のアプローチにおいては、化合物X処理およびNaCl濃度増加処理を同時に行うことで、それぞれ単独での処理に比べてウイルス不活化活性がより増強するかを解析した。

また、上記(2)のアプローチとしては、まず、HeDeLの凝集物形成能がSARS-CoV-2の力価低下に及ぼす影響の解析を行った。即ち、HeDeLとウイルス液を混合すると凝集物が生じることから、この凝集物中に感染性ウイルス粒子がトラップされ物理的に細胞にアクセス出来ず感染が成立しないことによりウイルス力価が低下する可能性を考えた。そこで、HeDeLとウイルスの混合液中の凝集物を遠心分離により分離し上清のみ細胞に接種した場合、遠心をせず凝集物を分離しなかった状態の混合液を細胞に接種した場合と比較しウイルス力価が低下するかを解析した。また、透過型電子顕微鏡(TEM)を用い、HeDeL処理ウイルスの粒子構造の直接観察も行った。

■ 結果および考察

HeDeL作製時の化合物Xの添加および溶液中のNaCl濃度の増強により、ウイルス不活化活性が相加的に増加することを確認した。上記の処理によりHeDeLの電価や立体構造に何らかの変化が生じ、SARS-CoV-2との結合能が上昇した可能性が考えられるが詳細は不明である。またHeDeLとウイルスの混合液から凝集物を分離し、上清のウイルス力価を解析すると著しく低い力価が得られたことから、感染性ウイルスは凝集物中にトラップされた可能性が考えられた。なお、HeDeL処理ウイルスをTEMで観察したところ、HeDeL処理により形成された凝集塊中にウイルスがトラップされている可能性に加え、HeDeLがウイルス粒子構造を直接破壊する可能性を示唆する像が得られた。

■ 結語

本研究によりHeDeLのSARS-CoV-2不活化効率に影響を与える要因や作用機序に関する新たな知見が得られた。今後はこれまでの研究で得られた成果を活かし、HeDeLのウイルス不活化剤としての実社会での応用を目指した発展研究を継続する必要があると考える。