

2020年5月12日

コロナウイルスの遺伝情報に秘められた機能を解明

1. 発表者：

脇田 寛泰（研究当時：東京大学アイソトープ総合センター・大学院薬学系研究科 修士課程大学院生）
川田 健太郎（東京大学アイソトープ総合センター 特任助教）
山地 雄大（東京大学アイソトープ総合センター・大学院薬学系研究科 修士課程1年生）
服部 恵美（筑波大学大学院人間総合科学研究科 生命システム医学専攻2年生）
土屋 貴穂（筑波大学医学医療系・人工知能科学センター 助教）
和田 洋一郎（東京大学アイソトープ総合センター 教授）
尾崎 遼（筑波大学医学医療系・人工知能科学センター 准教授）
秋光 信佳（東京大学アイソトープ総合センター 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆さまざまなウイルスに由来するゲノム配列から、宿主細胞内でRNAの安定性を高める働き
の強いウイルスRNA配列を発見する新しい手法を開発した。
- ◆SARS コロナウイルスのゲノムからRNAを安定化させるウイルスRNA配列を発見し、そ
の塩基配列や構造が新型コロナウイルスでも保存されていることを見出した。
- ◆新型コロナウイルスをはじめとしてさまざまなウイルスの働きを調べる技術を提供できる。
また、ウイルスのRNA配列情報を利用した核酸医薬の開発基盤を整備できる。

3. 発表概要：

ウイルスが宿主細胞内で増殖して病原性等を発揮するためには、ウイルスのRNA分子が宿主細胞内で安定に存在することが必要です。しかしながら細胞の中でウイルスRNA分子の安定化を引き起こすRNA配列（ウイルスRNA分子全体のなかで、RNAの安定化を決める部分）を迅速かつ大規模に調べる方法はありませんでした。東京大学 秋光教授らと筑波大学 尾崎准教授らの合同研究チームは、多数種類のウイルス由来RNA配列の安定化活性を迅速かつ網羅的に調べる新技術を開発しました。まず、SARS コロナウイルス（SARS-CoV）のRNA配列を解析しました。すると、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）を含むコロナウイルス属内で進化的に保存されることになり、その結果、重要と思われ、かつ、RNA安定化活性の高い配列を発見しました。さらに、これらのRNA配列の形（RNA二次構造）の予測を行いました。この研究は、ヒト細胞で新型コロナウイルスが増殖する仕組みを解明するための重要な情報になると思われ、さらに、今後、合同研究チームはウイルスRNA配列情報を利用した核酸医薬の開発基盤を整備する計画です。

4. 発表内容：

<研究の背景・課題>

ウイルスは、遺伝情報物質であるRNAやDNAなどの核酸分子と、これらを取り巻くタンパク質の殻から構成されます。細胞に感染したウイルスは、自らのRNAやDNAを細胞内に送り込み、宿主細胞の複製機構やタンパク質合成機構を利用することで増殖します。宿主細胞は、これらのウイルスの増殖を抑制するために、入り込んだRNAやDNAを分解する仕組み（核酸分解機構、注1）を持っており、この仕組みが自然免疫応答の一部を担っています。一

方で、ウイルスは、さまざまな分解抑制機構を介して自らの RNA や DNA を安定化することで、宿主細胞が持つ核酸分解機構を逃れます。ウイルスが持つこれらの核酸安定化機構は進化的に保存されており、その感染力や病原性を決める重要な因子となっている可能性が指摘されてきました。したがって、ウイルスの RNA や DNA 分子の安定化を引き起こす配列や高次構造、あるいは、これらの配列に結合するタンパク質を明らかにすることで、ウイルス感染症をより効率的に治療するための標的分子を探索することが可能となります。しかしながら、どのようなウイルス配列が細胞の中でのウイルス RNA や DNA 分子の安定化を引き起こすかを、迅速かつ大規模に調べる方法はありませんでした。

<研究内容>

この問題に対処するべく、東京大学 秋光教授らと筑波大学 尾崎准教授らの合同研究チームは、多数種類のウイルス由来 RNA 配列の安定化活性を網羅的に調べる新技術「Fate-seq」を開発しました(図 1)。この Fate-seq では、遺伝物質である RNA もしくは DNA を断片化し、これらの断片を組み込んだ RNA 分子を人工的に合成します。さらに合成した RNA 分子を生細胞に取り込ませ、一定時間経過後の残存数を次世代シーケンサ(注 2)により定量することで、どのようなウイルス配列が安定化活性を示すのかを網羅的に明らかにすることが可能となります。東京大学と筑波大学の合同研究チームは、重症急性呼吸器症候群(SARS、注 3)の原因となる SARS コロナウイルス(SARS-CoV)を含む 26 種類のウイルスからウイルス配列を生成し、安定化活性を持つ計 625 種類の配列を同定しました。

同定された安定化配列を調査したところ、SARS コロナウイルスに由来する 21 種類の安定化配列が含まれていました。これは、今回検討した RNA ウイルス(注 4)の中で最多となります。そこで、これらの SARS コロナウイルスに由来する安定化配列が、コロナウイルス科のさまざまなウイルスでどの程度保存されているのかを確認したところ、特に進化的保存性の高い 2 種類の配列が同定されました(図 2)。これらの安定化配列は、新型コロナウイルス感染症(COVID19、注 5)の原因となる新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)との間でも、92.7%および 84.6%と高い塩基保存性を示すことが確認されました。さらに、これらの RNA 配列の形(RNA 二次構造)を予測したところ、片方の配列(COV001)では、新型コロナウイルスにおいて 2 つの塩基が変異を起こした結果、RNA 安定化活性を高めるステムループ構造(注 6)が新たに形成される可能性が示唆されました。また、もう一方の配列(COV002)では、SARS コロナウイルスと新型コロナウイルスの両方で、ステムループ構造が多数形成されることが予測されました。これらの結果は、同定された安定化配列が、SARS コロナウイルスと新型コロナウイルスの両方において RNA 分子の安定性を高める働きをすると同時に、新型コロナウイルスではより強固な安定化配列が形成されている可能性を示唆しています。

<研究の波及性、創薬への期待>

細胞内に入り込んだウイルスをどのように制御するのかは、ウイルス感染症に対する治療法を考えるうえで重要な問題となります。本研究で開発した Fate-seq は、ウイルスに由来する RNA 配列のなかで、RNA 安定化活性に強く影響する核酸配列を、迅速かつ網羅的に決定するための強力な戦略となりえます。ここで、このような RNA 安定化部位においては、RNA 結合タンパク質と呼ばれる一群のタンパク質が結合し、その安定性を高めることが知られています。本研究で同定された RNA 安定化部位に結合する RNA 結合タンパク質を同定することで、細胞内でのウイルスの安定性を決定する機構を明らかにすることが可能となります。これらの RNA 結合タンパク質の活性を人工的に制御することで、より効果的なウイルス治療薬の

設計が期待されます。さらに、近年 DNA や RNA を基本骨格とし、通常の低分子化合物では標的にすることが困難な細胞内 RNA に直接作用する核酸医薬が注目されています。本手法により同定した安定化配列を核酸医薬に組み込むことで、持続時間の制御に利用することも可能です。今後、合同研究チームはウイルス RNA 配列情報を利用した核酸医薬の開発基盤を整備する計画です。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Biochemical and Biophysical Research Communications*

論文タイトル：Stability of RNA sequences derived from the coronavirus genome in human cells

著者：Hiroyasu Wakida, Kentaro Kawata, Yuta Yamaji, Emi Hattori, Takaho Tsuchiya, Youichiro Wada, Haruka Ozaki and Nobuyoshi Akimitsu*

DOI 番号：10.1016/j.bbrc.2020.05.008

アブストラクト URL：

<https://authors.elsevier.com/tracking/article/details.do?aid=44339&jid=YBBRC&surname=Akimitsu>

6. 問い合わせ先：

東京大学アイソトープ総合センター

教授 秋光 信佳（あきみつ のぶよし）

筑波大学医学医療系・人工知能科学センター

准教授 尾崎 遼（おざき はるか）

7. 用語解説：

（注 1）核酸分解機構

ウイルスは DNA 分子あるいは RNA 分子をゲノムとして使用している。宿主細胞は、これら外来性の DNA 分子や RNA 分子といった核酸分子を認識して、特異的に分解する仕組みを進化的に獲得してきた。これを核酸分解機構と呼ぶ。

（注 2）次世代シーケンサ

DNA 分子における塩基の並びを解読する技術。基準となるゲノム配列と、読み取られた配列を比較することで、サンプル内に存在する DNA 分子の網羅的定量が可能となる。

（注 3）重症急性呼吸器症候群（SARS）

2002 年に報告された、SARS コロナウイルス（SARS-CoV）によって引き起こされるウイルス性呼吸器疾患。

（注 4）RNA ウイルス

RNA を遺伝情報物質として持つウイルスの総称。SARS コロナウイルスや新型コロナウイルスは RNA ウイルスに含まれる。

（注 5）新型コロナウイルス感染症（COVID19）

2019年に報告された、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）によって引き起こされるウイルス性呼吸器疾患。

（注6）ステムループ構造

RNA分子内において互いに近接する領域が相補的な配列を持つことで形成される二重らせん構造。RNA分解酵素やRNAポリメラーゼの停止を引き起こし、RNA分解や転写を抑制する。

8. 添付資料：

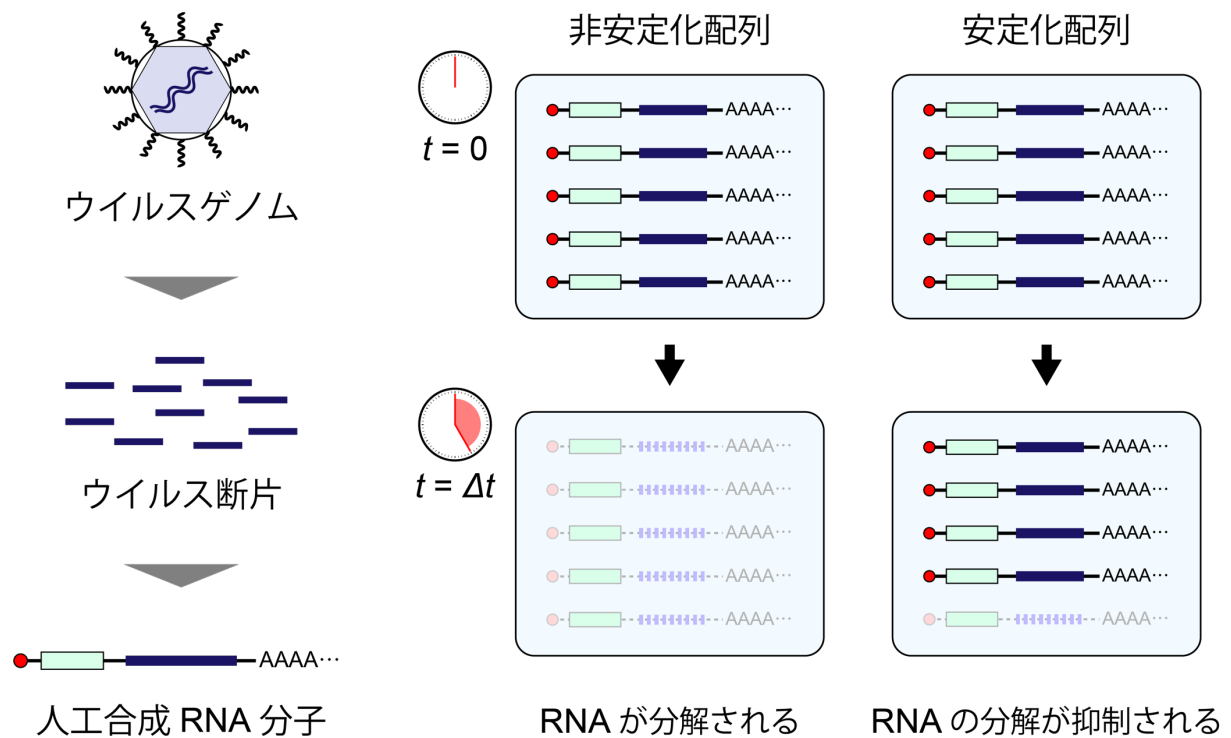


図1 ウイルス由来 RNA 配列の安定化活性を調べる新技術「Fate-seq」の概念図

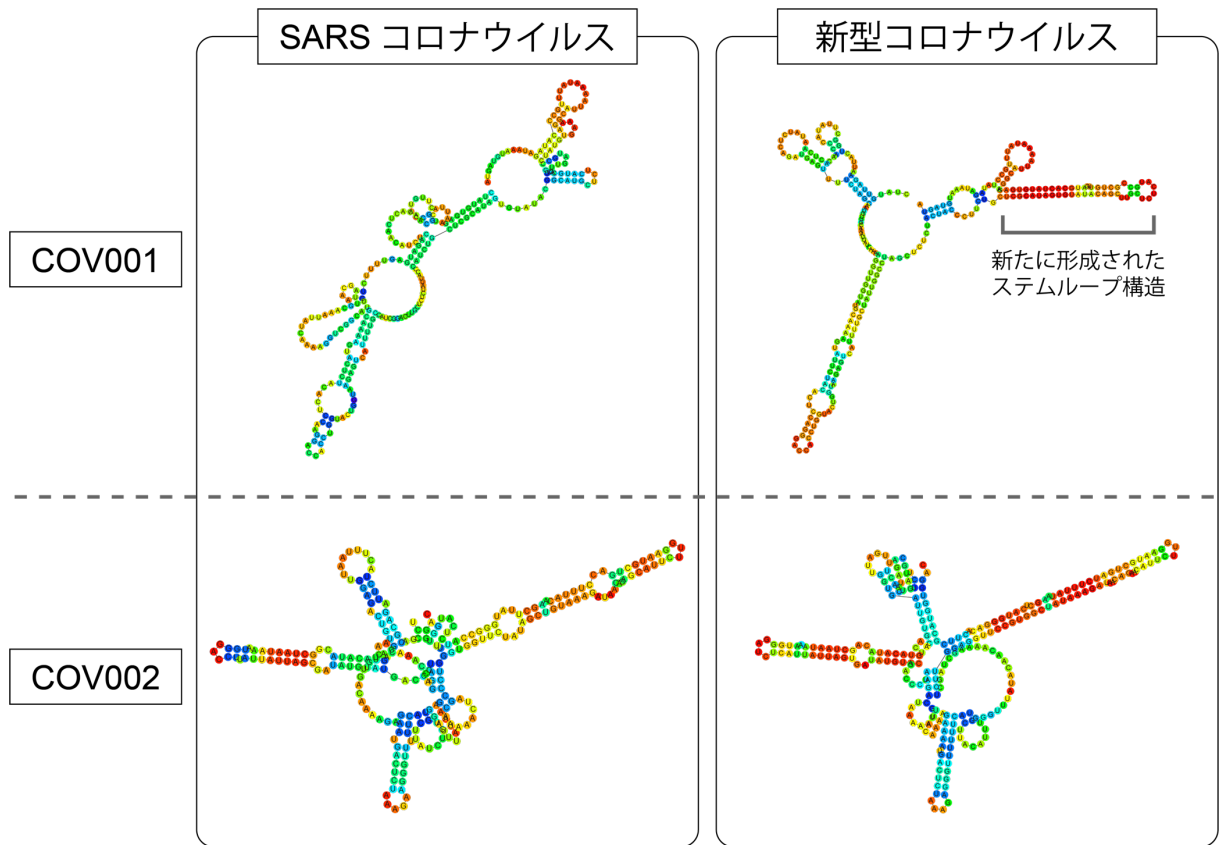


図 2 SARS コロナウイルスおよび新型コロナウイルスにおける、進化的保存性の高い 2 種類の配列および予測された RNA 二次構造