

【目的】我々は SARS-CoV-2 の高速リバーシジェネティクス系を確立し、組換えウイルスを簡便かつ高速で作製できるようになった（下図）。この Circular Polymerase Extension Reaction (CPER) 法と呼ばれる手法は、PCR によってウイルスゲノムを断片的に増幅し精製したのちに、再度の PCR 反応により連結させ環状化し、感受性細胞に直接導入する。導入後 4 日で親株と同等の性状を持つ感染性組換えウイルスが産生される。本研究では、この技術を用いて、次々に出現する変異 SARS-CoV-2 を作製し、変異の意義の解明を行なった。

【方法および結果】本研究内で以下の 4 種類の変異解析を行った。1. 流行株の大規模な配列解析により、HLA-A24 によって認識されるエピトープ部位の変異、Y453F と L452R を同定した。Y453F 変異は、HLA-A24 から逃避し、感染受容体 ACE2 への結合性を高める能力を持つが、この変異を持つ B.1.1.298 系統は、2020 年秋のデンマークでの一過的な流行以降に収束した。一方、L452R 変異は、HLA-A24 から逃避するのみならず、感染受容体 ACE2 への結合性を高め、ウイルスの膜融合活性を高めることによってウイルスの感染力を増強させることを明らかにした。2. デルタ株 (B.1.617.2 系統) が、従来株に比べて病原性が高いことを明らかにした。また、デルタ株のスパイクタンパク質の細胞融合活性は、従来株や他の変異株に比べて顕著に高く、その活性は、スパイクタンパク質の P681R 変異によって担われていることを明らかにした。そして、P681R 変異を持つウイルスを CPER 法にて人工合成し、ハムスターを用いた感染実験を実施した結果、P681R 変異の挿入によって、病原性が高まることを明らかにした。3. 「オミクロン株 (B.1.1.529, BA 系統)」が、従来株に比べて病原性が低いことを明らかにした。また、オミクロン株のスパイクタンパク質の細胞融合活性は、従来株やデルタ株に比べて顕著に低いことを明らかにした。また、数理モデリング解析により、オミクロン株のヒト集団内における増殖速度は、デルタ株に比べて 2~5 倍高いことが明らかになった。4. オミクロン BA.2 株のヒト集団内における相対的実効再生産数は、オミクロン BA.1 株に比べて 1.4 倍高いことがわかった。また、オミクロン BA.2 株の抗原性が、オミクロン BA.1 株とは異なることを明らかにした。さらに、オミクロン BA.2 株のスパイクタンパク質の合胞体形成活性は、オミクロン BA.1 株に比べて有意に高いことを解明し、オミクロン BA.2 株スパイクタンパク質を持つウイルスは、オミクロン BA.1 株スパイクタンパク質を持つウイルスに比べてハムスターにおける病原性が高いことを明らかにした。

CPER 法によるリバーシジェネティクスを駆使した SARS-CoV-2 の変異解析

