

様式6（第15条第1項関係）

平成30年 3月31日

独立行政法人  
日本学術振興会理事長 殿

研究機関の設置者の所在地	〒606-8585 京都市左京区松ヶ崎橋上町1番地	
研究機関の設置者の名称	国立大学法人京都工芸繊維大学	
代表者の職名・氏名	学長 古山 正雄 (記名押印)	
代表研究機関名及び機関コード	京都工芸繊維大学	14303

平成29年度戦略的国際研究交流推進事業費補助金  
実績報告書

戦略的国際研究交流推進事業費補助金取扱要領第15条第1項の規定により、実績報告書を提出します。

整理番号	S2802	補助事業の完了日	平成30年3月31日	関連研究分野 (分科細目コード)	7701 (昆虫科学)
------	-------	----------	------------	---------------------	----------------

補助事業名（採択年度） 日英共同「PODS国際研究ネットワーク」による病理・生理・細胞生物学の新たな展開（平成28年度）	補助金支出額（別紙のとおり） 36,860,000円
---	-------------------------------

代表研究機関以外の協力機関  
なし

海外の連携機関  
University of Cambridge ケンブリッジ大学  
Cell Guidance Systems セル ガイダンス システムズ  
University of Oxford オックスフォード大学

1. 事業実施主体

担当研究者氏名	所属機関	所属部局	職名	専門分野
主担当研究者 フリガナ モリ ハジメ 森 肇	京都工芸繊維大学	大学法人	理事・副学長	昆虫ウイルス学
担当研究者 ヤマグチ マサミツ 山口 政光	京都工芸繊維大学	応用生物学系	教授	遺伝学
イトウ マサノブ 伊藤 雅信	京都工芸繊維大学	応用生物学系	教授	遺伝学
タカノ トシユキ 高野 敏行	京都工芸繊維大学	応用生物学系	教授	遺伝学
イノウエ ヨシヒロ 井上 喜博	京都工芸繊維大学	応用生物学系	准教授	細胞生物学

コタニ エイジ 小谷 英治  計6名	京都工芸繊維大学	応用生物学系	教授	昆虫生理学
-----------------------------	----------	--------	----	-------

フリガナ 連絡担当者	所属部局・職名	連絡先（電話番号、e-mailアドレス）
ヒノキオ ケンイチ 桧尾 謙一	研究推進課・研究協力係長	075-724-7714 research_cooperation@jim.kit.ac.jp

※2頁以降は、交付決定を受けた時点の事業計画の項目に合わせて必要に応じて修正すること。

## 2. 本年度の実績概要

昆虫ウイルスが作るタンパク質微結晶（多角体）は、ウイルスがコードするポリヘドリンと呼ばれる多角体タンパク質が会合し、立方体の結晶構造をとったものである。この多角体は内包したウイルスを保護する性質があることが知られていたが、京都工芸繊維大学の研究グループは、この特徴を生かして任意のタンパク質を多角体の中に内包（固定化）することで、熱や乾燥などの外部環境からタンパク質を保護するためのコンテナ（入れ物）として利用する方法を開発した。具体的にはカイコ細胞質多角体病ウイルスの多角体へのタンパク質の固定化は、ウイルスがこの多角体に内包される仕組みを利用した VP3 タグと、多角体の結晶化に特に重要である H1 タグを利用した方法で、さらに VP3 タグはタンパク質の C 末に、H1 タグはタンパク質の N 末に融合するのが適していることを明らかにした。この多角体にタンパク質を内包するシステムである PODS の特徴を生かして、PODS 国際研究ネットワークは次の3つの課題解決を目指している。

### 1) コールドチェーン不要なワクチンに関する研究

本学ではノロウイルス GI. 4、GII. 3、GII. 4 の主要キャプシドタンパク質 VP1 を発現させ、さらに VP1 によって作られたウイルス様疑似粒子（virus-like particle, VLP）の多角体包埋を確認した。

ケンブリッジ大学らのグループは、エボラウイルス、ジカウイルスのキャプシドタンパク質の多角体への内包化を行った。

### 2) 連続した細胞分化制御系に関する研究

PC12 細胞は、神経成長因子（NGF）に反応して、形態学的、また機能的に交感神経細胞様に分化する。このため、神経細胞分化のモデルとして広く使用されている。

NGF を内包化した多角体によって、PC12 細胞は軸索状の突起を伸ばし、整列させることに成功した。このことは、多角体を用いることで、サイトカインが保持され分泌される生体内の微小環境、つまり細胞外マトリックスを模倣することができることを示した。

### 3) オーファン受容体チップに関する研究

多角体に複数のタンパク質を内層と外層に分けて内包化するために多角体を作る（多角体タンパク質を発現する）組換えウイルスと多角体に内包化するタンパク質を発現する組換えウイルスの接種時間を調整することで、同時に接種することで外層にタンパク質を内包化する方法を開発した。

### 3. 到達目標に対する本年度の達成度及び進捗状況

#### 1) コールドチェーン不要なワクチンに関する研究

現在、本学ではノロウイルス GI. 4、GII. 3、GII. 4 の主要キャプシドタンパク質 VP1 に上記 VP3 及び H1 タグを付加し、多角体への固定化を行った。得られた多角体の表面を走査型電子顕微鏡及び原子間力顕微鏡で観察した所、VP1 によって作られたウイルス様疑似粒子 (virus-like particle, VLP) が多角体に包埋されている状態が観察された。さらに、ラマン分光解析などを行い、現在海外共著論文として投稿中である。

ケンブリッジ大学らの英国側のグループは、エボラウイルス、ジカウイルスのキャプシドタンパク質を多角体に内包化した後、この多角体をマウスに経皮接種し、抗体の上昇を確認した。さらに現在、マウスノロウイルスの VP1 を多角体に内包化し、得られた多角体をマウスに投与後、同ノロウイルスを接種し、VP1 内包化多角体がノロウイルスに対する感染防御能を持つかどうかについて調べるために、動物実験を開始した。

#### 2) 連続した細胞分化制御系に関する研究

生体内における NGF などの細胞増殖因子と細胞間の応答は非常に微小な環境でおこる現象であり、培養条件下でそれを再現することが難しい。一方、多角体は、その中に任意のタンパク質を内包化することで、その安定化と同時に長期間徐放させることができる。この特徴を生かすことで、多角体に内包化された細胞増殖因子はゆっくりと徐放され、生体内と同様に微小な環境での細胞増殖因子に対する細胞の応答を再現できると考えた。本計画では、幹細胞からの連続した細胞分化制御を課題としており、通常用いる細胞の *in vitro* での培養条件下でも、生体内と同様の環境を再現し、特にここでは幹細胞からの神経細胞への分化とそれに続く神経細胞の整列化、そして神経細胞間でのネットワーク構築を目指した。

NGF 内包化多角体をコラーゲンコートしたカバーガラスにスポットし、その上で PC12 細胞を培養した。すると、興味深いことに、PC12 細胞は多角体スポット周縁部に沿って軸索状の突起を伸ばし、整列することが分かった。NGF 多角体スポット周辺には、可溶性の NGF では成せなかった PC12 細胞を分化と整列に導く NGF の濃度勾配が形成され、それによって、PC12 細胞の整列化が誘導されることがわかった。

以上の通り、幹細胞からの神経細胞への分化、神経細胞の整列化、神経細胞ネットワークの構築という連続した神経細胞の分化制御を実現した。

#### 3) オーフアン受容体チップに関する研究

多角体に複数のタンパク質（この場合、細胞増殖因子）を内層と外層に分けて内包化する方法を開発した。具体的には、多角体を作る（多角体タンパク質を発現する組換えウイルスを接種する）15 時間～20 時間前に内包化するタンパク質を発現する組換えウイルスを接種することで内層にタンパク質を内包化することができ、さらに多角体タンパク質を発現する組換えウイルスと内包化するタンパク質を発現する組換えウイルスを同時に接種することで外層にタンパク質を内包化する方法を開発した。

一方、当初計画に加えて、遺伝子組換えカイコで繭タンパク質のフィブロインを作る後部絹糸腺で多角体を作る研究も行った。さらに、この後部絹糸腺を機能不全にすることで、繭タンパク質のもう一つのタンパク質であるセリシンのみでできた繭を作るカイコの作出

にも成功した。このセリシンのみでできた繭から作ったハイドロゲルと LIF を内包化した多角体を使ったマウス ES 細胞の培養や心筋細胞への分化を誘導するサイトカインを内包化した多角体を使ったマウス ES 細胞の分化誘導に関する研究を行った。これらの研究成果は Proc. Natl. Acad. Sci. USA に発表し、新聞各紙で大きく取り上げられた。

#### 4. 日本側研究グループ（実施主体）の研究成果発表状況（本年度分）

##### ①学術雑誌等（紀要・論文集等も含む）に発表した論文又は著書

論文名・著書名 等	
<p>（論文名・著書名、著者名、掲載誌名、査読の有無、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）について記入してください。）（以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。）</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・査読がある場合、印刷済及び採録決定済のものに限って記載して下さい。査読中・投稿中のものは除きます。</li> <li>・さらに数がある場合は、欄を追加して下さい。</li> <li>・著者名について、責任著者に「※」印を付してください。また、主担当研究者には<u>二重下線</u>、担当研究者については <u>下線</u>、若手研究者については <u>波線</u> を付してください。</li> <li>・海外の連携機関の研究者との国際共著論文等には、番号の前に「◎」印を、また、それ以外の国際共著論文等については番号の前に「○」印を付してください。また、主要連携研究者については<u>斜体・太下線</u>、連携研究者については<u>斜体・破線</u>としてください。</li> </ul>	
1	Crystal engineering of self-assembled porous protein materials in living cells. Abe, S., Tabe, H., Ijiri, H., Yamashita, K., Hirata, K., Atsumi, K., Shimoi, T., Akai, M., <u>Mori, H.</u> , Kitagawa, S., *Ueno, T. ACS Nano (査読あり) 11, 2410–2419. (2017)
2	Bioengineered silkworms with butterfly cytotoxin-modified silk glands produce sericin cocoons with a utility for a new biomaterial. Otsuki, R., Yamamoto, M., Matsumoto, E., Iwamoto, S., Sezutsu, H., Suzui, M., <del>Takaki, K.</del> , Wakabayashi, K., * <u>Mori, H.</u> , * <u>Kotani, E.</u> Proc. Natl. Acad. Sci. USA (査読あり) 114, 6740–6745. (2017)
3	Neuron-specific knockdown of the <i>Drosophila fat</i> induces reduction of life span, deficient locomotive ability, shortening of motoneuron terminal branches and defects in axonal targeting. Nakamura, A., Tanaka, R., Morishita, K., Yoshida, H., Higuchi, Y., Takashima, H., * <u>Yamaguchi, M.</u> Genes Cells (査読あり) 22 (7), 662–669, doi: 10.1111/gtc.12500. (2017)
4	Frequencies of chromosome inversions changed in <i>Drosophila melanogaster</i> after the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant Accident. <u>Itoh, M.</u> , Kajihara, R., <u>Kato, Y.</u> , <u>Takano-Shimizu, T.</u> , and <u>Inoue, Y.</u> PLOS ONE (査読あり) <a href="https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192096">https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192096</a>
5	

## ②学会等における発表

発表題名 等	
(発表題名、発表者名、発表した学会等の名称、開催場所、口頭発表・ポスター発表の別、審査の有無、発表年月(西暦)について記入してください。)(以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。) ・発表者名は参加研究者を含む全員の氏名を、論文等と同一の順番で記載すること。共同発表者がいる場合は、全ての発表者名を記載し、責任発表者名は「※」印を付して下さい。発表者名について主担当研究者には <u>二重下線</u> 、担当研究者については <u>下線</u> 、若手研究者については <u>波線</u> を付して下さい。 ・口頭・ポスターの別、発表者決定のための審査の有無を区分して記載して下さい。 ・さらに数がある場合は、欄を追加して下さい。 ・海外の連携機関の研究者との国際共同発表には、番号の前に「◎」印を、また、それ以外の国際共同発表については番号の前に○印を付して下さい。また、主要連携研究者については <u>斜体・太下線</u> 、連携研究者については <u>斜体・破線</u> としてください。	
1	FGF-7 固定化タンパク質微結晶を含有する絹糸素材の開発とその細胞増殖制御への応用 丸田 莉奈・高木 圭子・瀬筒 秀樹・小谷 英治・森 肇 2017年度生命科学系学会合同年次大会 ポスター発表(審査あ) 2017年12月8日
2	
3	
4	
5	

## 5. 若手研究者の派遣実績(計画)

### 【海外派遣実績(計画)】

年度	平成28年度	平成29年度	平成30年度	合計
派遣人数	2人	4人 (2人)	4人 (4人)	4人

※当該年度は実績、次年度以降は計画している人数を記載

### 【本年度の海外派遣実績】

派遣者①の氏名・職名：高木圭子・助教

(当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)				
研究内容：コールドチェーン不要なワクチンに関する研究、オーファン受容体チップに関する研究				
<ul style="list-style-type: none"> <li>・エボラウイルスタンパク質の多角体への固定化</li> <li>・オーファン受容体の多角体への固定化とそのライブラリー化</li> <li>・生体抽出物からのリガンド探索</li> <li>・新規リガンド探索</li> </ul>				
(具体的な成果)				
主に、多角体に複数のタンパク質を内層と外層に分けて内包化する方法の開発を行った。また、ヒトおよびマウスノロウイルス VLP の多角体への包埋についても一部、担当した。				
派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
	平成28年度	平成29年度	平成30年度	
英国、University of Cambridge、Institute of Pathology、Ian Goodfellow	20日	20日	60日	100日

英国、Cell Guidance Systems、Michael Jones	27日	28日	145日	200日
--	-----	-----	------	------

※本年度の派遣者毎に作成すること。

派遣者②の氏名・職名： 加藤容子・助教

<p>(当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)</p> <p>研究内容：連続した細胞分化制御系に関する研究</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・多層構造多角体への細胞増殖因子の固定化</li> <li>・多層構造多角体による組織・器官形成</li> <li>・ES細胞、iPS細胞などの幹細胞からの細胞の分化制御</li> <li>・ショウジョウバエ個体内における体性幹細胞</li> </ul> <p>(具体的な成果)</p> <p>NGF多角体内包化多角体によるPC12細胞の整列化、マウスノロウイルス、エボラウイルス、ジカウイルスのキャプシドタンパク質の多角体への内包化を担当した。</p>				
--	--	--	--	--

派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
	平成28年度	平成29年度	平成30年度	
英国、Cell Guidance Systems、Michael Jones	21日	89日	90日	200日
英国、University of Cambridge、Institute of Pathology、Ian Goodfellow	10日	50日	40日	100日

派遣者③の氏名・職名： 須鎗 理 特任助教

<p>(当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)</p> <p>研究内容：コールドチェーン不要なワクチンに関する研究、連続した細胞分化制御系に関する研究</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ノロウイルス疑似粒子の多角体への固定化</li> <li>・エボラウイルスタンパク質の多角体への固定化</li> <li>・ノロウイルス・エボラウイルス多角体のマウスへの経口投与</li> </ul> <p>(具体的な成果)</p> <p>マウスノロウイルス VP1 を内包化した多角体を大量に作製し、現在、得られた多角体を使ったマウスでの動物試験（感染防御試験）を進めている。</p>				
---	--	--	--	--

派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
		平成29年度	平成30年度	
英国、University of Cambridge、Institute of Pathology、Ian Goodfellow		200日	100日	300日
英国、University of Oxford、Sir William Dunn School of Pathology、Ivan Ahel		131日	260日	391日

派遣者④の氏名・職名： Edward Bartlett 特任研究員

(当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)  
 研究内容：連続した細胞分化制御系に関する研究、オーファン受容体チップに関する研究

- ・多層構造多角体の作製
- ・多層構造多角体への細胞増殖因子の固定化
- ・多層構造多角体による組織・器官形成
- ・オーファン受容体の多角体への固定化とそのライブラリー化
- ・生体抽出物からのリガンド探索
- ・新規リガンド探索

(具体的な成果)

高木助教と共に、多角体に複数のタンパク質を内層と外層に分けて内包化する方法の開発を行った。

派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間		合計
	平成29年度	平成30年度	
英国、Cell Guidance Systems、Michael Jones	45日	180日	225日
英国、University of Oxford、Sir William Dunn School of Pathology、Ivan Ahel	30日	180日	210日

## 6. 研究者の招へい実績 (計画)

### 【招へい実績 (計画)】

年度	平成28年度	平成29年度	平成30年度	合計
招へい人数	1人	3人 (1人)	6人 (2人)	7人

※当該年度は実績、次年度以降は計画している人数を記載

### 【本年度の招へい実績】

招へい者③の氏名・職名： Michael Jones・CEO

(当該研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)

研究内容：連続した細胞分化制御系に関する研究

- ・多層構造多角体の機能改変
- ・機能改変した多層構造多角体への細胞増殖因子の固定化

(具体的な成果)

本学において、細胞増殖因子を入れた多角体による細胞の増殖及び分化制御に関する研究打合せ、さらに PODS の事業化についても検討した。

招へい元（機関名、部局名、国名）及び 日本側受入研究者（機関名）	招へい期間			合計
	平成28年度	平成29年度	平成30年度	
Cell Guidance Systems、英国 森 肇（京都工芸繊維大学）	8日	20日	30日	58日

※本年度の派遣者毎に作成すること。

招へい者①の氏名・職名： Christian Pernstich・研究員

<p>（当該研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動）</p> <p>研究内容：連続した細胞分化制御系に関する研究</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・多層構造多角体の機能改変</li> <li>・機能改変した多層構造多角体への細胞増殖因子の固定化</li> </ul> <p>（具体的な成果）</p> <p>本学において、細胞増殖因子を入れた多角体による細胞の増殖及び分化制御に関する実験を行った。特に、BMP-2を内包化した多角体による骨再生に関する実験を行った。</p>				
招へい元（機関名、部局名、国名）及び 日本側受入研究者（機関名）	招へい期間			合計
		平成29年度	平成30年度	
Cell Guidance Systems、英国 森 肇（京都工芸繊維大学）		16日	30日	46日

招へい者⑥の氏名・職名： Raj Gandhi・研究員

<p>（当該研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動）</p> <p>研究内容：連続した細胞分化制御系に関する研究</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・多層構造多角体の機能改変</li> <li>・機能改変した多層構造多角体への細胞増殖因子の固定化</li> </ul> <p>（具体的な成果）</p> <p>本学において、多角体に内包化された細胞増殖因子がどのような仕組みで徐放されるのかについての実験を行った。</p>				
招へい元（機関名、部局名、国名）及び 日本側受入研究者（機関名）	招へい期間			合計
		平成29年度	平成30年度	
Cell Guidance Systems、英国 森 肇（京都工芸繊維大学）		16日	0日	16日



7. 翌年度の補助事業の遂行に関する計画

該当なし

※ 補助事業が完了せずに国の会計年度が終了した場合における実績報告書には、翌年度の補助事業の遂行に関する計画を附記すること。