

大豆イソフラボンの抗インフルエンザウイルス  
作用発現メカニズムの検討

武庫川女子大学大学院 生活環境学研究科食物栄養学専攻  
堀尾 侑加

大豆イソフラボンのダイゼインは抗 IAV 効果を発揮し、そのメカニズムのひとつにウイルス RNA 合成阻害があることを確認した。そこで、インフルエンザの RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRp) の活性を評価することとした。従来の方法では、超遠心機を用いてウイルス粒子を分離し、<sup>32</sup>P などの放射性同位元素で標識したヌクレオシドを用いて定量していた。本研究では、超遠心機や放射性同位元素を用いずに RdRp の活性を評価する方法を開発した。培養上清から磁気ビーズを用いて精製したウイルス粒子から RdRp を抽出した。タグ付きプライマーを用いた逆転写法により、ストランド特異的な Real time RT-PCR 法を開発した。タグ配列をフォワードプライマーとし、segment 特異的なリバースプライマーを用いてリアルタイム PCR を行うことで、segment1、4、5 の mRNA を特異的に定量することができた。RdRp による in vitro RNA 合成の最適条件として、温度、反応時間を検討した結果、37°C、30 分の条件が最適であることがわかった。また、RdRp の阻害剤であるリバビリン三リン酸によって mRNA の合成量が減少したことから、この評価法は RdRp の阻害剤のスクリーニングに利用できることが示された。一方、ダイゼインの抗 RdRp 効果を検討したところ、阻害は認められなかった。このことから、ダイゼインは RdRp に直接作用するのではなく、何らかの宿主因子を介してウイルス RNA 合成を阻害する可能性が示唆された。

(注記) 論文投稿中の為、詳細の報告内容は 2021 年度助成研究報告書に掲載いたします。