

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 6 年 4 月 10 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20773

研究課題名（和文）ワクチン感受性低下を来しうるSARS-CoV-2新規変異株の予測

研究課題名（英文）Prediction of the vaccine escape SARS-CoV2 mutants

研究代表者

池亀 聡（ikegame, satoshi）

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：40785193

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：SARS-CoV-2のスパイク遺伝子を発現するvesicular stomatitis virus（VSV-CoV2-S）を改変し本邦での安全性の基準を満たすよう対応した。
また、ウイルスを増殖させるための培養細胞を樹立した。ワクチン後の血清を入手し、新型コロナウイルスの中和能があることを確認したのちに血清存在下でVSV-CoV2-Sを培養し逃避変異株の取得を試みた。
現状ではウイルスに変異が入らず、培養条件や血清の使用量などの条件を検討している段階であり条件を検討したのちに変異誘導実験を再度試みる予定としている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新型コロナウイルスの逃避変異株を安全かつ効率的に取得するための新しい実験系となることが期待され、また実際に発見された変異株から新しいワクチン候補株が早期に発見されることも期待できる。他のウイルスにも応用可能な実験系であり将来的な発展性も期待できると考える。

研究成果の概要（英文）：I modified vesicular stomatitis virus (VSV) so that VSV express spike of SARS-CoV-2. I made modification in VSV so that VSV can only grow in special cell lines to make virus safe. I generated the cells which can allow replication of VSV expressing spike. I checked the neutralization activity of serum after vaccination and trying to acquire vaccine escape mutants. I was unable to introduce mutation at first attempt, so I am now trying to change the condition of culture and serum dilution. I will try to start mutant selection using new culture condition and serum dilution.

研究分野：ウイルス

キーワード：vaccine SARS-coronavirus 2

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2021年1月頃に新型コロナウイルスのワクチンが開発され、良好な予防効果が報告されていた。このワクチンは発生直後の起源株から設計されたワクチンであり、オミクロン株などのスパイク変異株の出現によりワクチンの予防効果が大きく減弱した。オミクロン株の大流行に合わせ新規変異株用のワクチンも開発されつつあるが、さらなる変異株の出現も懸念されている。どのような新規変異株を出現しうるかを事前に予測できる技術の開発が待望される。本物の新型コロナウイルスを用いて新規変異の誘導を行うような研究もあるが、本物のコロナウイルス変異株を扱う研究の危険性もあり、より安全な実験系の開発が必要とされる。

2. 研究の目的

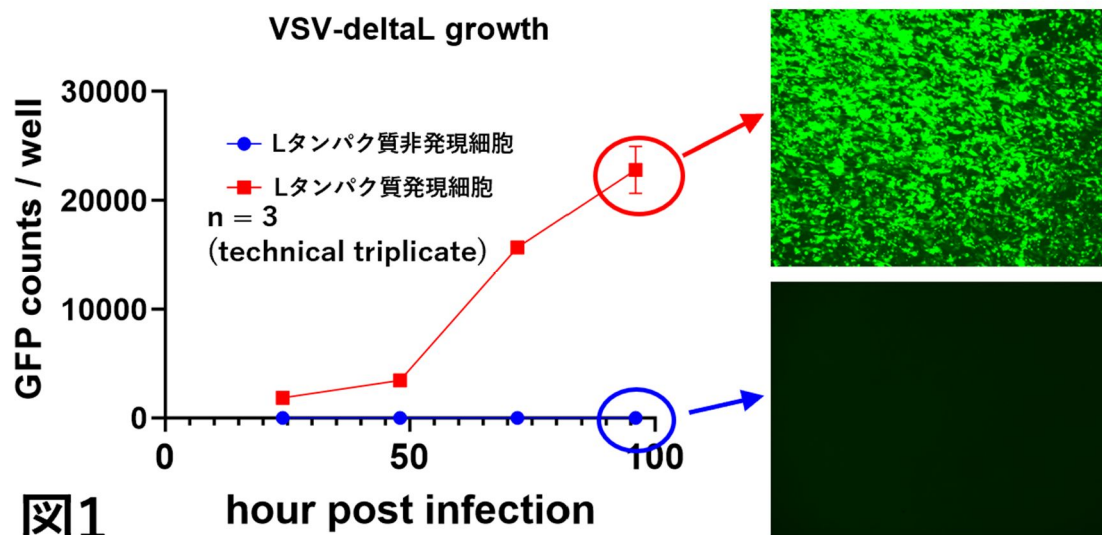
水疱性口内炎ウイルス (vesicular stomatitis virus: VSV) というヒトには病原性がないウイルスを元に新型コロナウイルスのスパイクタンパク質を発現させ、安全にスパイク変異株の研究が行える系を構築する。また、この系を用いてワクチン後血清からの逃避変異株を取得し、ワクチン耐性の変異株の可能性を検索する。これによりどのような変異がワクチン不応となるかが事前に予測でき、サーベイランスの改善や新規ワクチン株の効果的な選定に

3. 研究の方法

本研究では最初に水疱性口内炎ウイルスのゲノムを改変し、新型コロナウイルスのスパイクタンパク質を発現できるように改変する。これを VSV-CoV2-S と名付ける。改変した VSV-CoV2-S を作り出す系の樹立、作り出したウイルスを増やすための細胞の構築、作り出したウイルスの表現型の解析などを行ったのちに、ワクチン後血清を入手しワクチン後血清からの逃避変異株の取得を試みる。また、取得された変異株がどの程度ワクチン後血清で中和不能になっているかを中和抗体価を測定することにより明らかとする予定である。

4. 研究成果

SARS-CoV-2 のスパイク遺伝子を発現する vesicular stomatitis virus (VSV-CoV2-S) を改変し本邦での安全性の基準を満たすよう対応した。具体的には VSV の RNA ポリメラーゼである L 遺伝子を欠損させ、L タンパク質は外部供給することで自立増殖能を欠損され限定増殖型とした。まず、VSV そのもので L 遺伝子欠損ウイルスを樹立を試みた。図1の通りウイルスは L 発現細胞でのみ GFP を発光して増殖したが、L 非発現細胞では増殖しなかった。



次に新型コロナウイルスのスパイクを発現する L 欠損 VSV の作成にも成功した。このウイルスは L タンパク質依存性に増殖することが確認され、また、ACE2 発現細胞で巨細胞を形成しながら増殖し、期待された通りの表現型を示した。

次にこのウイルスを増殖させるための培養細胞を樹立した。
さらにワクチン後の血清を入手し、新型コロナウイルスの中和能があることを確認したのちに血清存在下で VSV-CoV2-S を培養し逃避変異株の取得を試みた。
何度か実験を試みたが現状ではウイルスに変異が入らず、培養条件や血清の使用量などの条件を検討している段階であり条件を検討したのちに変異誘導実験を再度試みる予定としている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------