

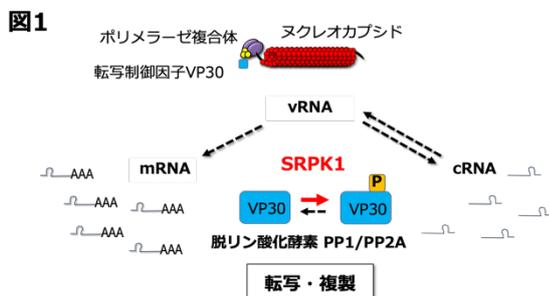
研究助成 2019 – 感染症領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野
氏 名	高松 由基
研究テーマ	エボラウイルス転写因子 VP30 のリン酸化制御機構の解明と治療薬への応用

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
 (図表、写真などの貼付を含む)

(研究の背景と目的) 2014 年に西アフリカで起きたエボラウイルス (EBOV) 感染症の大流行では 1 万人以上の死者が出た。流行はアフリカにとどまらず、アメリカ・ヨーロッパでも感染者が出た。EBOV に対するワクチンおよび治療法は確立していないため、その感染症対策は**国際的に取り組むべき重要な課題**と言える。そこで本研究では、EBOV の転写制御因子に着目し、その機能を制御することでウイルスの増殖を抑えることを考えた。転写制御因子であるウイルスタンパク質 VP30 の脱リン酸化が EBOV の転写に必須であることがわかっており、脱リン酸化酵素は既に同定されていた。しかし VP30 をリン酸化するキナーゼはわかっておらず、VP30 がリン酸化されることの意義も不明であった。そこで本研究は、①**転写制御因子 VP30 をリン酸化する宿主キナーゼを同定すること**、②**宿主キナーゼがリン酸化を制御する分子機構を解明すること**、③**転写機構を標的とする新しい抗 EBOV 薬開発の基盤を構築すること** を目的として開始した。

(研究計画・方法) 本研究では、VP30 をリン酸化するキナーゼが転写・複製機能に及ぼす影響を、レプリコンを用いたレポーターアッセイ法や定量 PCR 法を用いて評価する。さらにキナーゼ阻害剤や遺伝子サイレンシング法を用いて VP30 のリン酸化が転写・複製機能に及ぼす影響を評価する。キナーゼと各 VP30 変異体間の相互作用を蛍光抗体法・共免疫沈降法で評価する。申請者は前駆研究で EBOV の転写・複製の鋳型となるヌクレオカプシドの形成機構を解明するために、非感染性のライブイメージングシステムを構築した。このシステムを用いて、蛍光標識したキナーゼと各 VP30 変異体の相互作用を、転写・複製の場である封入体に着目して視覚化する。以上から**キナーゼが VP30 をリン酸化する分子機構を解明**する。ウイルスの生活環で VP30 がリン酸化修飾される意義を、キナーゼ発現細胞やキナーゼ阻害剤で処理した細胞に EBOV を感染させて評価する。さらに**マウスモデルを用いた病原性解析**を進めることで、VP30 のリン酸化を標的とする新しい機序の抗 EBOV 薬開発の基盤を構築する (図 1)。



レポーターアッセイ、定量PCR法、遺伝子サイレンシング法、キナーゼ阻害薬、ライブイメージングシステム、ウイルス感染細胞、動物モデル など

- ・ 転写制御因子VP30をリン酸化する宿主キナーゼを同定
- ・ VP30の可逆的リン酸化が転写・複製を制御する機構を解明

→ **新しい抗EBOV薬の開発**

(研究に関するこれまでの成果) 本研究で VP30 をリン酸化する宿主細胞キナーゼ SRPK1 が同定され、SRPK1 を介して VP30 の可逆的リン酸化を制御できることがわかった。さらに SRPK1 が作用する VP30 のペプチドモチーフ RxxS を同定し、このモチーフに変異を導入したウイルスは野生型に比べて、1/100~1/1000 程度に複製能が低下することがわかった(Takamatsu, *et al.* mBio. 2020)。以上から、VP30 の可逆的リン酸化を制御することでウイルスの増殖を抑制する、新しいアプローチの抗 EBOV 薬が有用である可能性が示唆された。

研究助成 2019 – 感染症領域 –

研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

所	属	長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野
氏	名	高松 由基

1. 論文発表実績

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- 国内外雑誌を問わない。
- 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のアブストラクトは含めない。
- 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	Yoko FujitaFujiharu, Yukihiko Sugita, <u>Yuki Takamatsu</u> , Kazuya Houru, Manabu Igarashi, Yukiko Muramoto, Masahiro Nakano, Yugo Tsunoda, Stephan Becker, Takeshi Noda. Structural insight into Marburg virus nucleoprotein-RNA complex formation. Nature Communication , 2022. accepted
2	Toru Takenaga, Zihan Zhang, Yukiko Muramoto, Sarah K Fehling, Ai Hirabayashi, <u>Yuki Takamatsu</u> , Junichi Kajikawa, Sho Miyamoto, Masahiro Nakano, Shuzo Urata, Allison Groseth, Thomas Strecker, Takeshi Noda. CP100356 Hydrochloride, a P-Glycoprotein Inhibitor, Inhibits Lassa Virus Entry: Implication of a Candidate Pan-Mammarenavirus Entry Inhibitor. Viruses . 13(9):1763, 2021. 査読あり
3	Sandra Kendra Raini, <u>Yuki Takamatsu</u> , Shyam Prakash Dumre, Shuzo Urata, Shusaku Mizukami, Meng Ling Moi, Daisuke Hayasaka, Shingo Inoue, Kouichi Morita, Mya Myat Ngwe Tun. The novel therapeutic target and inhibitory effects of PF-429242 against Zika virus infection. Antiviral Research . 192. p1-13. 2021. 査読あり
4	Shiori Sano, Shuetsu Fukushi, Souichi Yamada, Shizuko Harada, Hitomi Kinoshita, Satoko Sugimoto, Tomoki Yoshikawa, Takeshi Kurosu, <u>Yuki Takamatsu</u> , Masayuki Shimojima, Shoichi Toda, Yuka Hamada, Naoki Fujisawa, Takayuki Sugimoto, Masayuki Saijo. Development of an RT-LAMP Assay for the Rapid Detection of SFTS Virus. Viruses . 13(4):657. p1-5, 2021. 査読あり
5	Katharina Grikscheit, Olga Dolnik, <u>Yuki Takamatsu</u> , Ana Raquel Pereira, Stephan Becker. Ebola Virus Nucleocapsid-Like Structures Utilize Arp2/3 Signaling for Intracellular Long-Distance Transport. Cells , Jul 19;9(7):1728, p1-15, 2020. 査読あり
6	<u>Yuki Takamatsu</u> , Larissa Kolesnikova, Martin Schauflinger, Takeshi Noda, Stephan Becker. The integrity of the YxxL motif of Ebola virus VP24 is important for the transport of nucleocapsid-like structures and for the regulation of viral RNA synthesis. Journal of Virology . 16;94(9), p1-19, 2020. 査読あり
7	<u>Yuki Takamatsu</u> , Verena Krähling, Larissa Kolesnikova, Sandro Halwe, Clemens Lier, Stefan Baumeister, Takeshi Noda, Nadine Biedenkopf, Stephan Becker. Serine-Arginine Protein Kinase 1 Regulates Ebola Virus Transcription. mBio , Feb 25;11(1), p1-17, 2020. 査読あり

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ● 国内外を問わない。 ● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2020年1月	9 th NSVJ (Negative Strand Virus meeting Japan)、○武長徹、梶川純一、平林愛、高松由基、村本裕紀子、野田岳志、「機能既知化合物ライブラリーを用いたラッサウイルス侵入阻害薬の探索」
2	2020年1月	9 th NSVJ (Negative Strand Virus meeting Japan)、梶川純一、○平林愛、胡上帆、高松由基、中野雅博、村本裕紀子、野田岳志、「アレナウイルス持続感染に関与する細胞内膜系構造の微細構造解析」
3	2020年1月	9 th NSVJ (Negative Strand Virus meeting Japan)、○藤田陽子、高松由基、杉田征彦、野田岳志、「クライオ電子顕微鏡法によるマールブルグウイルス NP-RNA 複合体の構造解析」
4	2021年9月	第3回 SFTS 研究会、○下島昌幸、杉元聡子、高松由基、吉河智城、黒須剛、西條政幸、「GP 内にある SFTS ウイルスの病原性因子」
5	2021年11月	第68回ウイルス学会、○Yuki Takamatsu、Olga Dolnik、Tomoki Yoshikawa、Takeshi Kurosu、Masayuki Shimojima、Takeshi Noda、Masayuki Saijo、Stephan Becker「Revealing the molecular mechanisms of filovirus nucleocapsid assembly」
6	2021年11月	第68回ウイルス学会、○藤田陽子、杉田征彦、高松由基、祝部和也、五十嵐学、角田優伍、村本裕紀子、中野雅博、野田岳志、「マールブルグウイルス核タンパク質-RNA 複合体の構造解析」
7	2021年11月	第68回ウイルス学会、張子涵、武長徹、村本裕紀子、Sarah Katharina Fehling、平林愛、高松由基、梶川純一、宮本翔、中野雅博、浦田秀造、Allison Groseth、Thomas Strecker、野田岳志、「エストロゲン受容体作動薬はラッサウイルスの細胞侵入を阻害する」
8	2021年11月	第68回ウイルス学会、○梶川純一、平林愛、宮本翔、高松由基、胡上帆、野澤孝志、中川一路、浦田秀造、安田二郎、中野雅博、村本裕紀子、野田岳志、「リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス感染による宿主オートファジーを介した細胞死の回避」
9	2021年11月	第68回ウイルス学会、○黒須剛、奥崎大介、下島昌幸、吉河智城、高松由基、西條政幸、「致死性デング出血熱モデルを用いた高サイトカイン産生誘導による重症化機序の解明」
10	2021年11月	第68回ウイルス学会、○杉元聡子、黒須剛、吉河智城、高松由基、大場真己、大松勉、水谷哲也、西條政幸、下島昌幸、「ケテラオルソナイロウイルス感染症に対するファビピラビルの有効性」
11	2021年11月	第68回ウイルス学会、○三須政康、吉河智城、黒須剛、高松由基、王寺幸輝、下島昌幸、吉川正英、西條政幸、「迅速・簡便かつ正確な RNAウイルスの全ゲノム配列決定法の確立」

12	2021年11月	第68回ウイルス学会、○下島昌幸、米満研三、網康至、杉元聡子、高松由基、吉河智城、黒須剛、西條政幸、「SFTS ウイルスの新規病原性因子の同定」
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2022年2月	Journal of Virology、主著、(Role of VP30 phosphorylation in Ebola virus nucleocapsid assembly and transport.)
2	2022年8月	mBio、主著、(Nucleoprotein-VP30 interaction, the conserved mechanisms of nucleocapsid assembly in filoviruses.)
3	2022年2月	医学のあゆみ、主著 (invited author)