

No.	25-3140	
Project Title	エボラウイルスの増殖機構に関する研究	
Principal Investigator	Takeshi Noda (Kyoto University・Professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Kawaoka Yoshihiro (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Professor)
	Project Member (s)	杉田征彦 (京都大学医生物学研究所・准教授)
	Project Member (s)	村本裕紀子 (京都大学医生物学研究所・助教)
	Project Member (s)	平林愛 (京都大学医生物学研究所・博士研究員)
	Project Member (s)	尾崎拓馬 (京都大学医生物学研究所・大学院生)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

共同研究報告（年次終了）

エボラウイルスの一本鎖ゲノムRNAは、ウイルス核タンパク質NPと結合し、螺旋状のNP-RNA複合体を形成する。螺旋状NP-RNA複合体はさらにVP24およびVP35と結合し、ヌクレオカプシドを形成する。近年、我々はクライオ電子顕微鏡単粒子解析により、エボラウイルスのヌクレオカプシドのコア構造となる螺旋状NP-RNA複合体の高分解能構造を決定した（Sugita et al. Nature 2018）。さらに、エボラウイルスとともにフィロウイルスに属するマールブルクウイルスおよびリョビュウイルスの螺旋状NP-RNA複合体の高分解能構造を決定し（Fujita-Fujiharu et al. Nat Commun 2022; Hu et al. PNAS Nexus 2023）、構造ベースの変異体解析を実施することで、フィロウイルスのヌクレオカプシド形成の分子構造基盤を明らかにしてきた。しかし、VP24やVP35がどのように螺旋状NP-RNA複合体に結合しヌクレオカプシドを形成するのかについては不明のままである。さらに、細胞質のinclusion body（virus factory）で形成されたヌクレオカプシドがウイルス粒子形成のために形質膜へと輸送されるメカニズムについてもほとんど明らかにされていない。そこで本課題では、クライオ電子顕微鏡を用いてエボラウイルスのヌクレオカプシドの高分解能構造を決定することを目的とした。また、エボラウイルスのヌクレオカプシドの細胞内輸送機構を解明することを目的とした。

本研究ではマトリックスタンパク質VP40を共発現させることでヌクレオカプシドをウイルス様粒子内に取り込ませ、ウイルス様粒子内のヌクレオカプシドの単粒子解析を実施した。その結果、NP-RNA（2分子）+VP24（2分子）をprotomerとする螺旋状ヌクレオカプシドの分子構造を取得し、その構造を約4.5Åの分解能で決定することで原子モデルの構築に成功した（Fujita-Fujiharu and Hu et al Nat Commun 2025）。さらに、本構造を基盤とした変異体解析により、VP24分子による転写複製抑制機構の分子基盤を解明した。

申請者は以前、VP40をヌクレオカプシド構成因子と共発現させ間接蛍光抗体法によりNPの局在を解析すると、inclusion bodyに存在するヌクレオカプシドが形質膜へと局在変化を示すことを報告した。そこで本課題では、VP40をNP, VP24, VP35とともに共発現させその細胞内構造を電子顕微鏡法で解析した。その結果、ヌクレオカプシドが細胞質内の小胞と結合し形質膜に輸送されることを示唆する結果を得た。受入れ教員の河岡教授は以前、VP40がCOPII輸送機構を介して形質膜へと輸送されウイルス様粒子が形成されることを報告している（Cell Host Microbe 2010）。そこで本知見に基づき、COPII輸送機構において重要な役割を担うSar1のドミナントネガティブ変異体をNP, VP24, VP35, VP40とともに共発現させ、ヌクレオカプシドの局在を間接蛍光公開法により解析した。その結果、予想とは異なり、ヌクレオカプシドは形質膜へと局在変化を示すことが確認された。これまでの結果から、VP40を介したヌクレオカプシドの形質膜への輸送においてはCOPII輸送機構が関与しない可能性が示唆された。次年度は、ヌクレオカプシドの形質膜への輸送に必須の宿主因子の同定とその役割の解明を目指し、VP40と相互作用する宿主因子に着目して研究を進める計画である。