

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) 実績報告書

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. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	123,000,000	123,000,000	0	123,000,000	123,000,000	0	0
間接経費	36,900,000	36,900,000	0	36,900,000	36,900,000	0	0
合計	159,900,000	159,900,000	0	159,900,000	159,900,000	0	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	25,725	28,270,715	30,519,193	33,746,033	92,561,666
旅費	0	763,010	3,543,547	2,792,990	7,099,547
謝金・人件費等	0	3,694,265	4,454,205	8,078,060	16,226,530
その他	0	1,420,438	2,233,966	3,457,853	7,112,257
直接経費計	25,725	34,148,428	40,750,911	48,074,936	123,000,000
間接経費計	15,000	3,852,367	327,132	32,705,501	36,900,000
合計	40,725	38,000,795	41,078,043	80,780,437	159,900,000

4. 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
CO2インキュベータ	三洋電機株式会社製 CO2インキュベータ MCO-18AC	1	672,000	672,000	2011/4/28	京都大学
超微量分光光度計	Nanodrop technology社製 超微量分光光度計 NanoDrop 2000 ND-2000	1	1,570,800	1,570,800	2011/8/4	京都大学
ゲル撮影装置	米国UVP社製 ゲル撮影装置 BioDoc-it	1	903,000	903,000	2012/1/24	京都大学
超低温フリーザー	三洋電機株式会社製 超低温フリーザー-85℃ 519L 三相200V MDF-U54V	1	1,890,000	1,890,000	2012/2/14	京都大学
密閉式超音波細胞破碎装置	東湘電機(株)社製 密閉式超音波細胞破碎装置 Bioruptor UCD-300 一式	1	1,491,000	1,491,000	2012/2/17	京都大学
LAS4000mini オプション	GEヘルスケア社製 LAS4000mini オプション 一式	1	1,583,400	1,583,400	2012/2/27	京都大学
多本架冷却遠心機	トミー工業株式会社製 多本架冷却遠心機 AX-310 1式	1	862,155	862,155	2012/3/15	京都大学
微量高速冷却遠心機	トミー工業株式会社製 微量高速冷却遠心機 KITMAN-24 一式	1	508,725	508,725	2012/3/26	京都大学
細胞培養装置	ワケンビーテック株式会社 低温型自動O2/CO2細胞培養装置 9200EX	1	718,200	718,200	2012/5/31	京都大学
バイオハザード対策用キャビネット	パナソニックヘルスケア株式会社製 バイオハザード対策キャビネットMHE-S1300A2-PJ	2	1,218,000	2,436,000	2012/8/7	京都大学

様式20

CO2インキュベーター	パナソニックヘルスケア株式会社製 CO2インキュベーター 170L MCO-18AC-PJ	2	639,450	1,278,900	2012/8/31	京都大学
バイオシェーカー	タイテック株式会社製 バイオシェーカー(旋回/往復切換BR-43FL-MR)	1	856,800	856,800	2012/9/25	京都大学
微量高速遠心機	トミー工業株式会社製 微量高速遠心機 KITMAN-24	1	508,725	508,725	2012/12/10	京都大学
小型冷却遠心機	日立工機株式会社製 微量高速/小型冷却遠心機 CF16RXII	1	661,500	661,500	2012/12/19	京都大学
リアルタイムPCR装置	QIAGEN Rotor GeneQ2plex.HRM.PC prioPLUS	1	3,936,870	3,936,870	2013/2/6	京都大学
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 (T10796)	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-1001B	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 コアユニット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 M DF-U50	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 CF I 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 SMZ18FLB-DBL-2	1	2,777,827	2,777,827	2013/10/1	京都大学
手動回転式ミクロトーム	独逸ライカハイオンシステムズ・スロフGmbH社製 手動回転式ミクロトーム RM2125 RTS	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 MCO-18AC-PJ	2	637,350	1,274,700	2013/11/15	京都大学
クロマトチャンバー	日本フリーザー株式会社製 クロマトチャンバー MC-8EF3	1	620,550	620,550	2013/11/7	京都大学

5. 研究成果の概要

低分子RNAは、ガンや神経疾患など様々な疾患に有効であると期待される次世代の治療法である。しかしながら、不安定で壊れやすいRNAを体の中に安定に運び、疾患局所で持続的に作用させる方法が確立されておらず、低分子RNA治療は実現していない。そこで本研究では、細胞の核に持続感染する特徴を持つボルナウイルスを用いて、持続的かつ効率的に低分子RNAの発現する新しいRNAウイルスベクターの開発を行うことを目的とした。同時に、ボルナウイルスの複製と病原性の解析を通して、ボルナウイルスベクターの安全基盤を確立することも本研究の目標である。本研究の実施により、以下の成果が得られた。(1)低分子RNAの発現に適したボルナウイルスベクターと効率的なウイルス産生システムの開発。本研究により、既存のボルナウイルスベクターシステムの改善と改良を行い、組換えウイルスの効率的な回収が可能となった。また、伝播能力を欠損させた組換えボルナウイルスを作製して、病原性の低減を試みた。(2)マイクロRNA(miRNA)を持続的に発現するボルナウイルスベクターの開発。持続的にmiRNAを発現できるボルナウイルスベクターを構築した。簡便な操作で任意のmiRNAの組み込みが可能システムを完成させた。(3)シュドタイプボルナウイルスベクターの確立。神経指向性の強いボルナウイルスの適用範囲を広げる目的で、エンベロープ遺伝子を他のウイルスのものに変えたシュドタイプウイルスの作製を行った。これにより、ボルナウイルスベクターの神経系細胞以外の細胞への導入も可能になると考えられた。(4)ボルナウイルスの複製と病原性の解明。ボルナウイルスベクターの安全性を向上させる目的で、ボルナウイルスの核内複製と病原性に関して研究を行った。その結果、ボルナウイルスが宿主クロマチンと結合して持続感染すること、内在性ボルナウイルスが外来性ボルナウイルスの複製に関与する可能性、そして核内の宿主因子がボルナウイルスの複製を認識して、ウイルスの増殖を負に制御していることを明らかにした。

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) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名 (下段英語表記)	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
	Development of a novel RNA virus vector platform for small RNA therapies
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	京都大学・ウイルス研究所・教授
	Kyoto University・Institute for Virus Research・Professor
氏名 (下段英語表記)	朝長啓造
	Keizo Tomonaga

研究成果の概要

(和文): ボルナウイルスは、細胞核で持続感染する唯一の動物由来 RNA ウイルスである。本研究は、このユニークな特性を持つボルナウイルスを用いて、がんや神経疾患などへの低分子 RNA 治療を可能にする新規 RNA ウイルスベクターを開発することを目的に行われた。我々は、独自に開発した組換えボルナウイルス作製技術(リバースジェネティクス技術)を用いて、外来遺伝子を効率よく、長期にわたり発現するボルナウイルスベクターの開発に成功した。また、細胞核におけるボルナウイルスの持続感染機構を明らかにすることで、ボルナウイルスベクターの遺伝子治療への有効性についても検討を行った。本研究において、低分子 RNA を持続的に発現するボルナウイルスベクターの基盤技術が開発されるとともに、ボルナウイルスベクター作製効率の向上と病原性の低下を目指したウイルスゲノムの改変やウイルス複製に関わる宿主因子の同定も成し遂げられた。本研究により、低分子 RNA を持続的に発現する世界で初めての RNA ウイルスベクターが開発され、その実用化への道筋が提唱できたと考えられる。

(英文): Bornavirus is the only animal-derived RNA virus that can persistently infect in the cell nucleus. In this research project, based on the unique feature of bornavirus, we tried to develop a novel RNA virus vector, which could be applicable to small RNA therapies to various intractable disorders, such as neurological diseases and cancers. In this study, we

have successfully generate a bornavirus vector, which can efficiently and persistently express foreign genes in the infected cells, by using a reverse-genetic system of bornavirus we previously established. Furthermore, we could demonstrate the effectiveness of bornavirus vector by elucidating the persistent mechanism of bornavirus in the cell nucleus. In this project, we have developed a basic technology of bornavirus vector expressing small functional RNAs, such as microRNA, and achieved the genome modification of bornavirus vector and the identification of host factors, which are involved in the replication of bornavirus, for improvement of bornavirus vector system. Finally, accomplishment of this research project have produced successful establishment of the world's first RNA virus vector, which can persistently express small functional RNAs, and the proposal of the application of bornavirus vector to the small RNA therapies in intractable disorders.

1. 執行金額 159,900,000 円
(うち、直接経費 123,000,000 円、 間接経費 36,900,000 円)

2. 研究実施期間 平成 23 年 2 月 10 日～平成 26 年 3 月 31 日

3. 研究目的

低分子 RNA は、mRNA の発現もしくは翻訳を特異的に抑制することができる 30 塩基以下の短い RNA 分子である。低分子 RNA は、その発見以降、RNA 干渉技術として基礎研究領域で広く利用されてきた。一方、近年では、ガンや神経疾患など様々な疾患の関連遺伝子の発現を制御する新しい治療法として、低分子 RNA を利用した創薬開発に期待が持たれている。しかしながら、非常に壊れやすい RNA 分子を体の中に安定に運び、疾患局所で持続的に作用させる方法が確立されておらず、低分子 RNA 治療は実現していない。これまでに、低分子 RNA を生体内で作用させる方法として、ウイルスベクターやナノ粒子が検討されてきた。なかでも、複製能力を持つウイルスベクターは、導入効率において極めて優れているが、免疫応答やガンの誘導など、病原性という副作用の面において問題が指摘されている。さらに、低分子 RNA を末梢より脳内に効率よく輸送できるウイルスベクターは開発されておらず、組織特異性の面でも課題は残されている。

ボルナウイルスは、神経細胞に親和性を示す RNA ウイルスである。数多く存在する RNA ウイルスの中で、細胞を破壊せずに核内で持続感染できるのはボルナウイルスのみである。この性状は、ボルナウイルスがこれまでにない長所を持つウイルスベクターとなることを示している。さらに、低分子 RNA の成熟には核内因子が必要であることから、核内で複製するボルナウイルスは低分子 RNA を発現できる世界で唯一の RNA ウイルスベクターになると考えられる。一方、ボルナウイルスは末梢より脳内に侵入できることがわかっている。そのため、ボルナウイルスベクターが神経疾患の治療にも有効である可能性が考えられた。そこで本研究は、ボルナウイルスならびにボル

ナウイルスベクターに関するこれまでの独自の成果を基に、持続的かつ効率的に低分子 RNA の発現を可能にする新規 RNA ウイルスベクターの開発を行うことを目的とした。また、ボルナウイルスの複製と病原性の解明を通して、ボルナウイルスベクターの安全基盤を確立するのも本研究の目的である。

4. 研究計画・方法

本研究では、研究計画をいくつかの小課題に分けて効率的な解析を行った。ここでは、小課題毎の研究計画と方法について簡単に記載する。

(1) 低分子 RNA 発現に適したボルナウイルスベクターと効率的なウイルス産生システムの開発

組換えボルナウイルス技術を用いて、低分子 RNA の発現に特化した効率の良いボルナウイルスベクターの開発を行った。具体的には、遺伝子欠損型ウイルスベクターやウイルス蛋白質に点変異を導入したウイルスベクターの作製を行った。また、細胞傷害性に関与すると思われるウイルス遺伝子への変異導入を行い、組換えウイルスの発現効率を上昇させた。さらに、組換えボルナウイルスを効率よく産生する細胞をスクリーニングにより選択し、ウイルスベクターの回収に適したクローン細胞株の樹立を行った。

(2) シュードタイプボルナウイルスベクターの確立

ボルナウイルスの細胞特異性を決定しているエンベロープタンパク質を狂犬病ウイルスや水疱性口内炎ウイルス (VSV) のそれと組み替えることで、広範囲な細胞や臓器に感染可能なボルナウイルスベクターの作製を行った。

(3) ボルナウイルスの持続感染機構と病原性の解明

ボルナウイルスの持続感染機構と病原性について解明を行った。持続感染機構の解明は、感染細胞を用いてボルナウイルス RNP の核内局在を詳細に明らかにした。また、宿主が核内のボルナウイルス RNA を認識する機序の解明を行った。一方、病原性の解明として、ボルナウイルスのインテグレーション産物である EBL の機能解析をはじめ、ウイルスタンパク質と相互作用する宿主因子の同定を行った。

(4) 難治疾患に対する特異的低分子 RNA を発現するボルナウイルスベクターの作製

難治性の神経疾患に対して特異的に作用する低分子 RNA 配列の確立を目指した。具体的にはアルツハイマー病のアミロイドβ前駆体をターゲットとする低分子 RNA 配列を有するボルナウイルスベクターを作製し、その効果を検討した。

5. 研究成果・波及効果

以下に具体的な研究成果とその波及効果について記載する。研究成果に関しては、上記「研究計画・方法」で分けた項目に従い列記する。

【研究成果】

(1) 低分子 RNA 発現に適したボルナウイルスベクターと効率的なウイルス産生システムの開発

① **ボルナウイルスベクターの開発**: 本成果に関しては、研究期間中に論文として発表済みである(Daito et al, *J. Virol.* 2011)。加えて、以下の成果を得ている。ボルナウイルスのポリメラーゼ酵素複合体を形成するリン酸化(P)タンパク質とポリメラーゼ(L)タンパク質に数カ所の点変異を導入したボルナウイルスベクターを作製した。これらの変異はいずれもウイルスの複製効率を上昇させることが明らかとなっており、組換えウイルスの回収効率と培養細胞でのウイルスの伝播効率は上昇することが確かめた。この中で P タンパク質のアミノ酸 89 番の変異は今回の研究で発見された転写促進部位である(論文執筆中)。

② **病原性を低減させたボルナウイルスベクターの開発**: ボルナウイルスのエンベロープ(G)タンパク質を欠損させた組換えウイルスも持続的に外来遺伝子を発現できることを報告した(Daito et al, *J. Virol.* 2011)。さらに、ベクターの安全性をさらに向上させるために、マトリックス(M)タンパク質をコードしている遺伝子も同時欠損させたベクターを作製した(論文執筆中)。

③ **組換えウイルス産生細胞株の樹立**: ボルナウイルスの感染とウイルス粒子産生に関与する宿主因子の同定を行い、組換えウイルスを効率的に産生する培養細胞株の作製を行った。成果として、感染細胞からの子孫ウイルス粒子放出促進に関与していると思われる宿主因子を、shRNA ライブラリーによる網羅的ノックダウン法にて同定した。そして、その宿主因子がボルナウイルスの G タンパク質と結合すること、ノックダウンにより組換えボルナウイルスの回収効率が上昇すること、また細胞外への粒子放出に直接関与していることを明らかにした(論文執筆中)。

さらに、組換えボルナウイルスの産生細胞に熱ストレスを与えることで、培養細胞中のウイルスの複製効率が上がり、組換えウイルスの回収効率が向上することを明らかにした(論文投稿中)。

(2) シュードタイプボルナウイルスベクターの確立

① **シュードタイプボルナウイルスベクターの構築**: G 遺伝子を欠損させたボルナウイルスベクターを VSV のエンベロープタンパク質を発現する遺伝子と共に培養細胞に導入することで、VSV のエンベロープタンパク質を持ったシュードタイプボルナウイルスの作製に成功した(Daito et al, *J. Virol.* 2011)。

② **ボルナウイルス G タンパク質の局在と粒子形成部位の解析**: シュードタイプウイルスの産生効率の向上を目指して、ボルナウイルスの G タンパク質の性状解析を行った。その結果、ボルナウイルスの G タンパク質は核膜槽に集積するとともに、小胞体へと輸送されることが明らかとなり、ボルナウイルスが核膜で粒子形成を行う可能性が示された(Daito et al, *J. Vet. Med. Sci.* 2011)。

(3) ボルナウイルスの持続感染機構と病原性の解明

① **ボルナウイルスの持続感染機構の解明**: 核内におけるボルナウイルスの持続感染機構を詳細に解析した。その結果、ボルナウイルスの複製複合体である RNP が宿主細胞のクロマチンに結合して安定に核内に留まっていることが明らかとなった。また、宿主因子である HMGB1 が核内での効率的な複製には重要であることも示された(Matsumoto et al, *Cell Host Microbe* 2012)。

② **ボルナウイルスの X ならびに P タンパク質の相互作用の解析**: ボルナウイルスの X と P タンパク質はウイルスの複製効率を制御している。そこで、ボルナウイルス株間における、X と P タ

ンパク質の発現制御機構の違い検討し、組換えボルナウイルスの複製効率の向上を目指した。成果として、株間により X と P タンパク質をコードしている mRNA の 5' 非翻訳領域の長さおよび配列が異なることが示され、この領域の複製における重要性を示した (Fujino et al, *PLoS One* 2012)。

③ **ボルナウイルスの核内複製を感知する宿主メカニズムの解明**: 核内に潜む RNA ウイルスを宿主細胞がどのように感知しているのかについては、まったく明らかになっていない。本研究では、宿主の IFI16 がボルナウイルス RNP と相互作用してウイルス複製を負に制御していることを明らかにした (論文執筆中)。

④ **内在性ボルナウイルスの機能解析**: これまでに、ボルナウイルスのヌクレオプロテインがヒトゲノムに内在化していることを発見した (Horie et al, *Nature* 2010)。ボルナウイルスの病原性を解析する過程において、ヒトゲノムに内在化したボルナウイルス (EBL) が、ウイルス感染と宿主細胞の生存に機能をもつ可能性を明らかにした (Horie et al, *Philos. Trans. R. Soc. Lond.-B Biol. Sci.* 2013)。

(4) 難治疾患に対する特異的低分子 RNA を発現するボルナウイルスベクターの作製

ボルナウイルスベクターを応用して、アミロイドベータ前駆体に対する shRNA を発現する組換えボルナウイルスを作製した。ベクターに shRNA の発現配列を重複して組み込むことで、培養細胞において効率よくアミロイドベータ前駆体の発現を抑えることが示された。

【波及効果】

本研究により、生体内で低分子 RNA を持続的に発現できる新規 RNA ウイルスベクターが樹立された。また、組換えボルナウイルスの効率的な回収のための技術革新に成功した。現在、組換えボルナウイルス技術を用いて低分子 RNA を発現するボルナウイルスベクターを作製できるのは、世界中で研究代表者の研究室のみであり、当分野におけるわが国の優位性が確立されたと考えられる。

低分子 RNA による疾患遺伝子の発現制御は、これまで治療が困難であった様々な疾患に対する次世代の治療法として期待が持たれている。今回開発したボルナウイルスベクターは、様々な疾患に対する低分子 RNA 治療のプラットフォーム技術としての波及効果が期待される。

これまで、中枢神経系への遺伝子治療においては、アデノ随伴ウイルスベクターなどが用いられてきた。しかしながら、長期的かつ持続的に外来遺伝子を発現させることは困難であった。ボルナウイルスベクターは、脳神経細胞に強い指向性を有しており、また、持続的な外来遺伝子発現を保持するため、アルツハイマー病やパーキンソン病などの難治性の神経疾患に対する遺伝子治療用ベクターとしての効果も期待される。

本研究により、ボルナウイルスの病原性あるいは核内での持続感染機構が明らかとなった。また、内在性ボルナウイルスの機能の一部も解明された。これらの成果は、ボルナウイルス感染の克服や制御法の発見につながるのみならず、RNA ウイルス全般の感染現象への総合的な理解が深まると考えられた。

6. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 11 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 11 件 Honda T, Fujino K, Okuzaki D, Ohtaki N, Matsumoto Y, Horie M, Daito T, Itoh M and Tomonaga K. Upregulation of insulin-like growth factor binding protein 3 in astrocytes of transgenic mice that express Borna disease virus phosphoprotein. <i>J. Virol.</i> 85: 4567-4571 (2011) Daito T, Fujino K, Watanabe Y, Ikuta K and Tomonaga K. Analysis of intracellular distribution of Borna disease virus glycoprotein fused with fluorescent markers in living cells. <i>J. Vet. Med. Sci.</i> 73: 1243-1247 (2011) Kobayashi Y, Horie M, Tomonaga K and Suzuki Y. No evidence for natural selection on endogenous Borna-like nucleoprotein elements after the divergence of Old World and New World monkeys. <i>PLoS One</i> 6:e24403 (2011) (新規報告) Daito T, Fujino K, Honda T, Matsumoto Y, Watanabe Y and Tomonaga K. A novel Borna disease virus vector system that stably expresses foreign proteins from an intercistronic noncoding region. <i>J. Virol.</i> 85: 12170-12178 (2011) Horie M, Ueda K, Ueda A, Honda T and Tomonaga K. Detection of avian bornavirus 5 RNA in <i>Ectoparasitiscus roratus</i> with feather picking disorder. <i>Microbiol. Immunol.</i> 56:346-349 (2012) Matsumoto Y, Hayashi Y, Omori H, Honda T, Daito T, Horie M, Ikuta K, Fujino K, Nakamura S, Schneider U, Chase J, Yoshimori T, Schwemmler M and Tomonaga K. Bornavirus closely associates and segregates with host chromosomes to ensure persistent intranuclear infection. <i>Cell Host Microbe</i> 11:492-503 (2012) Nakamura S, Horie M, Fujino K, Matsumoto Y, Honda T and Tomonaga K. Generation of human bronchial epithelial cell lines expressing inactive mutants of GALNT3. <i>J. Vet. Med. Sci.</i> 74:1493-1496 (2012) (新規報告) Fujino K, Horie M, Honda T, Nakamura S, Matsumoto Y, Francischetti I. M. B and Tomonaga K. Evolutionarily conserved interaction between the phosphoproteins and X proteins of bornaviruses from different vertebrate species. <i>PLoS One</i> 7:e51161 (2012) 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 Borna disease virus 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 18 件</p>	<p>専門家向け 計 16 件 Matsumoto Y., Daito T., Horie M., Fujino K. and Tomonaga K. Chromatin environment-dependent transcriptional activity of Borna disease virus ribonucleoprotein in persistently infected cells. XV International Congress of Virology. Sapporo Japan. 11-16 September 2011. Fujino K., Daito T., Horie M., Matsumoto Y. and Tomonaga K. Generation and characterization of recombinant Borna disease virus lacking both matrix and envelope glycoprotein. XV International Congress of Virology. Sapporo Japan. 11-16 September 2011. Daito T., Fujino K. and Tomonaga K. Localization of Borna disease virus glycoprotein at the nuclear membrane. XV International Congress of Virology. Sapporo Japan. 11-16 September 2011 Tomonaga K. Bornavirus: the development of a new paradigm for RNA virus research. Department of Molecular Medicine Seminar, MAYO clinic. Rochester, MN USA. 26 July 2012 Matsumoto Y., Fujino K., Horie M., Nakamura S., Honda T., Schwemmler M., Tomonaga K.: American Society for Virology 31th Annual Meeting. University of Wisconsin-Madison. Wisconsin, USA. 21-25 July 2012 Tomonaga K. Studies on bornavirus: towards opening a new avenue in RNA virus research. Centre de Physiopathologie de Toulouse-Purpan, Toulouse, France. 7 December 2012 Tomonaga K.: Analysis of possible functions and evolutionary roles of endogenous bornavirus elements in human genome. International Bornavirus Meeting in Freiburg 2012. Department of</p>

	<p>Virology, University of Freiburg. 8-10 December 2012</p> <p>Honda T and Tomonaga K.: vSPOT: an interaction platform of viral RNP and host factors in the nucleus. International Bornavirus Meeting in Freiburg 2012. Department of Virology, University of Freiburg. 8-10 December 2012</p> <p>Fujino K and Tomonaga K.: Inhibition of BDV replication by a revived endogenous element in ground squirrel genome. International Bornavirus Meeting in Freiburg 2012. Department of Virology, University of Freiburg. 8-10 December 2012</p> <p>Honda T., Makino A., Fujino K., Sofuku K., Nakamura S. and Tomonaga K. Identification of host factors interacting Borna disease virus ribonucleoprotein in the nucleus. The 15th International Conference of Negative Strand Viruses. Granada, Spain, 16-21 June 2013</p> <p>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 Borna disease virus. The 15th International Conference of Negative Strand Viruses. Granada, Spain, 16-21 June 2013</p> <p>Fujino K., Horie M., Honda T. and Tomonaga K. Inhibition of Borna disease virus replication by an endogenous bornavirus element in ground squirrel genome. The 15th International Conference of Negative Strand Viruses. Granada, Spain, 16-21 June 2013</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p>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</p> <p>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</p> <p>一般向け 計 2 件</p> <p>朝長啓造. 私たちのゲノムに潜むウイルスたち－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</p> <p>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</p> <p>計 3 件</p>	<p>Honda T and Tomonaga K. Molecular chaperons: Cell surface receptors for viruses. P293-307. In Brian Henderson (ed.), Moonlighting Cell Stress Proteins in Microbial Infection. Springer Publishing Co., New York (2013)</p> <p>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)</p> <p>朝長 啓造. RNA ウイルスの核内持続感染機構. 医学のあゆみ 246(11): 978-980 (2013)</p>
<p>産 業 財 産 権</p> <p>出 願・取 得 状 況</p> <p>計 1 件</p>	<p>(取得済み)(取得済み) 計 1 件</p> <p>「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)</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>
<p>Web ペ ー ジ</p> <p>(URL)</p>	<p>京都大学ウイルス研究所 朝長研究室</p> <p>http://www.virus.kyoto-u.ac.jp/Lab/tomonaga-hp/index.html</p> <p>https://www.facebook.com/TomonagaLab</p> <p>日本ボルナウイルス研究会公式ホームページ</p> <p>http://bornavirus.biken.osaka-u.ac.jp/index.html</p>

様式21

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>平成24年2月27日に千葉県立千葉高等学校にて特別授業(50分 x 5クラス、各クラス30-35人)を行い、最先端・次世代研究の成果とその展望について対話を行った。 群馬県立高崎高等学校(平成24年9月5日)と同・前橋高等学校(平成24年11月8日)生徒に対して本研究の紹介を含めた授業をウイルス研究所で行い、最先端・次世代研究の成果とその展望について対話を行った。 平成25年3月14日:東京農工大学での開催したボルナウイルス研究会(公開シンポジウム)において研究発表を行った。 平成25年度は以下の2件の対話を行った。 平成25年7月23日に東京大学医科学研究所(LoveLab)にて講演(約100名参加)を行った。 平成26年1月17日に京都大学東京オフィスにて国立大学共同利用・共同研究拠点協議会 知の拠点セミナー(約60名参加)を開催した。</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>特になし</p>

7. 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の開始を行っている。
 共同研究先: ドイツ・Freiburg University (Dr. Martin Schwemmler)、アメリカ・MAYO Clinic (Dr. Yasuhiro Ikeda)。これら2件に関しては、既に成果が得られており、共同で論文を執筆中である。