

2022年5月23日

報道機関 各位

東北大学大学院理学研究科

**A型インフルエンザウイルス RNA と結合して
蛍光検出する分子プローブを開発**
混ぜて測るウイルス診断を目指して

【発表のポイント】

- インフルエンザ RNA^(注1)の特定構造（プロモーター領域）^(注2)に強く選択的に結合する蛍光性分子プローブを開発
- ウイルス RNA と混ぜて即時検出できる診断技術への応用が期待
- 薬剤耐性インフルエンザウイルスにも有効な新規抗ウイルス剤の開発にも有用

【概要】

A型インフルエンザウイルス（以下、IAV）の RNA プロモーター領域は遺伝子変異による薬剤耐性獲得のリスクが低いため、ウイルス感染診断や抗ウイルス剤開発における重要な標的ですが、

東北大学大学院理学研究科佐藤雄介准教授、西澤精一教授らのグループは、IAV RNA プロモーター領域に対して、優れた結合能と蛍光応答能を併せ持つ分子プローブ（tFIT-DPQ）の開発に成功しました。tFIT-DPQ はインフルエンザウイルス感染細胞から抽出した RNA に添加するのみで蛍光応答を示すため、簡便かつ迅速な IAV 診断への応用として期待できます。また、tFIT-DPQ の蛍光応答を利用することで、薬剤探索にも用いることができます。

なお、本研究成果は、2022年5月23日（米国東部時間）にアメリカ化学会（ACS）が出版する *Analytical Chemistry* 誌に掲載されます。

【詳細な説明】

インフルエンザはインフルエンザウイルスが引き起こす感染症で、そのうち IAV は数年から数十年ごとに大きな大流行（パンデミック）を引き起こします。これまでも抗インフルエンザウイルス薬が開発されてきましたが、これら既存薬が効きにくい耐性ウイルスが出現しており、新たなインフルエンザウイルス対策技術が重要となってきています。このうち、インフルエンザウイルスが持つゲノム RNA において RNA ポリメラーゼによる転写と複製の両方に直接関与する領域（プロモーター領域）は遺伝子変異のリスクが低いため、診断および薬剤における重要な標的として注目されています。

今回、我々の研究グループでは、IAV RNA のプロモーター領域に優れた結合能と蛍光応答能を併せ持つ分子プローブを開発しました。プロモーター領域はインターナルループ構造^(注 3)と複数のミスマッチ塩基対^(注 3)を含む二重鎖構造を取ることが知られており（図）、こうした複雑な高次構造を認識するための有効な分子設計はほとんど確立されていません。我々はこれまでに開発を進めてきた RNA 二重鎖と三重鎖構造^(注 4)を形成し蛍光応答を示す Thiazole orange (TO) 擬塩基含有ペプチド核酸 (tFIT) に、インターナルループ構造を認識する小分子 (DPQ) を連結させたコンジュゲート型分子 (tFIT-DPQ) が生理条件下においてプロモーター領域を強くかつ選択的に認識し、蛍光強度が著しく大きくなることを見出しました。一般に三重鎖形成に基づく分子プローブでは酸性での利用に限定されていますが、今回の分子設計では DPQ 部位をアンカーとして機能させることで中性 pH においても十分に有用なプローブ機能（解離定数 $K_d = 107 \text{ nM}$, 83 倍の蛍光強度増大）を実現しました。

tFIT-DPQ は IAV に感染した細胞から抽出した RNA に対しても有用な蛍光応答を示し、60 ng/mL 程度のわずかな RNA があれば IAV インフルエンザ感染の有無を解析することが可能です。この検出感度は過去に報告された分子プローブと比較して 2 桁も優れたものです。現時点では PCR 法と比べて感度は劣るものの、tFIT-DPQ は核酸増幅することなく、ウイルス RNA を含む検体と混ぜて測定するのみで即時診断が行える検査薬としての可能性を秘めています。また tFIT-DPQ は、IAV RNA プロモーター領域との結合・解離に基づく大きな蛍光強度変化を示すことから、蛍光指示薬（インジケーター）として利用することで、様々な構造を持つ化合物のプロモーター領域結合能を簡便かつ安価に評価できることを実証しました。

本研究で開発した分子プローブは、今後現れるであろう新型インフルエンザウイルスに対する診断・予防・治療に貢献すると期待されます。

【用語説明】

（注1）インフルエンザ RNA

インフルエンザウイルスに含まれる 8 本のゲノム RNA。ウイルスタンパク質をコードする領域を含み、メッセンジャーRNA への転写および相補 RNA への複製のテンプレートとなる。

（注2）プロモーター領域

インフルエンザウイルスが有する RNA 依存 RNA ポリメラーゼが認識する領域。さまざまな変異ウイルスにおいても高度に保存されていることが分かっている。

（注3）インターナルループ構造・ミスマッチ塩基対

非ワトソクリック塩基対構造の一種。IAV RNA プロモーター領域にはウラシルと 2 つのアデニンから構成されるインターナルループ構造と C-A ミスマッチ、2 個の U-G ミスマッチが存在する。

（注4）三重鎖形成

核酸二重鎖(ここでは RNA)へさらに核酸一本鎖(ここでは PNA)が巻き付いて形成する超分子構造。PNA のチミン(T)、シトシン(C)塩基が、RNA 二重鎖内の A-U, G-C 塩基対とそれぞれ水素結合をすることで形成する。この時形成される塩基対は、ワトソン・クリック塩基対とは水素結合パターンが異なるため、フーグスティーン塩基対と呼ばれ区別されます。

【論文情報】

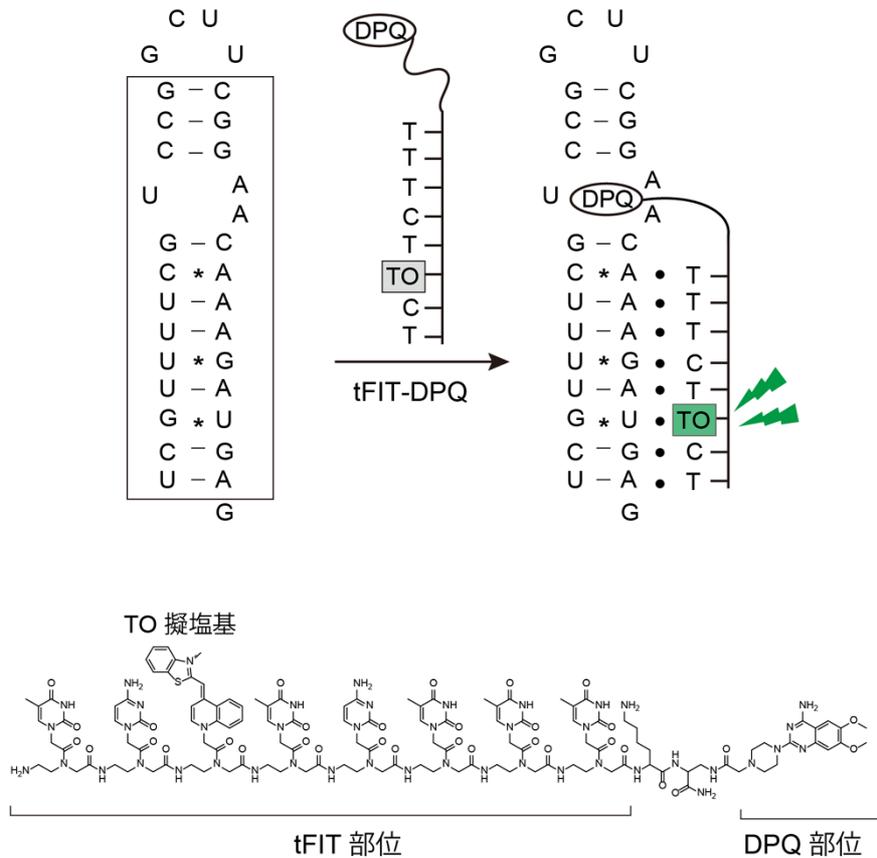
雑誌名 : *Analytical Chemistry*

論文タイトル : Fluorescence sensing of the panhandle structure of the influenza A virus RNA promoter by thiazole orange base surrogate-carrying PNA conjugated with small molecule

著者 : Yusuke Sato, Hiromasa Miura, Takaaki Tanabe, Chioma Uche Okeke, Kikuchi Akiko, Seiichi Nishizawa

DOI 番号 : 10.1021/acs.analchem.1c05488

【参考図】



図：(上) tFIT-DPQ による IAV RNA プロモーター領域への結合・蛍光応答 (下) tFIT-DPQ の構造式

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東北大学大学院理学研究科化学専攻

准教授 佐藤雄介 (さとう ゆうすけ)

電話：022-795-6551

E-mail：yusuke.sato.a7@tohoku.ac.jp

<報道に関すること>

東北大学大学院理学研究科

広報・アウトリーチ支援室

電話：022-795-6708

E-mail：sci-pr@mail.sci.tohoku.ac.jp