

# 感染症分子研究センター 研究報告

津 下 英 明

京都産業大学 感染症分子研究センター

## 要 旨

感染症分子研究センターは、疫学研究に病原分子研究を加えた組織である。センターの構成は下記の5つの部門からなる。令和5年度の研究の成果を報告する。

第1部門 鳥インフルエンザ研究部門	高桑 藪田
第2部門 人獣共通感染症研究部門	西野 前田
第3部門 節足動物媒介感染症研究部門	前田 染谷
第4部門 感染症制御研究部門	横山
第5部門 感染症分子研究部門	津下 藪田

キーワード：鳥インフルエンザ、人獣共通感染症、節足動物媒介感染症、感染症制御、感染症分子

## はじめに

鳥インフルエンザ研究センターは、他に類を見ない鳥インフルエンザ専門の特化型の研究機関として、平成18年10月の開設以来、社会に向けて研究成果を発信し社会の負託に応えてきた。特に産官学連携においては、国内外の研究機関との共同研究、受託研究等を通して抗菌性、抗ウイルス性の素材や材料等を開発し、鳥インフルエンザウイルスの感染を未然に防ぐことで社会に貢献してきた。鳥インフルエンザ研究センターで重ねてきた研究実績・成果をさらに発展させて、学术界・産業界・地域社会に向けさらには世界へとより一層の貢献を果たしていくために、平成30年度から鳥インフルエンザ研究センターを発展的に解消して、感染症分子研究センターが設置された。感染症分子研究センターの主な設置目的は、下記の通りである。

(1) 鳥インフルエンザウイルスから研究対象を拡大して、広く“感染症”に関する寄生虫、細菌、真菌、ウイルス等の病原体を扱うことで、より広範な研究成果を生み出して社会に貢献していく。(2) 感染症分子の研究を通して、予防と治療法開発につながる基礎研究を進めていく。(3) 研究対象を拡大することにより、より積極的に産業界や他研究機関との共同研究・受託研究等を推進することで、社会の負託に応えていく。(4) さまざまな感染症に係る正しい知識・予防法などの啓発活動を通して、感染症の拡大を防ぎ、地域社会への貢献を果たしていく。

## 第 1 部門 鳥インフルエンザ研究部門 高桑 藪田

### 1. 研究概要

A 型インフルエンザウイルスは水禽類、家禽類などの鳥類、ヒト、ブタ、ウマなどの哺乳類等の多様な宿主に感染する。全ての亜型は自然宿主である水禽類に由来するが、ヒトを含む哺乳類に感染するウイルスの亜型は限られていた。1997 年に香港で発生した H5N1 亜型鳥インフルエンザは、ヒトへの感染は報告されなくなったものの、現在もアジアを中心に世界的に流行し、国内の養鶏場において発生を繰り返している。さらに H5N1 亜型以外の亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染が確認されている。2013 年に発生以降、中国では H7N9 亜型ウイルスにより、少なくとも 600 名以上が死亡している。また、ヒトに感染性を示す鳥インフルエンザウイルスの亜型が、多数出現してきている。そこで、国内および高病原性鳥インフルエンザの常在国であるベトナムの野鳥について、鳥インフルエンザウイルスの保有状況を調査し、ウイルスの伝播における野鳥の役割を解明する。また、鳥インフルエンザウイルスが哺乳類において増殖性を獲得することに関与するウイルスの変異を探索し、今後、出現し得るパンデミックウイルスの予測を目指す。さらに、野鳥等によって国内に持ち込まれたウイルスの養鶏場への侵入による被害を抑えるため、防疫に有効な新たな消毒薬を共同研究等による開発を目指す。

### 2. 本年度の研究成果

(1) 世界各地で猛威を奮っている高病原性鳥インフルエンザは、ここ数年は日本国内においても毎シーズン発生しており、過去最多のニワトリが殺処分された昨年に比べると、殺処分された家禽数は約 80 万羽と被害は減少した。しかし、野鳥における高病原性鳥インフルエンザウイルス陽性の確認件数は約 150 事例と、昨年に比べ大きく減少しているわけではなく、我々の琵琶湖周辺における調査においても、野鳥の糞便から H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスを 1 株分離しており、依然として数多くの高病原性鳥インフルエンザウイルスが国内に持ち込まれていることを示している。また、今シーズンは、カラスでの感染確認が、国内の野鳥での陽性確認事例が報告された初期から発生し、シーズンを通して 4 月末まで続いた。最近、米国では乳牛への高病原性鳥インフルエンザウイルスが確認されて、さらに、乳牛からヒトへの感染が確認されたという報告もあり、今後、ヒトへの感染性を含めさらに注視する必要がある。次年度も、国内に野鳥によって高病原性鳥インフルエンザが持ち込まれると考えられ、引き続き、野鳥のウイルス保有状況を継続して監視することが重要である。

(2) パンデミックの発生に関与する可能性が懸念されている H9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスの解析により、哺乳類に対する病原性に関わる PA タンパク質の変異が見つかり、ウイルス RNA ポリメラーゼの活性を高めることが示唆された。この変異について哺乳類に対する病

原性に関わる作用機序の詳細な解析を進めている。

(3) ヒトインフルエンザウイルスのワクチン生産において発育鶏卵を用いているため、ワクチン株のレセプター特異性の変化が問題になる。そこで、遺伝子改変ニワトリの開発により、 $\alpha 2,6$  型シアル酸転移酵素を発現する発育鶏卵を産卵するニワトリを開発し、現在、ヒトインフルエンザウイルスの増殖性の解析を進めている。

(4) 鳥インフルエンザウイルス等に対する抗ウイルス効果を示す素材等の効果について、キューピー（株）、雪印メグミルク（株）など10社近い民間企業との共同研究、受託研究を実施しており、高い効果を示す素材等が開発され、防疫に利用されることが期待される。

#### 論文・著書

なし

#### 学会発表

1. 木村仁哉, 山澤彩奈, 渡邊佳怜, 安田茉世, 藪田淑予, 高桑弘樹 “ガビチョウから分離された H9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスのマウス継代により PB2 に導入された変異の解析” 第 70 回日本ウイルス学会, 2023.9.26-28 (仙台)
2. 安田茉世, 木村仁哉, 渡邊佳怜, 藪田淑予, 高桑弘樹 “ウズラから分離された H9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスのマウス継代により導入された変異の解析” 第 70 回日本ウイルス学会, 2023.9.26-28 (仙台)

#### その他

なし

## 第2部門 人獣共通感染症研究部門 西野 前田

### 1. 研究概要

ヒトと動物の双方に感染する病原体により引き起こされる人獣共通感染症は、ヒトに重篤な疾患を引き起こすとともに、家畜を含む多くの動物種に重大な疾患を引き起こす。本研究部門では、ボルナウイルス感染症とフラビウイルス感染症について研究を行っている。

ボルナウイルスは、ヒト、家畜、野生動物および愛玩動物に持続的に感染し、神経疾患を引き起こす。ボルナウイルスは、血清疫学調査において、動物では約20%、ヒトでは献血者において数%から抗体が検出されており、特に動物では予想以上に広がっている。感染動物の多くが不顕性感染をしているが、運動障害、行動学的異常、味覚障害などを発症する場合があります、重篤な場合は致死性である。また、ヒトにおいては、リスからの感染、あるいは移植後の感染により、重篤な神経疾患が引き起こされている。そのため、感染動物の発症機序を明らかにすることは動物とヒトにおける本疾病を予防するうえで重要な課題である。

一方、日本脳炎ウイルス (JEV) やデングウイルス (DENV)、ウエストナイルウイルス (WNV) 等が引き起こすフラビウイルス感染症では、ウイルスの抗原性が似ているため、感染の鑑別が困難であり、その方法論の開発が急務である。そこで、本研究ではウイルスの中空ウイルス粒子 (SvPs、ウイルスの殻の中にゲノム RNA を含まない) やウイルス様粒子 (VLP、一度だけ感染するレポーター発現粒子) を用いた、安全で信頼性の高いフラビウイルス感染鑑別法の開発を目指している。また、ウイルスの感染に重要であると考えられているエンベロープ (E) 蛋白質のドメインⅢを標的とする、抗ウイルス薬の開発を目指している。

### 2. 本年度の研究成果

(1) 高血圧の素因がボルナ病ウイルス (BoDV) 感染に及ぼす影響について探るために、高血圧自然発症ラットである SHR ラットとそのバックグラウンド系統である WKY ラットに BoDV を感染し、病態について解析した。その結果、BoDV 標準株を経鼻感染したところ、SHR ラットは6匹中3匹が感染したのに対し、WKY ラットは6匹中1匹が感染した。BoDV 強毒株を脳内接種したところ、両系統における感染率に大きな差はなかった。この結果から、高血圧であることは、経鼻感染という自然感染ルートからウイルスが感染する場合にリスクとなることが示唆された。

(2) 昨年作製したウエストナイルウイルス (WNV-VLP) と日本脳炎ウイルス (JEV-VLP) を用いた中和試験法を開発した。本試験法では、両ウイルスの感染鑑別が可能であった。フラビウイルスの感染鑑別のゴールドスタンダードは、各ウイルスに対する感染中和試験であるが、本法はそれに匹敵する感度・特異度を持つ。また、比較的、安全に実施できるため、有効な試験法であると考えられる。また、WNV と JEV、DENV1 の中空ウイルス粒子 (SvPs、殻の内部に

ゲノム RNA やレプリコン RNA を含まない粒子様構造体) を用いた ELISA 法を開発したところ、各ウイルス抗体に対する交叉反応性が認められた。ウエスタン法では、各ウイルスを識別できたため、今後、SvPs を抗原とした感染鑑別法の開発につなげたい。

#### 論文・著書

なし

#### 学会発表

1. 酒谷 紬, 利一裕理子, 上野信洋, 清水昭男, 佐藤直子, 西野佳以, 瀬尾美鈴, “Effects of FGFR1 mutation in a patient with Kallmann Syndrome on neurite outgrowth” 第 96 回日本生化学会, 2023.10.31-11.2 (福岡)

#### その他

なし

### 第3部門 節足動物媒介感染症部門 前田 染谷

#### 1. 研究概要

近年、蚊やマダニ等の節足動物が媒介する感染症が世界的な公衆衛生上の問題となっている。京都市は毎年、数100万人の国内外の観光客が訪れる世界有数の観光都市であり、地球上の様々な地域より節足動物媒介感染症が侵入する危険性がある。これまでの私たちの研究から、京都に生息するマダニが、これまでに日本での報告がなかったウイルスや細菌を保有していることを明らかにした。従来、京都市の環境中に生息していた節足動物や野生動物が未知の病原微生物を有することが明らかとなったことから、本研究の成果を通して、医学・獣医学上のさらなる重要な知見が得られることが期待される。本研究では、これら節足動物が保有する病原微生物を検出・分離する。また、京都市に生息する野生動物における感染状況について疫学的に解析する。

#### 2. 本年度の研究成果

京都市の大学近辺を定点として週1回、マダニの捕獲調査を行った。捕獲したマダニについて種別を鑑定し、動物やヒトにマダニ媒介性感染症を引き起こす重症熱性血小板減少症ウイルス (SFTS)、ダニ媒介性脳炎ウイルス (TBEV) およびトゴトウイルス (THOV) の保有状況を調査したが、昨年に引き続き、いずれも陰性であった。さらに、2013年に、京都市で捕獲したフタトゲチマダニから分離したトゴトウイルス (WT-THOV) に関して、病原学的解析を進めたところ、WT-THOVはマウスには非病原性であるが、ハムスターで致死性であることを明らかにした。WT-THOVをマウスで継代して得たマウス馴化株 (MA-THOV) は、マウスに致死性を示した。現在、その病原性獲得メカニズムを解析している。また、調査地で優占種となっているフタトゲチマダニとキチマダニの保有細菌を調べたところ、フタトゲチマダニに特異的にコクシエラ属の細菌の遺伝子が検出されたため、その確認調査を行った。また、マダニが保有するリケッチアの遺伝学的解析を進めたところ、マダニ種により保有するリケッチア種が異なる可能性が示唆された。本結果は、マダニの分子疫学的解析に応用できるものと考えられた。

#### 論文・著書

なし

#### 学会発表

1. Hasan Md Murad, Hiroki Taguchi, Iroha Yoneda, Robert Klaus Hofstetter, Azusa Someya, and Akihiko Maeda "Mouse-adaptation of tick-isolated Thogoto virus HI-

Kamigamo-25” 第 70 回日本ウイルス学会, 2023.9.26-28 (仙台)

2. 前嶋 勲, 大塚七海, 染谷 梓, 前田秋彦 “トゴトウイルスの細胞融合の解析” 第 70 回日本ウイルス学会, 2023.9.26-28 (仙台)
3. 前田秋彦 “マダニ媒介性のウイルス感染症” (招待講演) 京都府 ヒトと動物の共通感染症予防対策連絡調整会議, 2023.9.12 (オンライン)
4. 前田秋彦 “マダニのウイルス感染症” (招待講演) 令和 5 年度京都府獣医師会産業動物部会研修会, 京都, 2023.11.18 (オンライン)

その他

なし

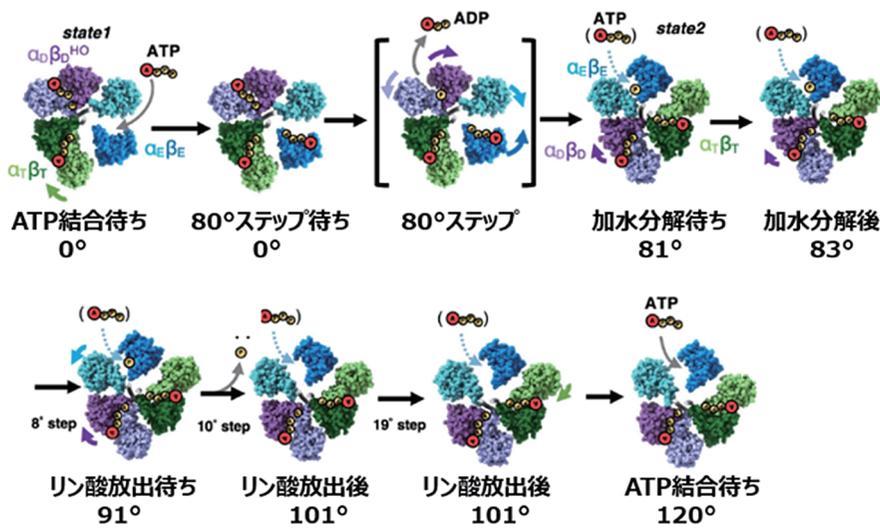
## 第4部門 感染症制御研究部門 横山

### 1. 研究概要

液胞型プロトン ATPase (V-ATPase) と ATP 合成酵素  $F_0F_1$  は、回転することで働く回転分子モータータンパク質である。V-ATPase は、ATP を使って小胞内にイオンを輸送し、その酸性化を通して様々な生理現象を担う。たとえば、毒素の活性化や、抗原タンパク質の分解による抗原提示など感染症に関する重要な分子基盤を担っている。 $F_0F_1$  は、ミトコンドリアの内膜、葉緑体のチラコイド膜に存在し、ATP 合成酵素として働く。また結核菌などのバクテリアの細胞膜にも存在し、ATP 合成することで好氣的環境下でのバクテリアの増殖を支える。クライオ電子顕微鏡は、今や構造生物学の主流となり、結晶化が困難で構造解析できない膜タンパク質などの構造を、時には原子分解能近くの精度で見ることが可能にする有力な手法になった。我々は、この技術をいち早くとりいれ、世界に先駆けて V 型 ATP 合成酵素の回転に伴う構造変化を明らかにした。

### 2. 本年度の研究成果

本年度は、クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析によって、ATP 合成酵素  $F_0F_1$  の 18 個の回転中の中間体構造を捉えることに成功した。クライオ電子顕微鏡による単粒子解析は、反応中で複数の構造が混在したサンプルであってもクラス分けによって同時に構造決定することが可能である。低い ATP 濃度で反応させることで、ATP 結合前構造を、高い ATP 濃度で反応させることで、ATP の加水分解、分解物の ADP と  $P_i$  の放出に関する対応する構造の分離を試みた。クラス分けを工夫することで、従来明らかにされていなかった  $\gamma$  サブユニットのより細かい回転角度を示す  $F_1$  部分の構造を複数分離することに成功した。その結果、 $360^\circ$  回転中の 18 種類の構造を得ることができた。ATP の加水分解サイクルに対応した構造だけでなく、反応過程とは対応しない複数の構造も明らかになった。得られた構造から以下のことが示唆された。ATP 濃度が高い条件では、すべての構造において E site に ATP が結合しており、このことは、ATP の濃度が高い条件では、どの回転角度に対応した  $F_1$  部分の E site に対しても ATP が結合できることを示す (図)。また高 ATP 濃度条件では、すべての触媒サイトに ATP もしくは ADP が結合していることから、新たに ATP が結合することができず、そのため結合した ATP により  $80^\circ$  回転が起こることがわかった。 $80^\circ$  回転待ち構造 (これを  $0^\circ$  構造と呼ぶ) に対して、 $\gamma$  サブユニットの回転角度が  $81^\circ$  の構造が得られたが、D site には ATP が結合しており、一方  $\gamma$  の回転角度が  $83^\circ$  の構造の D site では、ADP と  $P_i$  が結合していた。このことから、 $81^\circ \rightarrow 83^\circ$  の構造変化の過程で D site の ATP が加水分解されることがわかる。 $\gamma$  サブユニットの回転角度が  $91^\circ$  の構造では、E site にリン酸と ATP が結合していたが、 $\gamma$  サブユニットの回転角度が  $101^\circ$  の構造の E site にはリン酸が結合していなかった。このことは

図  $F_0F_1$  の ATP 駆動回転機構

91° → 101° の過程でリン酸が放出されることをしめす。さらに  $\gamma$  サブユニットが 19° 動いた 120° 構造が分離されたが、ATP の触媒過程とは関係なく  $\gamma$  サブユニットが動いている。このことは、この 19° の動きが分子内に蓄積された捻じれによって駆動された可能性を示す。ATP の結合により引き起こされた 80° 回転後に蓄積された捻じれではないかと考えているが、分子動力学計算などのさらなる検証が必要である。低 ATP 濃度条件では、すべての構造の E site には ATP が結合していなかった。120° 構造のうち、T site がより閉じて反応が進行したように見える構造の E site にも ATP が結合しておらず、この E site に ATP が結合することで 80° 回転待ち構造になる。つまり、この構造が ATP 結合待ち構造に対応すると考えられる。ATP 濃度が低い時は、ATP 待ち構造の E site に ATP が結合したと同時に 80° 回転が起こることになり、従来の 1 分子観察実験の解析結果とも合致する。一方、ATP 濃度が高い時は、E site は常に ATP に占有されており、そのために結合した ATP が 80° 回転を引き起こすことになる。

さらにラット脳から V-ATPase を精製し、クライオ電子顕微鏡で高分解能構造を得た。ラット脳のコホモジネートに界面活性剤を加え、膜タンパク質を可溶化した。そこに V-ATPase 特異的に結合するレジオネラ菌由来の阻害タンパク質である SidK を加えた。SidK には Flag-tag が導入されており、Flag resin に混合液を通すことで、SidK-V-ATPase 複合体を Flag-resin に結合させた。つぎに Flag ペプチドにより SidK と結合した V-ATPase を溶出した。ゲルろ過により精製度を高めた標品をクライオ電子顕微鏡による構造解析に供した。解析をすすめた結果、全体で 2 Å 前半の分解能の構造を得ることができた。さらに精密化をすすめ、 $V_0$  部分でも原子モデル構築可能な構造を得ることができた。

## 論文・著書

1. Mechanism of ATP hydrolysis dependent rotation of bacterial ATP synthase. Nakano A, Kishikawa J, Mitsuoka K, \*Yokoyama K. Nat. Communi, 14 Article number: 4090 (2023)
2. Rotary mechanism of V/A-ATPases-how is ATP hydrolysis converted into a mechanical step rotation in rotary ATPases? Yokoyama K. Frontiers in Molecular Biosciences-Structural Biology Vol. 10 (2023)

## 学会発表

1.  $F_0F_1$ -ATPase の非触媒部位の機能解明 小林廉 第 49 回日本生体エネルギー研究会討論会 会場 山口大学 吉田キャンパス 大学会館 12/2023 ポスター発表
2. クライオ電子顕微鏡によるプロトン駆動力下での ATP 合成酵素の構造解析 中野敦樹 第 49 回日本生体エネルギー研究会討論会 会場 山口大学 吉田キャンパス 大学会館 12/2023 ポスター発表
3. リポソームに包埋された多剤排出タンパク質 AcrB の構造解析 武藤優斗 第 49 回日本生体エネルギー研究会討論会 会場 山口大学 吉田キャンパス 大学会館 12/2023 ポスター発表
4. 哺乳類 V-ATPase の構造解明 西田結衣 第 49 回日本生体エネルギー研究会討論会 会場 山口大学 吉田キャンパス 大学会館 12/2023 口頭発表 学生優秀発表賞
5. プロトン駆動力下でのクライオ電子顕微鏡単粒子解析によって明らかにする ATP 合成酵素の回転機構 中野敦樹, 岸川淳一, 光岡薫, 横山謙 第 61 回日本生物物理学会年会 会場 名古屋国際会議場 11/2023 ポスター発表
6. 哺乳類 V-ATPase の構造機能解明 西田結衣, 中西温子, 中野敦樹, 佐伯詩織, 光岡薫, 横山謙 第 61 回日本生物物理学会年会 会場 名古屋国際会議場 11/2023 ポスター発表
7. リソソーム周辺の局所的な細胞質 ATP 濃度イメージング 青山桃子, 津山泰一, 今村博臣, 横山謙 第 61 回日本生物物理学会年会 会場 名古屋国際会議場 11/2023 ポスター発表
8.  $F_0F_1$ -ATPase の非触媒部位の機能 小林廉, 中野敦樹, 横山謙 第 61 回日本生物物理学会年会 会場 名古屋国際会議場 11/2023 ポスター発表
9.  $V_0$  部分でのプロトン駆動力による回転機構の分子基盤 西田結衣, 岸川淳一, 岡崎圭一, 中野敦樹, 横山謙 第 23 回日本蛋白質科学年会 会場 名古屋国際会議場 07/2023 ポスター発表
10. リポソームに再構成した膜タンパク質の高分解能構造解析の試み 中野敦樹, 河内貴哉, 小林廉, 谷口佳奈, 武藤優斗, 津山泰一, 横山謙 第 23 回日本蛋白質科学会 会場 名古屋国際会議場 07/2023 ポスター発表

## その他

### 書籍 1 件

クライオ電子顕微鏡用の試料作製とその構造解析 横山謙, 岸川淳一 タンパク質の構造解析  
手法と In silico スクリーニングへの応用事例 第 2 節 p95-106 (2023) (株) 技術情報協会

## 第5部門 感染症分子研究部門 津下 藪田

### 1. 研究概要

タンパク質の構造は今や生命の基礎理解に必要不可欠なものとなりつつある。タンパク質複合体、特に感染症因子とホストであるヒトのタンパク質の相互作用を見たいと考えている。この基礎研究から将来的には感染症を予防や治癒する新たな創薬の可能性が生まれる。現在以下の研究テーマを軸として研究を進めている。X線結晶構造解析とクライオ電子顕微鏡を主要な手段として用いる。

(1) ADPリボシル化毒素とその標的分子複合体の構造生物学：様々な病原微生物はADPリボシル化毒素（ADPRT）を分泌して、ホストのタンパク質を修飾し、ホストのシグナル伝達系に影響を与える。この反応特異性とその反応機構の詳細を明らかにすべく、様々なADPリボシル化毒素（酵素）とその基質複合体での結晶構造解析を進めている。

(2) 細菌トランスロコンの構造と輸送機構の解明：*C. perfringens* や *C. difficile* が持つバイナリー毒素は上述したアクチンをADPリボシル化する毒素（A成分）とこれを膜内へ輸送する装置（トランスロコン）（B成分）からなる。特にトランスロコンの構造と機能-タンパク質膜透過の仕組みに焦点を当てた研究を進めている。

### 2. 本年度の研究成果

*C. perfringens* が持つ binary 毒素である、膜孔形成毒素 Ib の構造と機能解析を進めている。膜孔形成毒素 Ib はアクチン特異的ADPリボシル化する酵素 Ia を膜透過させるトランスロコンである。Ia がアクチンのADPリボシル化毒性を発揮するためには Ib が①水溶性プレ膜孔オリゴマー（7量体）を形成、次に細胞膜上で構造変化をおこし② Ib オリゴマーからなる膜孔を形成、③これに Ia が結合し、Ia の立体構造がほどけて、④ Ia が Ib オリゴマー膜孔を通過する、この4つのステップが必要となる。2020年3月、我々は cryo EM を用いた単粒子解析により、Ib 膜孔と Ia が結合した Ib 膜孔の構造をそれぞれ 2.9 Å の分解能で決定することに成功した (*Nature Structural & Molecular Biology*, 2020)。Ia-Ib 膜孔複合体は報告されている二成分毒素の酵素-膜孔複合体で唯一、3 Å を切る高分解能の構造となった。これに続いて、抗生物質耐性菌の感染が問題となっているディフィシル菌が持つ二成分毒素 CDT の構造をクライオ電子顕微鏡を用いて明らかにした (*Nature Communications*, 2022)。これらのタンパク質膜透過システムを トキシシン膜透過システム と名づけ、さらに研究を進めている。今年度、生体内に近い環境で、脂質膜に埋め込んだ Ib の構造を解析することを目的として、リポソームに埋め込んだ Ib の調製を行った。これを電子顕微鏡で観察したところ、期待したリポソームとは異なり Ib がいくつか放射状に集まった構造体を作った。これを Ib-rosette と名付けた。Ib-rosette は、プレ Ib 膜孔から Ib 膜孔まで幾つかの状態の Ib が混在する。これら

の構造をクライオ電子顕微鏡で明らかにした。また、新規のウェルシュ菌由来二成分毒素 CPILE (CPILEa, CPILEb) の CPILEb の細胞毒性と特徴を、細胞実験と電気生理及び Ib (F > S) 変異体の構造解析により明らかにした。

また、国際共同研究により、カテプシン L の阻害剤のコロナウイルスへの感染の阻害を検証する実験に加わった。コロナウイルスはそのエンドソームから感染にカテプシン L による活性化が必要である。このため、今までに知られるカテプシン L 阻害剤でコロナウイルスの感染阻害を検証するというプロジェクトである。その結果、いくつかの阻害剤がコロナウイルスの感染阻害をする結果を得た。この論文はスロベニアのカテプシン研究グループによって進められ、カテプシンとその阻害剤研究で著名な故勝沼信彦先生へ捧げられた (文献)。

### 論文・著書

1. Sven Falke, Julia Lieske, Alexander Herrmann, Jure Loboda, Katarina Karničar, Sebastian Günther, Patrick Y. A. Reinke, Wiebke Ewert, Aleksandra Usenik, Nataša Lindič, Andreja Sekirnik, Klemen Dretnik, **Hideaki Tsuge**, Vito Turk, Henry N. Chapman, Winfried Hinrichs, Gregor Ebert, Dušan Turk, Alke Meents (2024) Structural elucidation and antiviral activity of covalent cathepsin L inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry** 9; 67(9): 7048-7067.(査読有り)
2. 津下英明 細菌 ADP リボシル化酵素の基質認識機構とその細胞膜透過に関する研究 (総合論文). ビタミン (バイオフィクターと生命科学) 日本ビタミン学会, p540-p551, 12 月 (査読有り)

### 学会発表

1. 津下英明 “二成分毒素：ADP リボシル化酵素成分の基質認識機構と細胞膜透過機構について” 日本環境変異原ゲノム学会 シンポジウム「有毒生物と遺伝子変異」東京, 2023 6 月 (招待講演)
2. 津下英明 “細菌 ADP リボシル化酵素の基質認識機構とその細胞膜透過に関する研究” 日本ビタミン学会, 仙台, 2023 6 月 (招待講演)
3. 三谷優季, 津下英明 “ウェルシュ菌イオタ毒素 Ib serine-clamp 変異体の単粒子構造解析及び活性測定” 蛋白質科学会 名古屋, 2023 7 月
4. 吉田 徹, 門間千枝, 滝口創太郎, 藤田祥子, 内田悠斗, 山田等仁, 川野竜司, 津下英明 “二成分毒素 CPILEb のセリンで形成された膜貫通孔” 第 69 回トキシシンポジウム 京都, 2023 9 月
5. 迫田憲亮, 山田等仁, 津下英明 “ウェルシュ菌イオタ毒素の膜透過機構の研究” 第 69 回トキシシンポジウム 京都, 2023 9 月

6. 西田和哉, 山田等仁, 津下英明 “スクミリンゴガイの膜孔形成毒素, PcPv-2 オリゴマー構造の撮影の試み” 第 69 回トキシシンポジウム 京都, 2023 9 月
7. 羽深典之, 津下英明 “Ribosome-Inactivating Protein のリボソーム特異性と抗ウイルス活性に関する研究” 第 69 回トキシシンポジウム京都, 2023 9 月
8. 三谷優季, 川野竜司, 滝口創太郎, 津下英明 “電気生理による二成分毒素のポアシグナル測定” 第 69 回トキシシンポジウム 京都, 2023 9 月
9. 山田等仁, 杉田征彦, 野田岳志, 津下英明 “クライオ電子顕微鏡から見えてきたウェルシュ菌イオタ毒素の膜孔形成機構” 第 69 回トキシシンポジウム 京都, 2023 9 月
10. 津下英明 “スクミリンゴガイ (*Pomacea canaliculata*) 卵塊のタンパク質の物性” 第 473 回ビタミン B 研究協議会, 京都 楽友会館, 2023 年 11 月
11. Yuki Mitani, Sotaro Takiguchi, Ryuji Kawano, Hideaki Tsuge “Construction of a membrane translocation assay system for *C. difficile* binary toxin by electrophysiological technique” 日本生物物理学会, 名古屋, 2023 年 11 月

その他

なし

## Performance Reports of Center for Molecular Research in Infectious Diseases

Hideaki TSUGE

### Abstract

Center for Molecular Research in Infectious Diseases consists of five groups. Each section is pursuing studies about avian influenza, zoonoses, arthropod-borne infections disease, infectious disease control, and molecular research in infectious diseases.

This year topic

The structure of eukaryotic V-ATPase from rat brain was determined at high resolution by cryo-EM. The structure of V-ATPase can provide an important insight for the design of therapeutic agents against infectious diseases. (Yokoyama)

Cell entry of SARS-CoV-2 particles via the endosomal pathway involves cysteine cathepsins. Cathepsin L (CatL) is considered a promising drug target in the context of different viral and lysosome-related diseases. We characterized the anti-SARS-CoV-2 activity of a set of carbonyl- and succinyl epoxide-based inhibitors, which were previously identified as inhibitors of cathepsins or related cysteine proteases. Crystal Structure of inhibitor-bound CatL gave us structure-guided understanding and optimization of CatL inhibitors.

**Keywords:** Avian influenza, Zoonoses, Arthropod-borne infectious disease, Infectious disease control, Molecular research in infectious disease