


令和 3年 12月 8日

## 若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 202080194

氏 名 神田 雄大   
(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。  
なお、下記記載の内容については相違ありません。

### 記

- 1 派遣先: 都市名 グライフスヴァールド/Greifswald (国名 ドイツ/Germany)
- 2 研究課題名 (和文) : ボルナ病ウイルス2型の病原性リスク解明に向けた研究基盤の構築
- 3 派遣期間: 令和 3年 8月 30日 ~ 令和 3年 11月 27日 (90日間)
- 4 受入機関名・部局名: フレードリッヒ・レフラー研究所/Institute of Diagnostic Virology
- 5 派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

ボルナ病ウイルス2型 (BoDV-2) は重度の神経症状を呈したウマから分離されたウイルスである。同種に分類されるボルナ病ウイルス1型 (BoDV-1) がヒトに致死的な脳脊髄炎を引き起こすことから、BoDV-2もヒトに致死的な病原性を示す可能性が懸念されている。しかし、BoDV-2に関するウイルス学的な研究はほとんど実施されておらず、また、GenBankに登録されているゲノム配列は正確ではない可能性が指摘されている。本研究では、BoDV-2の病原性リスク解明に向けた研究基盤を構築するため、BoDV-2の正確なゲノム配列の解析とリバーシジェネティクス法による組換えBoDV-2 (rBoDV-2) 人工合成系の確立を目的とした。

まず、派遣先が保有するボルナ病ウイルス2型 (BoDV-2) 感染細胞からRNAを抽出し、RNA-seq解析、及びRACE sequencing解析を実施し、BoDV-2のゲノム配列を再解析した。得られた配列をGenBankに登録されている既存のBoDV-2ゲノム配列と比較したところ、L遺伝子に4つのアミノ酸変異を伴う塩基の変異が検出された。そこで、変異していた塩基を一つずつ置換したBoDV-2のL遺伝子の発現プラスミドを構築し、Lタンパク質の発現、及び機能解析を実施した。既存のL遺伝子の配列からはタンパク質の発現が確認できなかったが、一つ目の塩基を置換した配列からはポリメラーゼ活性を有するLタンパク質の発現が確認された。

そこで、新たに決定したBoDV-2配列のcDNAをプラスミドにクローニングし、リバーシジェネティクス法により組換えBoDV-2の作出を試みた。定期的にウイルスタンパク質に対する抗体を用いて免疫染色を実施した結果、必要なプラスミドを導入した細胞において増殖能を有する組換えBoDV-2が合成されていることが確認された。

6 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本プログラムによる研究成果は、帰国後に補足の実験を行い、査読付き国際学術雑誌「Journal of Virology」に投稿予定である。また、2022年に開催予定の国際学会「NSV2022 (ポルトガル)」、あるいは「ASV2022 (アメリカ)」での発表を予定している。(COVID-19の感染状況による)

今後の研究計画としては、RNA-seq解析で検出された他の変異がBoDV-2のRNA合成活性やウイルスの増殖能に及ぼす影響について検討していく。具体的には、ミニレプリコンアッセイ法によるポリメラーゼ活性の測定や、変異を導入した組換えBoDV-2の作出と増殖能力の比較実験を計画している。また、今後の研究における利便性を向上させるため、レポーター遺伝子を導入した組換えBoDV-2を作出する予定である。

BoDV-2のヒトへの感染性の評価や、BoDV-1と比較した際の病原性リスクの評価に関しては、今後Prof. Martin BEERと共同で研究を推進していくことを確認した。京都大学ではrBoDV-2の作出や培養細胞レベルでの感染実験、感染メカニズムの解明を担当し、Friedrich-Loeffler-Institutでは動物実験を用いた感染実験を担当する予定である。

7 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本プログラムを通じて、日本と海外（ドイツ）の研究環境を客観的に俯瞰し、比較することができた。例えば、ドイツの研究所では、ラボ間の敷居が低く、気軽に他のラボの研究者に実験のサポートを求めたり、自分の実験に対する助言を求めたりすることができた。また、研究報告会では、発表と質疑応答に同程度の時間が設けられており、参加者は競って質問し、互いの意見や見解を激しく討論していた。これらの点は今後の日本での研究生活においても見習いたい点である。一方、試薬の納品や外注した検査結果の報告が遅く、短期的な実験計画を組み立てるのが難しかった。この点では、日本の研究環境が格段に恵まれており、業者様の日々の努力に感謝したいと感じた。また、今回はゲスト研究者という身分であったため、受入研究者が不在になる平日の夜間や休日に研究所に立ち入ることが許可されず、少しもどかしい思いをした。このような研究環境の違いを事前に把握しておくためにも、派遣前にはウェブミーティングだけでなく、実際に現地を見学したうえで留学先を決定した方が良いと感じた。博士号取得後に長期的に海外で研究する際は、今回の留学で得られた貴重な経験を生かしたい。

最後になりますが、本プログラムに採用していただき、コロナ禍における留学を手厚くサポートしてくださった日本学術振興会の関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。