



北海道大学
HOKKAIDO UNIVERSITY

令和3年4月22日
第1回 北海道大学 定例記者会見 資料2



人獣共通感染症国際共同研究所における 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の 基礎研究について

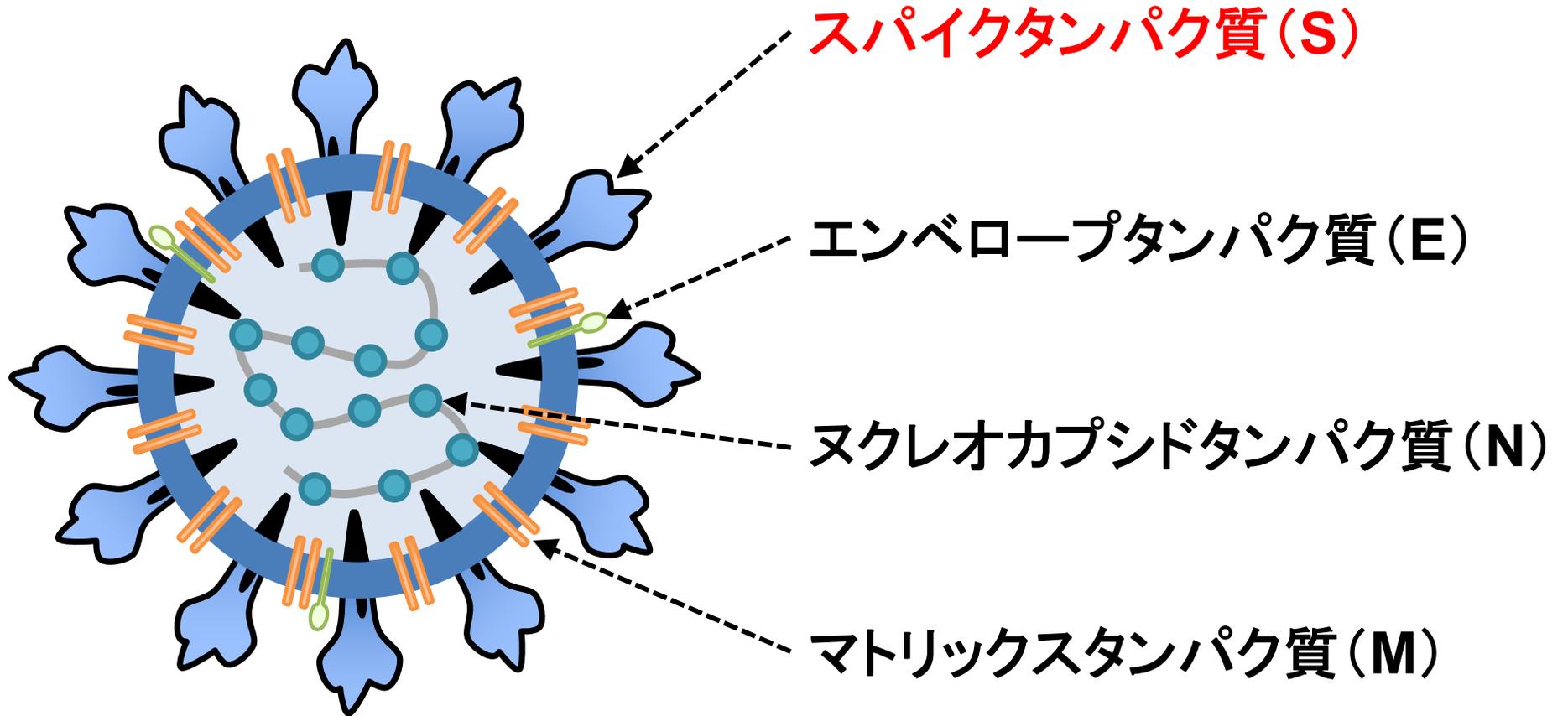
人獣共通感染症国際共同研究所
分子病態・診断部門
佐々木 道仁

研究所内の高度封じ込め(BSL-3)実験施設における 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)を対象とした基礎研究



- **新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の原因ウイルスであるSARS-CoV-2と培養細胞や実験動物を用いた感染実験**
- **SARS-CoV-2の細胞感染機構や病原性、ウイルス感染により生じる生体の免疫応答などの基礎研究**
- **ウイルスゲノムRNAやタンパク質を抽出し、ゲノム塩基配列や構造を解析**

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2)



ウイルス粒子の外殻を構成する**スパイクタンパク質**は、SARS-CoV-2の細胞内侵入、感染に重要な役割を担う。
(N501Yはスパイクの変異)

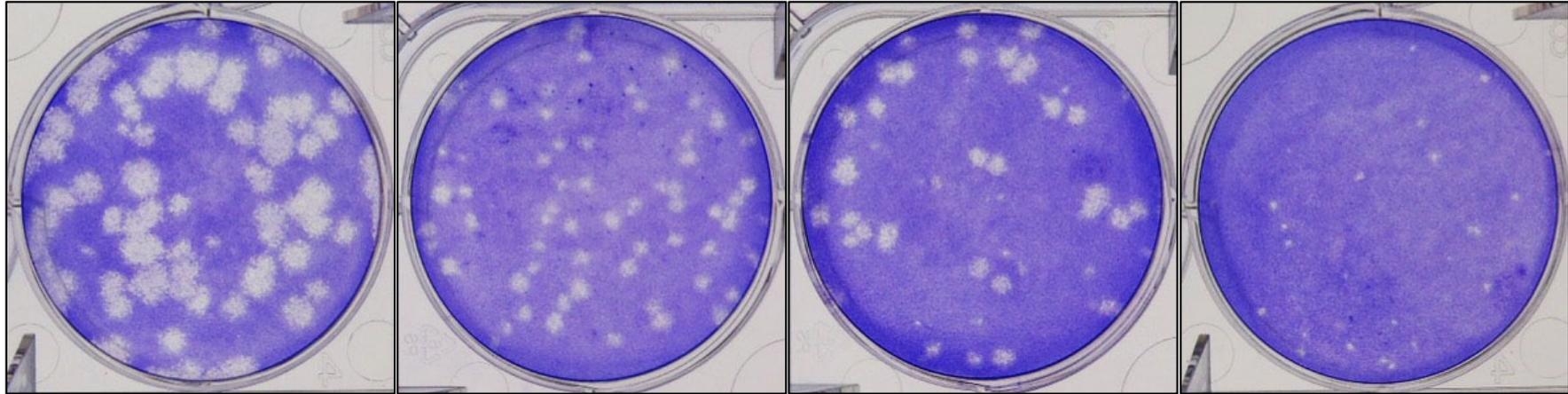
親株ウイルスをVero細胞に感染させて 得られた子孫ウイルス

親株ウイルス

del1

del2

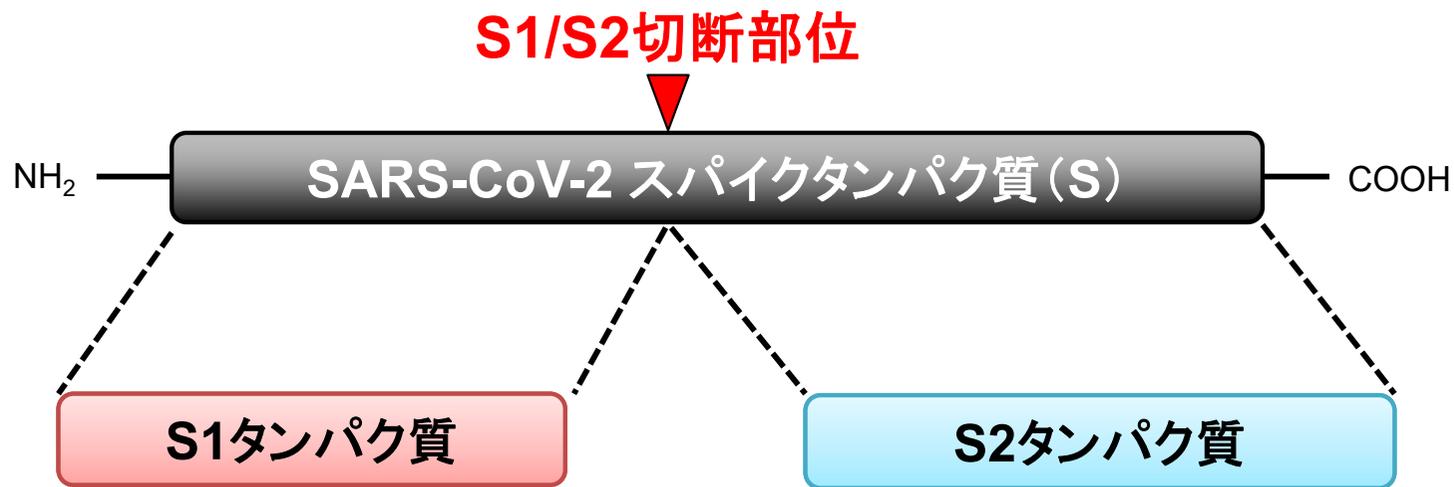
R685H



プラークアッセイ: 細胞を紫に染色すると、ウイルスに感染した細胞は死滅しているため色素で染色されず、白い斑点として識別される。

Vero細胞は培養が容易で、様々なウイルスに高い感受性を示すことからウイルス研究に広く使用されている培養細胞である。

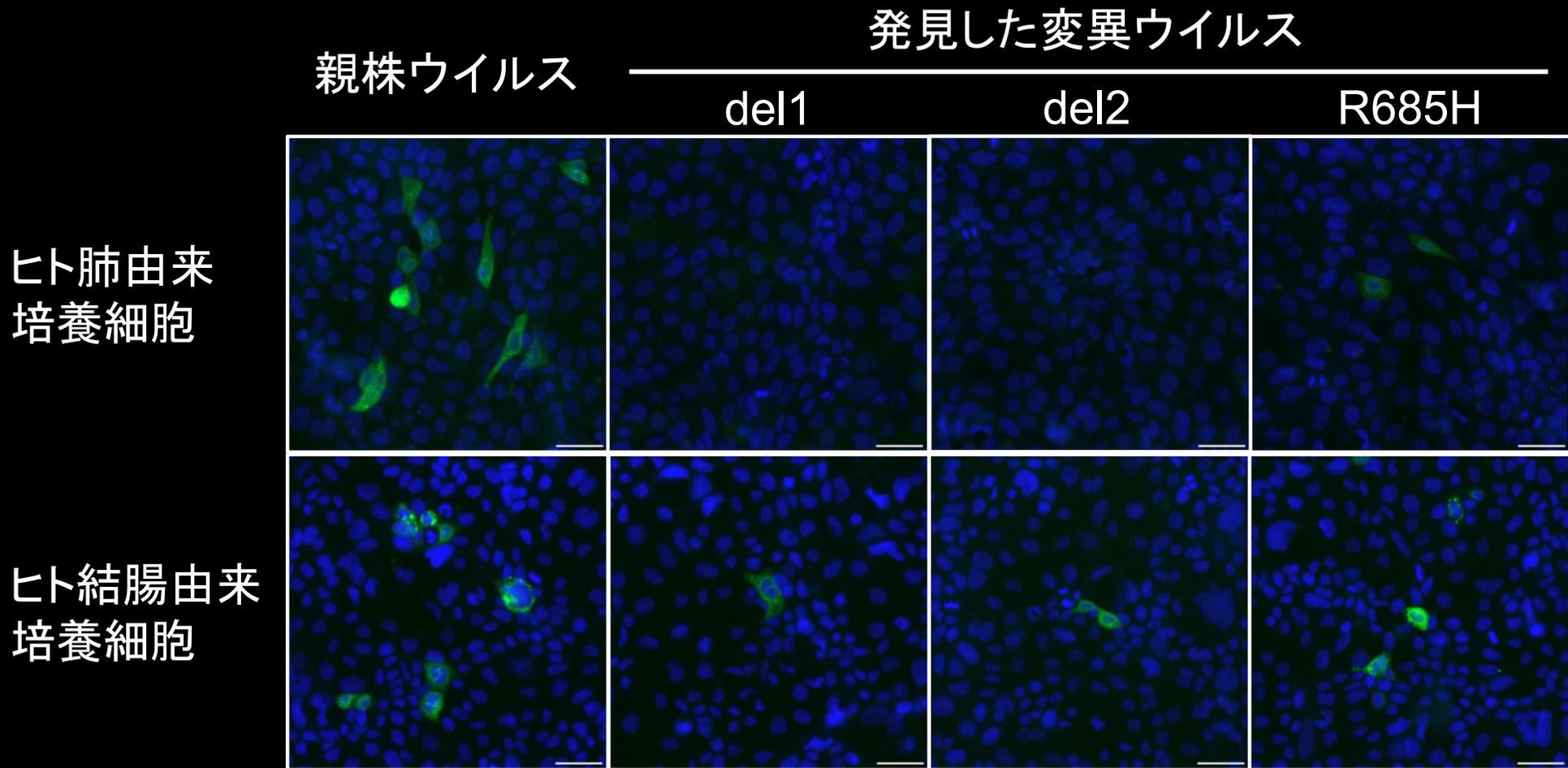
Vero細胞にSARS-CoV-2臨床分離株を感染させ、感染細胞から産生、放出される子孫ウイルスを調べると、元の親株とは特徴の異なるウイルスが得られた。



アミノ酸位置	661	671	681	691	701
SARS-CoV-2 (親株)	ECDIPIGAGICASYQTQTNSP	RRAR	SVASQSIIAYTMSLGA		
SARS-CoV-2 (del1)	ECDIPIGAGICASYQTQT	-----		SQSIIAYTMSLGA	
SARS-CoV-2 (del2)	ECDIPIGAGICASYQTQTNSP		R-----	QSIIAYTMSLGA	
SARS-CoV-2 (R685H)	ECDIPIGAGICASYQTQTNSP		RRA	HSVASQSIIAYTMSLGA	

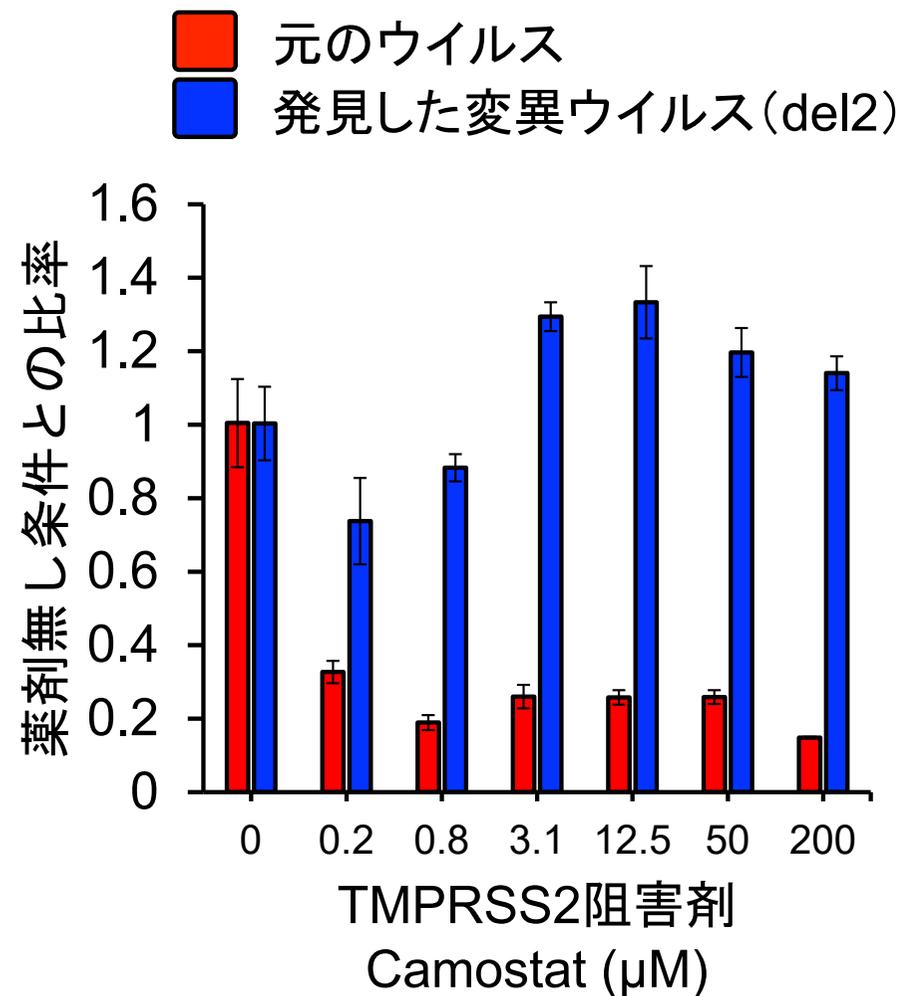
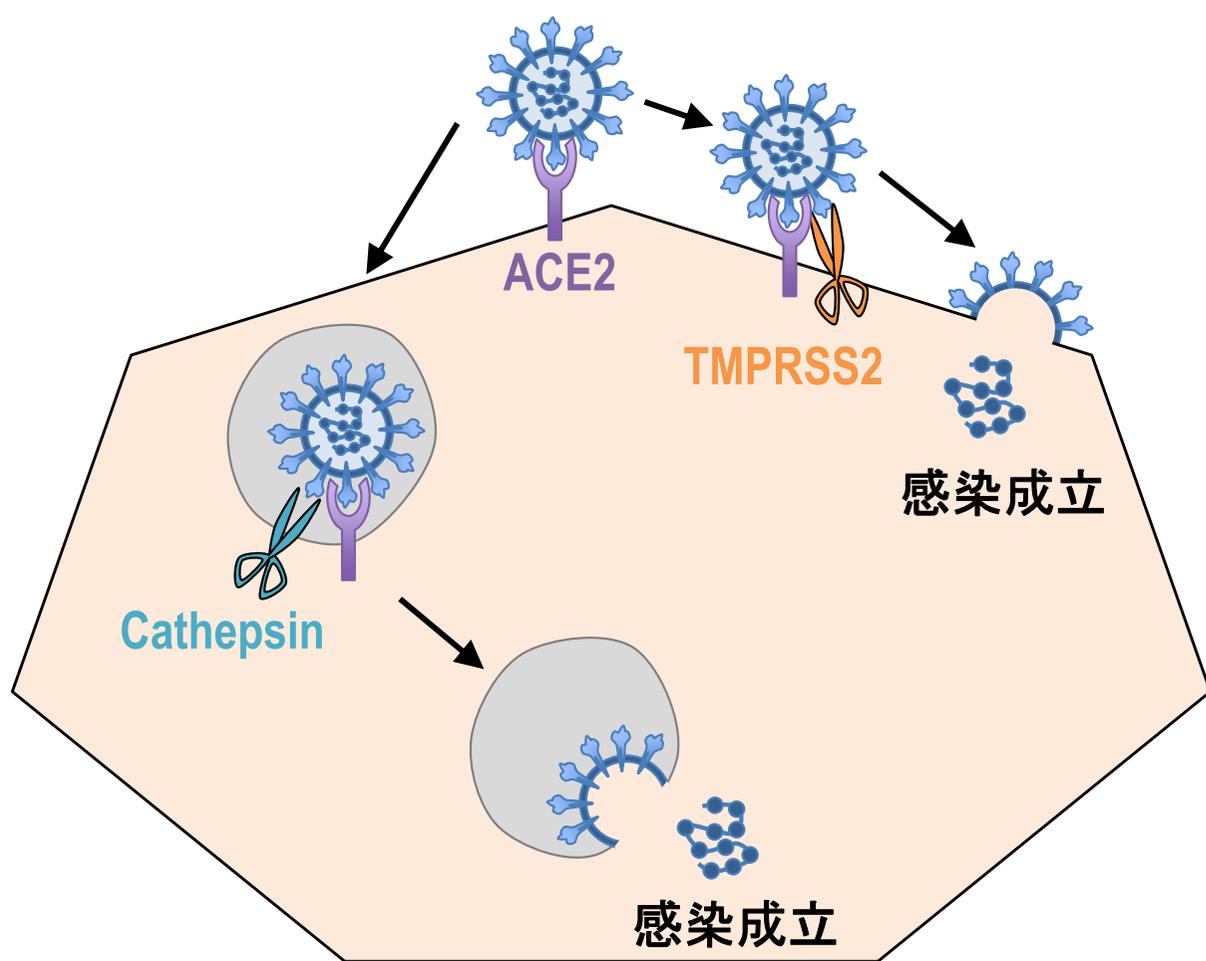
RRAR: アルギニン(R)を多く含むタンパク質の切断に必要なアミノ酸配列モチーフ

取得した子孫ウイルスのゲノム塩基配列を解析した結果、取得したウイルスはスパイクタンパク質の切断に必要なアミノ酸配列モチーフRRARが変異し、**スパイクタンパク質が切断され難くなる変異ウイルス**であった。



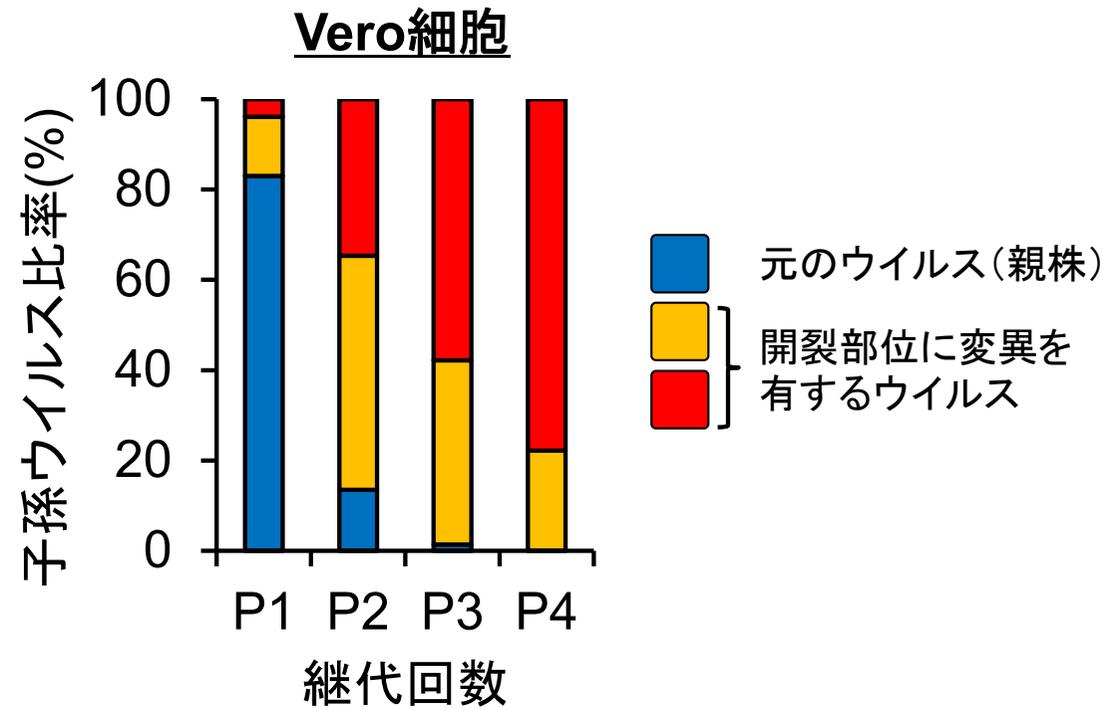
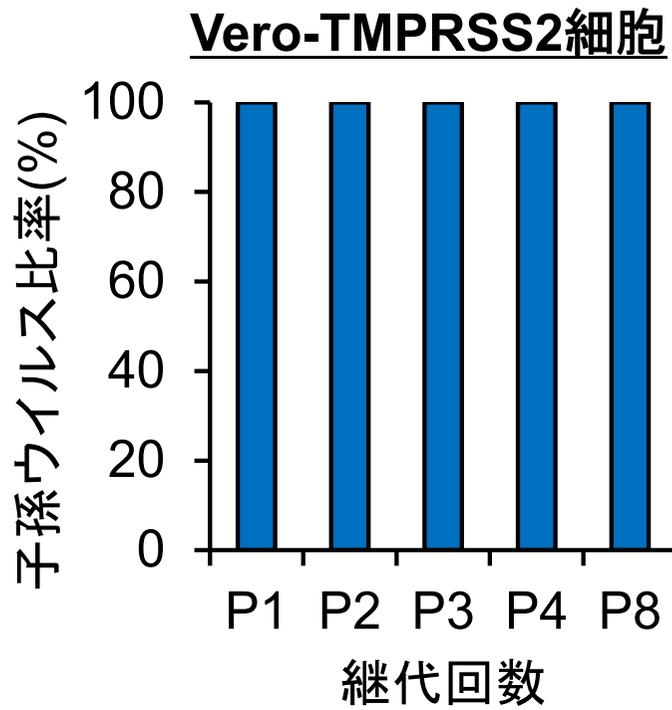
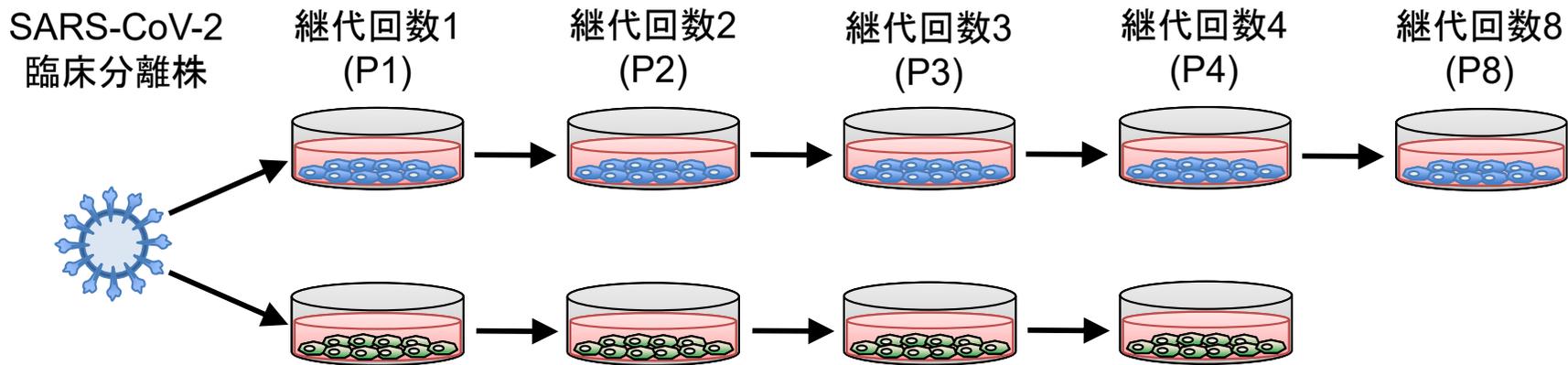
緑色: ウイルス抗原、青色: 細胞の核

SARS-CoV-2はヒト肺由来培養細胞やヒト結腸由来培養細胞へ感染し増殖する。
変異ウイルスは親株である元のウイルスに比べて、これらの細胞に対して
感染が起きにくい。



SARS-CoV-2の細胞内侵入様式には、細胞表面の受容体に結合した後、表面のタンパク質分解酵素 (TMPRSS2) を介する経路と、細胞内のタンパク質分解酵素 (Cathepsin) を介する経路の2通りが存在する。

発見した変異ウイルスは、表面のタンパク質分解酵素を介する細胞内侵入経路を利用しないことが判明した。



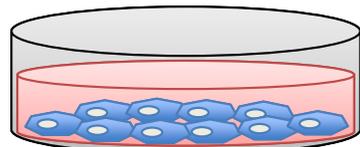
タンパク質分解酵素を発現させていないVero細胞にウイルスを感染させると変異ウイルスが検出される一方、**タンパク質分解酵素を発現させたVero-TMPRSS2細胞では、感染を継続しても変異ウイルスが検出されないことが分かった。**

スパイクタンパク質の切断部位に変異を有するウイルスが出てくる理由

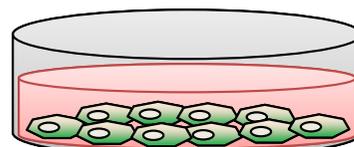


新型コロナウイルス (SARS-CoV-2)

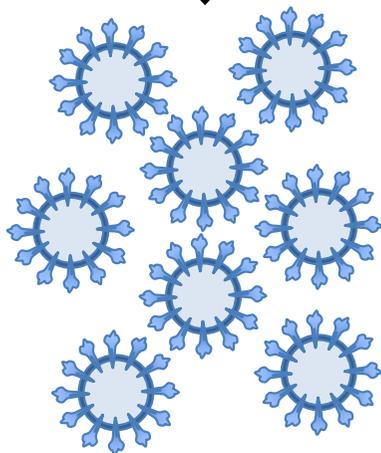
TMPRSS2発現細胞への
ウイルス接種



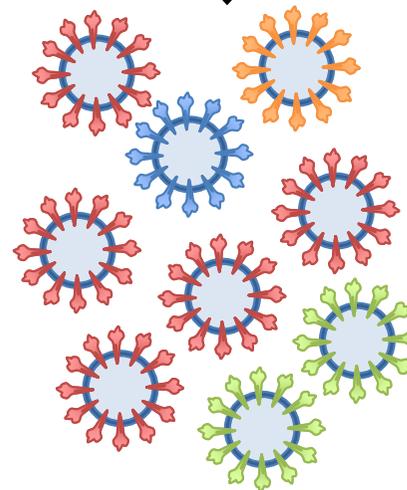
Vero細胞への
ウイルス接種



元のウイルスと同様の
子孫ウイルスが増殖



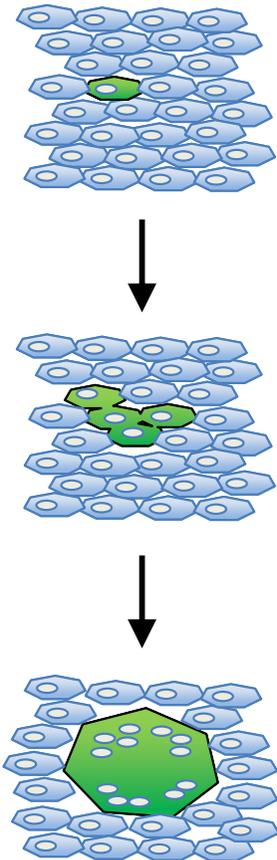
スパイクタンパク質の
切断部位に変異を有する
ウイルスが増殖



**SARS-CoV-2を、タンパク質分解酵素 (TMPRSS2) の無い状況で感染させると
スパイクタンパク質の切断部位に変異が起こり、ウイルスの特徴が変わる。**

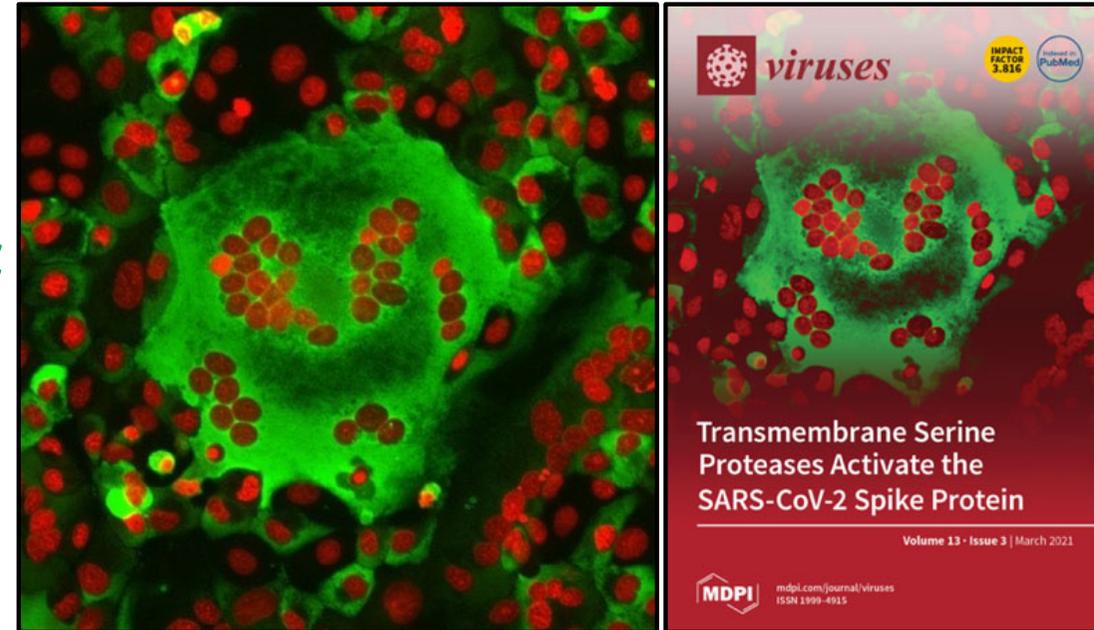
→ 基礎研究や抗ウイルス薬開発において注意が必要!!

ウイルスのスパイクタンパク質を活性化するタンパク質分解酵素を発見



感染細胞中のSARS-CoV-2のスパイクタンパク質が細胞のタンパク質分解酵素によって活性化され、**感染細胞と周囲の細胞が融合する**

細胞の融合が進み、複数の細胞が融合した**合胞体(シンシチウム)**が形成される



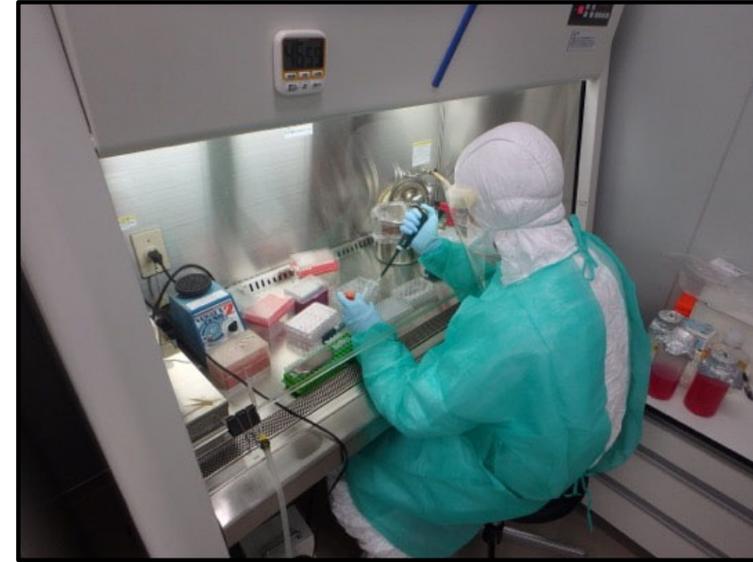
左図はSARS-CoV-2の**ヌcleoカプシドタンパク質(緑色)**と**細胞の核(赤色)**を染色して色で示した画像。画像中央に複数の細胞核を含有する合胞体(シンシチウム)が認められる。本画像はウイルスを対象とした国際学術専門誌Viruses、2021年3月号の表紙(右図)に採用された。

生体内のタンパク質分解酵素である**TMPRSS11D**と**TMPRSS13**が、SARS-CoV-2感染において、**ウイルス感染を増強**する作用があることを新たに発見した。

人獣共通感染症国際共同研究所における 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)を対象とした基礎研究

- 感染性を有するSARS-CoV-2を高度封じ込め (BSL-3) 実験施設内の充実した研究設備下で安全に取り扱うことができる
- 培養細胞や実験動物を用いた感染実験により、SARS-CoV-2に関する様々な知見を蓄積、報告
- 一連のSARS-CoV-2研究により確立した実験系、実験ツールを他の研究者と共有して多くの共同研究を実施中

→新型コロナウイルス感染症の克服に貢献



お問い合わせ先

北海道大学 人獣共通感染症国際共同研究所

分子病態・診断部門

佐々木 道仁

TEL : 011-706-9513 FAX : 011-706-7370

メール : m-sasaki@czc.hokudai.ac.jp