

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22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

初年度である平成 22 年度は短期間ではあったが、研究を始動させるにあたり大きく以下の 2 つの目標を設定した。(1)ボルナウイルスベクターの最適化と組換えウイルス産生系の改良、(2) シュードタイプボルナウイルスベクターの作製。(1)では、既存のボルナウイルスベクターを用いて、組換えウイルスの回収効率を詳細に把握できる系の確立を試みた。(2)においては、効率的なシュードウイルス作成の基礎情報として、ボルナウイルスエンベロップ(G) 遺伝子の発現系の確立を行うことを目的にした。本年度において得られた成果を足掛かりに組換えウイルス産生系を改良することで、ボルナウイルスベクターの最適化を進める。

2. 研究の実施状況

(1)ボルナウイルスベクターの最適化と組換えウイルス産生系の改良:

既存のボルナウイルスベクター(pBDV P/M-GFP)を用いて、Vero 細胞と 293T 細胞における組換えウイルスの回収効率を測定した。また、エンベロップ(G) 遺伝子を欠損させたボルナウイルスベクター(pBDV dG-GFP)と比較することで、組換えウイルス産生効率に関わる G 遺伝子の役割も検討した。その結果、293T 細胞をボルナウイルスベクターの導入細胞として用いた時に、高い組換えウイルスの回収率が得られることが明らかとなった。また、G 遺伝子を欠損させたベクターでは、導入細胞上清に組換えウイルスの産生が認められないことが示された。

(2) シュードタイプボルナウイルスベクターの作製:

生細胞においてボルナウイルスの G 蛋白質の局在と細胞内動態を詳細に理解することが、他のウイルスの G 蛋白質を持つシュードウイルスを効率的に回収する上では欠かせない。そこで、ボルナウイルス G 遺伝子の 5'末端にテラシステインあるいは DsRed 配列を融合させた組換えプラスミドも作製することで、生細胞における G 蛋白質の動態を観察した。その結果、蛍光標識した組換え G 蛋白質は小胞体やゴルジ体を中心として細胞質内に顆粒状に分布することが明らかとなった。また、蛍光回復法において、組換え G 蛋白質が小胞体だけでなく細胞膜上においても活発に移動していることが示された。今回作成した組換え G 蛋白質は、組換えウイルスを可視化する道具としても使用できるとともに、シュードウイルス作製のための貴重な情報を提供すると考えられた。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計1件	(掲載済み一査読有り) 計0件 (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計1件 (in press) 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 cell. Journal of Veterinary Medical Science (J. Vet. Med. Sci.)
会議発表 計0件	専門家向け 計0件 一般向け 計0件
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	研究室のホームページは現在作製中である。 ボルナウイルス研究会ホームページ: http://bornavirus.biken.osaka-u.ac.jp/index.html
国民との科学・技術対話の実施状況	平成23年度にボルナウイルス研究会を一般公開の形で開催する予定である。
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	なし

4. その他特記事項

特になし

実施状況報告書(平成22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
直接経費	123,000,000	0	45,100,000	77,900,000
間接経費	36,900,000	0	13,530,000	23,370,000
合計	159,900,000	0	58,630,000	101,270,000

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 (未収利息を 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
直接経費	0	45,100,000	0	45,100,000	25,725	45,074,275
間接経費	0	13,530,000	0	13,530,000	15,000	13,515,000
合計	0	58,630,000	0	58,630,000	40,725	58,589,275

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	25,725	実験試薬
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	0	
直接経費計	25,725	
間接経費計	15,000	
合計	40,725	

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
				0		
				0		
				0		