



Title	A small compound targeting the interaction between nonstructural proteins 2B and 3 inhibits dengue virus replication
Author(s)	Pambudi, Sabar
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34107
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	SABAR PAMBUDI
論文題名 Title	A small compound targeting the interaction between nonstructural proteins 2B and 3 inhibits dengue virus replication (NS2BとNS3の相互作用を標的とした化合物はデングウイルスの複製を阻害する)
論文内容の要旨 〔 目 的(Purpose)〕 The non-structural protein NS2B/NS3 serine-protease complex of the dengue virus (DENV) is required for the maturation of the viral polyprotein. Dissociation of the NS2B cofactor from NS3 diminishes the enzymatic activity of the complex. In this study, we identified a small molecule inhibitor that interferes with the interaction between NS2B and NS3 using structure-based screening and a cell-based viral replication assay. 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 A library containing 661,417 small compounds derived from the Molecular Operating Environment lead-like database was docked to the NS2B/NS3 structural model. Thirty-nine compounds with high scores were tested in a secondary screening using a cell-based viral replication assay. SK-12 was found to inhibit replication of all DENV serotypes ($EC_{50} = 0.74\text{--}4.92\text{ }\mu\text{M}$). <i>In silico</i> studies predicted that SK-12 pre-occupies the NS2B-binding site of NS3. Steady-state kinetics using a fluorogenic short peptide substrate demonstrated that SK-12 is a noncompetitive inhibitor against the NS2B/NS3 protease. Inhibition to Japanese encephalitis virus by SK-12 was relatively weak ($EC_{50} = 29.81\text{ }\mu\text{M}$), and this lower sensitivity was due to difference in amino acid at position 27 of NS3. 〔 総 括(Conclusion)〕 SK-12 is the promising small-molecule inhibitor that targets the interaction between NS2B and NS3.	

論文審査の結果の要旨及び担当者

SABAR PAMBUDI	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主査大阪大学教授 生 田 和 良
	副査大阪大学教授 松 浦 善 治
	副査大阪大学教授 堀 口 達 夫
論文審査の結果の要旨 デングウイルス感染症は熱帯、亜熱帯地域で流行している蚊媒介性の熱性疾患であり、重症化した場合死に至ることがある。効果的な治療薬及びワクチンはなく、開発が待たれている。Pambudi君はデングウイルスの増殖に必須であるウイルスプロテアーゼNS2B/NS3複合体に対する阻害効果のある低分子SK-12を同定した。NS3がプロテアーゼの本体であるが、コファクターであるNS2Bの結合がなければ、プロテアーゼ活性は得られない。そこでNS2BとNS3との結合を阻害することで、プロテアーゼ活性を阻害する効果をねらった。構造解析を利用したバーチャルスクリーニングから39個の候補分子を選び、その中からデングウイルス複製阻害効果のあるSK-12が同定された。SK-12は4つある全てのデングウイルスに対して強い増殖阻害効果を示した。試験管内でのプロテアーゼ活性試験から、この分子は非競合的にプロテアーゼを阻害することを証明し、予想されたデザインで活性を阻害することを確認した。さらに感染性クローンをを用いた実験により、他のフラビウイルスである日本脳炎ウイルスへの阻害効果の差異が、デングウイルス特有の遺伝子配列によることを示した。プロテアーゼ阻害剤は、一般的に触媒部位を標的に開発が行われるが、今回の結果で別のアプローチが有効であることを証明した。これら一連の研究は、薬剤開発の方向性に影響する有意義な成果であり、学位の授与に値すると考えられる。	