

課題番号	LS068
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 25 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	低分子 RNA 治療を実現するための新規 RNA ウイルスベクタープラットフォームの創製
研究機関・部局・職名	京都大学・ウイルス研究所・教授
氏名	朝長啓造

1. 当該年度の研究目的

平成 24 年度は、ボルナウイルスベクターの回収効率と外来性遺伝子の発現効率の改良に向けて、以下の項目の達成を目標とした。(1)欠損型ボルナウイルスベクターの開発と組換えボルナウイルス産生効率の向上。(2)miRNA 発現ボルナウイルスベクターの技術改良と応用。(3)ボルナウイルスの持続感染と宿主認識機構の解明。(1)では、M 遺伝子欠損ベクターの改良とウイルス高産生細胞株の作製を目標とした。(2)では、miRNA 持続発現ボルナウイルスベクターの改良を継続し、新たな種類の miRNA の発現を試みた。(3)では、細胞核におけるボルナウイルスの認識機構の解明を行うことで、組換えボルナウイルスの持続感染機構の解明を目標とした。

2. 研究の実施状況

(1)欠損型ボルナウイルスベクターの開発と組換えボルナウイルス産生効率の向上: 本年度は、M および G 遺伝子の両遺伝子を欠損させたベクターを開発し、L および P 遺伝子に変異を導入することで、病原性の低減と複製効率の向上に成功した(論文執筆中)。さらに、組換えウイルスの回収効率を改善するために、ボルナウイルスの粒子形成を阻害している宿主因子 X を同定し、その因子を欠損させた新しい細胞株を樹立した。宿主因子 X はボルナウイルスの G 蛋白質と相互作用して、ウイルスの粒子形成を負に制御していることが明らかとなった(論文執筆中)。

(2)miRNA 発現ボルナウイルスベクターの技術改良と応用: ボルナウイルスベクターに miRNA 配列を簡便に挿入できる新たなコンストラクトの構築を行った。このシステムを用いて、新たにマウス由来の 2 種類の miRNA をベクターに組み込むことに成功し、その発現とターゲット遺伝子への抑制効果を確認した(論文準備中)。さらに、インフルエンザウイルス増殖に関与すると考えられる miRNA を同定し、ボルナウイルスベクターへの応用を目指し、その作用の解析を行った。

(3)ボルナウイルスの持続感染と宿主認識機構の解明: 組換えボルナウイルスからの持続的な遺伝子発現のためには、核内においてボルナウイルスの感染を認識する宿主機構の解明が必須である。そこで、細胞核においてボルナウイルス RNP と結合する因子を同定し、その因子がウイルスの持続感染に与える影響を詳細に解析した。その結果、HBP1 と名づけた宿主因子が核内でボルナウイルス RNP を認識して、細胞質への輸送を促すことでボルナウイルスの複製阻害を行っていることを発見した(論文執筆中)。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件 Sassa Y, Horie M, Fujino K, Nishiura N, Okazaki S, Furuya T, Nagai M, Omatsu T, Kojima A, Mizugami M, Ueda K, Iki H, Ebisawa K, Tomonaga K and Mizutani T. Molecular epidemiology of avian bornavirus from pet birds in Japan. <i>Virus Genes</i> 47:173-177 (2013) Horie M, Kobayashi Y, Suzuki Y and Tomonaga K. Comprehensive analysis of bornavirus-like elements in eukaryote genomes. <i>Philos. Trans. R. Soc. Lond.-B Biol. Sci.</i> 368:20120499. (2013) Honda T and Tomonaga K. Nucleocytoplasmic trafficking of viral molecules in Bornavirus infection. <i>Viruses</i> 5:1978-1990 (2013) (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 9 件</p>	<p>専門家向け 計 7 件 Honda T., Makino A., Fujino K., Sofuku K., Nakamura S. and Tomonaga K. Identification of host factors interacting Bornavirus ribonucleoprotein in the nucleus. The 15th International Conference of Negative Strand Viruses. Granada, Spain, 16-21 June 2013 Makino A., Hirai Y., Sofuku K., Nakamura S., Kojima S., Honda T. and Tomonaga K. Inhibition of NF-κB activation by peptide derived from nucleoprotein of Bornavirus. The 15th International Conference of Negative Strand Viruses. Granada, Spain, 16-21 June 2013 Fujino K., Horie M., Honda T. and Tomonaga K. Inhibition of Bornavirus replication by an endogenous bornavirus element in ground squirrel genome. The 15th International Conference of Negative Strand Viruses. Granada, Spain, 16-21 June 2013 Tomonaga K. Persistent infection of bornavirus reveals possible mechanism of intranuclear sensing of RNA virus infection. The 12th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Hyogo, Japan. 10-13 September 2013. Tomonaga K. Endogenous bornavirus-like elements: cellular co-option and impact on host evolution. 1st Kyoto International Symposium on Virus-Host Coevolution. Kyoto, Japan. 7 November 2013. Honda T., Sofuku K. and Tomonaga K. Epigenetic control of an endogenous bornavirus element expression in the human genome. Mobile genetic elements and Genome evolution. Santa Fe, New Mexico, USA. 9-14 March 2014 Tomonaga K. Endogenous bornavirus-like elements: cellular co-option and impact on genome evolution. Mobile genetic elements and Genome evolution. Santa Fe, New Mexico, USA. 9-14 March 2014 一般向け 計 2 件 朝長 啓造. 私たちのゲノムに潜むウイルスたち一敵か?味方か?-. 東京大学医科学研究所公開セミナー「LoveLab」. 東京大学医科学研究所. 東京. 2013 年 7 月 23 日 朝長 啓造. パンデミックから共存へ - ゲノム解析が明らかにするウイルスとの共進化 - 第 28 回 国立大学共同利用・共同研究拠点協議会 知の拠点セミナー. 東京. 2014 年 1 月 17 日</p>
<p>図書 計 3 件</p>	<p>Honda T and Tomonaga K. Molecular chaperons: Cell surface receptors for viruses. P293-307. In Brian Henderson (ed.), <i>Moonlighting Cell Stress Proteins in Microbial Infection</i>. Springer Publishing Co., New York (2013) 朝長 啓造. RNA ウイルスの内在化と感染記憶.「RNA に隠されたメッセージと新たな役割」実験医学 増刊号. 塩見春彦, 稲田利文, 泊 幸秀, 廣瀬哲郎編 羊土社 31:107-114 (2013) 朝長 啓造. RNA ウイルスの核内持続感染機構. <i>医学のあゆみ</i> 246(11): 978-980 (2013)</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計 1 件</p>	<p>(取得済み) 計 1 件 「ボルナ病ウイルスを利用するベクター及びその利用」登録日 2013/06/28 特許権者:国立大学法人大阪大学 発明者:朝長 啓造 他 2 名 登録番号:特許 5299879 号(国内) (出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>京都大学ウイルス研究所 朝長研究室 http://www.virus.kyoto-u.ac.jp/Lab/tomonaga-hp/index.html https://www.facebook.com/TomonagaLab</p>

様式19 別紙1

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>一般向けセミナーを2件行った 1. LoveLab（東京大学医科学研究所. 平成25年7月23日開催） 2. 国立大学共同利用・共同研究拠点協議会 知の拠点セミナー（京都大学東京オフィス. 平成26年1月17日開催） 本研究に関する内容を一般向けにレクチャーするとともに、最先端・次世代研究の成果と展望について対話を行った。</p> <p>参加者数: 1. LoveLab 約100名 2. 知の拠点セミナー約60名</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計1件</p>	<p>読売新聞 平成26年1月26日全国版朝刊 科学欄 「パンデミックから共存へーゲノム解析が明らかにするウイルスとの共進化」</p>
<p>その他</p>	<p>なし</p>

4. その他特記事項

ボルナウイルスベクターの利用と共同開発を目的とした国際共同研究に進展が見られている（未発表を含むため、内容は別紙1-5. 現在までの達成度に記載）。

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	123,000,000	83,600,000	39,400,000	0	0
間接経費	36,900,000	25,080,000	11,820,000	0	0
合計	159,900,000	108,680,000	51,220,000	0	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未取利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	8,674,936	39,400,000	0	48,074,936	48,074,936	0	0
間接経費	20,885,501	11,820,000	0	32,705,501	32,705,501	0	0
合計	29,560,437	51,220,000	0	80,780,437	80,780,437	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	33,746,033	実験機器、実験試薬、実験動物 等
旅費	2,792,990	研究成果発表、研究情報収集 等
謝金・人件費等	8,078,060	非常勤教職員人件費 等
その他	3,457,853	学会参加費、DNAシーケンス解析、英語論文校閲 等
直接経費計	48,074,936	
間接経費計	32,705,501	
合計	80,780,437	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
イメージベースサイト メーター	米国ライフテクノロジーズ 社製 Taliイメージベース サイトメーター(T1079 6)	1	996,450	996,450	2013/4/3	京都大学
4D-Nucleofector™ 装置	ロンザジャパン株式会社 製4D-Nucleofector コアユニットAAF-1001 B	1	945,000	945,000	2013/4/11	京都大学
4D-Nucleofector™ 装置	ロンザジャパン株式会社 製4D-Nucleofector XユニットAAF-1001X	1	1,370,250	1,370,250	2013/4/11	京都大学
超低温フリーザー	パナソニックヘルスケア 超低温フリーザー 519L 三相200V MDF-U5 0	1	1,869,000	1,869,000	2013/8/26	京都大学
対物レンズ	株式会社ニコン製 CFI Apo 60XH λS(Oil)	1	548,100	548,100	2013/9/9	京都大学
蛍光実体顕微鏡	株式会社ニコン製 蛍光 実体顕微鏡SMZ18 S MZ18FLB-DBL-2	1	2,777,827	2,777,827	2013/10/1	京都大学
手動回転式マイクロト ム	独逸ライカバイオシステム ズ・ススロフGmbH社製 手動回転式マイクロト ムRM2125RTS	1	1,539,153	1,539,153	2013/11/1	京都大学
クロマトグラフィー システム	英国GEヘルスケア社製 AKTA pure L1	1	3,832,500	3,832,500	2013/11/7	京都大学
CO2インキュベ ーター	パナソニック CO2イン キュベーター 170L M CO-18AC-PJ	2	637,350	1,274,700	2013/11/15	京都大学
クロマトチャンパー	日本フリーザー株式会社 製 クロマトチャンパー M C-8EF3	1	620,550	620,550	2013/11/7	京都大学