

人工 RNA 切断酵素を用いた動物細胞内でのインフルエンザ RNA 切断

(岡大院ヘルス) ○森 友明・森 光一・世良 貴史

Cleavage of influenza RNA using artificial RNA-cleaving enzymes in animal cells (*Graduate School of Interdisciplinary Science and Engineering in Health Systems, Okayama University*)
○Tomoaki Mori, Koichi Mori, Takashi Sera

We previously developed an artificial DNA-cleaving enzyme that can specifically cleave a target DNA sequence in a DNA viral genome as novel antiviral agents and inhibited DNA replication of human papillomavirus known to be the causative virus of cervical cancer in animal cells. Furthermore, to extend this technology to RNA viruses, we developed an artificial RNA-cleaving enzyme targeting the genomic RNA of influenza virus, one of RNA viruses, and cleaved its target RNA sequence in vitro. In the present study, we examined whether this artificial RNA-cleaving enzyme could inhibit the replication of influenza virus in animal cells. First, we investigated whether the artificial RNA-cleaving enzyme could cleave its target RNA sequence in animal cells. Next, we constructed an assay system where we could monitor the amount of replication of influenza virus in animal cells by measuring an enzyme activity, and evaluated the ability of the artificial RNA-cleaving enzyme to inhibit RNA replication of influenza virus.

Keywords : *Artificial RNA-cleaving enzyme; RNA virus; Influenza RNA; Inhibition of viral replication*

これまでに我々は、新しい抗ウイルス剤としてウイルスゲノム内の標的 DNA 配列を特異的に切断できる人工 DNA 切断酵素を開発し、これを用いて DNA ウイルスの一種であり、子宮頸がんの原因ウイルスでもあるヒトパピローマウイルスの動物細胞内での複製阻害に成功している(1)。さらに、このウイルス複製阻害法を RNA ウィルスへ適用拡大するために、RNA ウィルスの一種であるインフルエンザウィルスのゲノム RNA を標的とした人工 RNA 切断酵素を開発し、試験管内での標的 RNA 配列の切断にも成功している(2)。本研究では、この人工 RNA 切断酵素が動物細胞内においてインフルエンザウィルス複製を阻害できるかを検証した。まず、人工 RNA 切断酵素が動物細胞内においても標的 RNA 配列を切断できるかを調べた。続いて、特定の酵素活性を測定することにより動物細胞内におけるインフルエンザウィルス複製を定量的にモニターできるアッセイ系を構築し、この系を用いて動物細胞内での人工 RNA 切断酵素のインフルエンザウィルス複製阻害能を評価した。今回、その詳細について報告する。

(1) Mino, T., Mori, T., Aoyama, Y. and Sera, T. (2013) *PLoS One* **8**, e856633.

(2) Mori, T., Nakamura, K., Masaoka, K., Fujita, Y., Morisada, R., Mori, K., Tobimatsu, Y. and Sera, T. (2016) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **479**, 736-740.