無細胞タンパク質合成システムを利用したコロナウイルス増殖阻害剤のスクリーニング

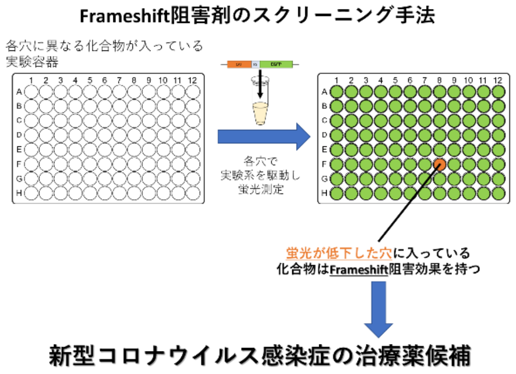
工学研究科　応用化学専攻

〇准教授　町田幸大（まちだこうだい）、M2　野瀬田 奨 太郎（のせだしょうたろう）、田中　凜（たなかりん）、三木世良哉（みきせらや）、

教授　今高寛晃（いまたかひろあき）

キーワード　無細胞タンパク質合成，スクリーニング，ウイルス，タンパク質の翻訳機構

研究概要



新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）のゲノム RNA は、感染した細胞内で複数のウイルスタンパク質に翻訳（変換）されます。それらウイルスタンパク質のうちの 1 つは RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ（RdRp）と呼ばれ、ウイルスのゲノム RNA のコピーを大量に作成します。このコピーされた RNA からまたウイルスタンパク質が翻訳され、これらが組み合わさることで、ウイルス粒子が形成され、ウイルスが増殖します。コロナウイルス RNA の翻訳には、プログラムマイナス 1 リボソームフレームシフト（-1 PRF）と呼ばれる特殊な翻訳プロセスが含まれており、RdRp はこのプロセスによって合成されます。つまり、-1 PRF を阻害すると RdRp が産生されなくなり、ウイルスの増殖が停止します。重要なことは、-1 PRF はコロナウイルスや後天性免疫不全症候群ウイルスなどが採用する特殊な翻訳機構であり、ヒトの翻訳を妨げる可能性が低いことから、新規の治療標的として期待されるということです。そこで、本研究ではヒト細胞抽出液由来の無細胞タンパク質合成系を用いたハイスループットスクリーニングシステムを構築し、創薬機構（https://www.ddi.f.u-tokyo.ac.jp/）が保持する化合物ライブラリー：Core Library 9,600 および Advanced Core Library 22,400 を対象に、SARS-CoV-2 の-1 PRF を阻害する化合物の探索を行いました。その結果、SARS-CoV-2 の-1 PRF を無細胞翻訳アッセイ系およびトランスフェクト細胞アッセイ系の両方において抑制する化合物を同定することに成功しました。

アピールポイント

本研究に使用したヒト細胞由来の無細胞タンパク質合成系は、私たちの研究グループが独自に開発を続けてきた技術であり、改善や改変を自分達の手で行えるという点で独創性が高いと言えます。また、無細胞タンパク質合成技術は、ヒトの翻訳機構の解析に用いられてきましたが、本研究により、コロナウイルス増殖阻害剤のスクリーニングにも応用が可能であることが実証され、阻害剤スクリーニングの技術基盤として有用であることが示されました。本研究の成果は、https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38293767/において

Biotechniques. 2024 Apr;76(4):161-168. doi: 10.2144/btn-2023-0102. Epub 2024 Jan 31.

High-throughput screening for a SARS-CoV-2 frameshifting inhibitor using a cell-free protein synthesis system

Kodai Machida, Rin Tanaka, Seraya Miki, Shotaro Noseda, Mayumi Yuasa-Sunagawa, Hiroaki Imataka

PMID: 38293767 DOI: 10.2144/btn-2023-0102　として論文発表しています。