

Cell-based スクリーニングによる SARS-CoV-2 のフレームシフトシグナルを標的とする小分子の探索

(阪大産研) ○阿南 梨紗・村田 亜沙子・中谷 和彦

Cell-based screening of chemical libraries for small molecules that target SARS-CoV-2 frameshifting signal (*The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University*)

○Anami Risa, Murata Asako, Nakatani Kazuhiko

SARS-CoV-2, the causative agent of COVID-19, has two large reading frames (ORF1a and ORF1b) in its genomic RNA. Since the ORF1b overlaps, and is out-of-frame with, the upstream ORF1a, the ORF1b is translated by -1 programmed ribosomal frameshift (-1 PRF) mechanism. -1 PRF is directed by two frameshifting signals, a slippery sequence and the downstream RNA pseudoknot, which are located in the junction of ORF1a/ORF1b. In this study, we designed a dual reporter plasmid that carries the frameshifting signals of SARS-CoV-2 between two luciferase genes (*Renilla* luciferase gene and firefly luciferase gene), and performed a cell-based screening of small molecules that can target the frameshifting signals using the reporter assay with the dual reporter plasmid designed.

Keywords : Ribosomal frame shifting; SARS-Cov-2; RNA secondary structure; Small molecule; Screening

COVID-19 の原因ウイルスである SARS-CoV-2 のゲノム RNA は、5 分の 2~3 を 2 つの長いオープンリーディングフレーム (ORF1a 及び ORF1b) が占めている。ORF1b は、ORF1a とは異なる読み枠で翻訳される。そのため、ORF1b がコードするタンパク質を合成する手段として、SARS-CoV-2 は -1 Programmed Ribosomal Frameshift (-1 PRF) という翻訳フレームシフト機構を利用する。 -1 PRF は ORF1a と ORF1b の間にある 2 つのシスエレメント、滑り配列と RNA シュードノット構造から成るフレームシフトシグナルにより誘起され、翻訳の読み枠を変化させる。本研究では、このフレームシフトシグナルを 2 種類のルシフェラーゼ遺伝子の間に挿入したレポータープラスミドを設計し、それを用いた Cell-based レポーターアッセイにより、SARS-CoV-2 のフレームシフトシグナルを標的とした化合物ライブラリーのスクリーニングを行った。

