

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02739

研究課題名（和文）遺伝子改変技術によるロタウイルス感染制御基盤の確立

研究課題名（英文）Establishment of a Platform for Controlling Rotavirus Infection Using Reverse Genetics Systems

研究代表者

小林 剛（Kobayashi, Takeshi）

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号：90324847

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：ロタウイルス（RV）は、乳幼児の胃腸炎・下痢症の原因ウイルスであり、レオウイルス科に属し、11分節の2本鎖RNAゲノムを有する。現在、経口生ワクチンが多くの国で導入され、RVの重症化の予防に大きく貢献している。しかし、問題点も指摘されている。そのため、次世代ワクチンや抗ウイルス薬の開発が急務である。

本研究では、新規RV遺伝子操作系を駆使し、RVの感染性ならびに病原性に関わるウイルス側（VP4、NSP4タンパク質）、宿主側因子の解析を行うことで、RVにおける感染機構ならびに下痢症発症機構を明らかにする。得られた知見を基に、RV感染制御プラットフォームの構築を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ロタウイルス（RV）ワクチンは世界中で導入されているにも関わらず、年間約20万人の命が失われている。そのため、RVに対する特異な創薬開発研究は必須の課題である。RV感染におけるシアル酸などの既知受容体の生理的意義の解明、ならびに侵入に関わる新規結合受容体の探索・同定研究により、RV感染機構の解明や制御法の開発研究が進むことが期待される。

NSP4タンパク質はエンテロトキシンとして重点的に研究されてきた。しかし、感染サイクルにおけるRV側因子の下痢症発症に関わるメカニズムには不明な点が多い。本研究により有用な知見が蓄積されることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Rotavirus (RV) causes gastroenteritis and diarrhea in infants. Rotaviruses belong to the family Reoviridae and have an 11-segmented double-stranded RNA genome. Currently, two types of oral live vaccines have been introduced in many countries and have contributed significantly to the prevention of severe cases of RV. However, some problems have been pointed out. Therefore, there is an urgent need to develop next-generation vaccines and antiviral drugs.

In this study, we analyze viral (VP4 and NSP4 proteins) and host factors involved in RV infectivity and pathogenicity using the RV reverse genetics system to elucidate the replication mechanism and the pathogenesis mechanism of diarrhea in RV. Based on the obtained knowledge, we aim to establish a platform for RV infection control.

研究分野：ウイルス学

キーワード：ロタウイルス ワクチン ウイルスペクター

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ロタウイルス (RV) は乳幼児に深刻な嘔吐・下痢症を引き起こす原因ウイルスであり、発展途上国を中心に年間約 20 万人の死亡例が報告されている。先進国において、死亡例は少ないが、医療経済の観点から重視されている。RV は 11 本の分節型 2 本鎖 RNA をゲノムに有するが、そのゲノム構造の複雑さからウイルス遺伝子改変技術の開発が遅れており、ウイルス複製機構や病原性発症機序の解明は進んでいなかった。最近、我々は人工的に組換え RV を作出できる完全な遺伝子操作系を開発に成功した。この技術の開発により、RV 遺伝子に任意の改変を加えることで、RV の増殖機構や病原性発現機序の解明、次世代ワクチンの開発研究が可能となった。

RV はウイルス粒子のスパイクを形成する VP4 が細胞膜表面の受容体に結合し、その後、外殻タンパク質 VP7 がインテグリンなどの受容体に結合することで細胞内に侵入する。動物 RV 感染ではシアル酸が、ヒト RV 感染では組織血液型抗原 (HBGA) がそれぞれ VP4 と結合し、感染受容体として重要な役割を担っていることが明らかにされている。しかし、RV 株によってはこれらの受容体分子では説明できない挙動を示すものもあり、RV の宿主細胞への感染侵入機構の全容解明には至っていない。

NSP4 タンパク質はウイルス性腸管毒素 (エンテロトキシン) として知られ、NSP4 タンパク質をマウスに単独投与することで下痢を引き起こすことから、RV 特有の激しい下痢を引き起こす主要な病原性因子であると考えられている。NSP4 に関する病原性解析は組換え NSP4 タンパク質を用いた成果であるが、実際の感染時における NSP4 と下痢症との関連については決定的な結果が得られていない。また、下痢症の発症以外にも、NSP4 はウイルス粒子形成に重要な機能を持っており、RV 複製サイクルに必須であることが示唆されているが、詳細な機構は明らかにされていない。

2. 研究の目的

RV の感染機構に関する研究は、実用的な RV の遺伝子操作系が開発されていなかったため、これまで野生型ウイルスやウイルス側リガンドである VP4 組換えタンパク質を用いた研究が中心であった。そのため、RV 感染におけるシアル酸や HBGA などの既知受容体の生理的意義の解明は進んでおらず、吸着・侵入に関わる新規結合受容体の探索・同定研究も進展が見られなかった。

NSP4 タンパク質はエンテロトキシンとして重点的に研究が行われてきた。これまでの研究では、組換えタンパク質やアミノ酸配列の異なる臨床分離株を用いて様々な機能的ドメインが同定されてきた。しかし、感染サイクルにおける RV 側因子がどのように下痢症を発症させるかというメカニズムには未解明な部分が多く、NSP4 変異ウイルスにおける生物学的機能について更なる解析が必要とされている。

本研究では、独自に開発した RV 遺伝子改変技術を駆使することで、VP4 および NSP4 遺伝子に変異を加えた組換えウイルスを作製し、RV 感染における侵入機構および下痢症発症機構の解明を目指す。具体的には、VP4 変異ウイルスを用いてシアル酸の受容体としての役割を明らかにし、新規結合受容体の探索と同定を行う。また、NSP4 変異ウイルスを用いて、NSP4 が下痢症を引き起こすメカニズムを解明し、RV 複製サイクルにおける NSP4 の役割を調べる。得られた知見により、RV 感染による乳幼児の嘔吐・下痢症の予防や治療に新たな道が開かれることが期待される。

3. 研究の方法

(1) VP4 タンパク質を介する細胞侵入機構の解明

ウイルス粒子表面に存在する VP4 タンパク質の特定のアミノ酸群とその周辺のアミノ酸がシアル酸 (サル RV 受容体) や HBGA (ヒト RV 受容体) との結合に重要であることが結晶構造解析により明らかとされている。RV 人工合成技術を用いて、サル RV 由来の VP4 内シアル酸結合領域に変異を加えたウイルスを作製し、*in vitro*、*in vivo* で増殖能および糖鎖分子結合能について詳細な解析を行い、既知受容体の RV 感染機構における結合意義を解明する。

(2) RV 感染に関わる宿主因子の同定

CRISPR-Cas9 システムによるスクリーニングは、RV 侵入に関わる宿主因子の同定には極めて有用な手法である。細胞膜受容体を標的とした CRISPR-Cas9 sgRNA ライブラリーをレンチウイルス粒子にパッケージングしたものを HT29 細胞に感染させる。薬剤処理によりセクションした Cas9/sgRNA 発現細胞に野生型もしくは VP4 遺伝子変異サル RV を感染させる。感染受容体がノックアウトされた細胞は感染抵抗性を示すため、生存細胞中の sgRNA を次世代シーケンサーにより解析し、目的遺伝子を同定する。

(3) NSP4 タンパク質による下痢症発症機構の解明ならびに複製能への影響

サル RV およびヒト RV の遺伝子操作系を用いて、NSP4 の下痢症発症機構ならびに複製能への

影響を理解するため、様々なアミノ酸変異ウイルスを作製し、培養細胞での増殖性について解析を行う。作製した組換えウイルスを乳飲みマウスに経口感染することで下痢症を発症する感染モデルを用いて、下痢症発症の経時変化と腸管内のウイルス量を測定する。NSP4 変異ウイルスはマウスでの増殖性が極めて低いことが予想されることから、ヒト腸管ウイルスの自然感染を反映できると考えられるヒト iPS 細胞由来腸管上皮細胞を用いた培養系で解析を行う。

4. 研究成果

(1) VP4 シアル酸結合部位変異ウイルスの解析

シアル酸は、RV の外殻タンパク質 VP4 の一部である VP8*サブユニットに結合する。本研究では、RV の遺伝子操作系を用いて、VP4 のシアル酸結合部位に変異を持つサル RV 株 SA11 ベースの組換え RV を使用し、RV 感染におけるシアル酸の重要性を調査した。シアル酸に結合できない RV VP4 変異体は、MA104 細胞でのウイルス力価が減少した (図 1)。野生型ウイルスの感染性は減少したが、VP4 変異体はシアル酸欠損細胞で影響を受けなかった。予想外のことに、*in vivo* 実験では、VP4 変異体がマウスの体重増加を抑制し、野生型ウイルスよりも下痢症状を悪化させることが示された (図 2)。また、腸内容物は VP4 変異体の感染性を高めることを明らかにした。このため、他の未知の受容体および/または腸内容物との相互作用により、VP4 変異体は野生型ウイルスよりもマウス腸内で増殖しやすく、下痢および体重減少を引き起こす可能性が考えられた。これらの結果は、RV のシアル酸結合が *in vitro* でのウイルス感染および *in vivo* でのウイルス病原性に大きな影響を与えることを示唆している。

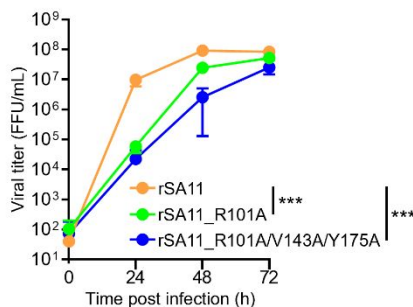


図1. シアル酸結合部位変異ウイルス (rSA11_R101A, _R101A/V143A/Y175A) の増殖性解析

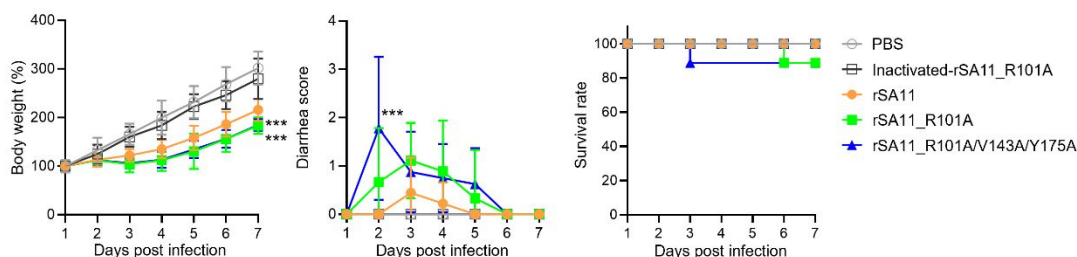


図2. シアル酸結合部位変異ウイルス (rSA11_R101A, _R101A/V143A/Y175A) の病原性解析

(2) RV 感染に関わる宿主因子の同定

RV 感染に関与する宿主因子を同定するため、ヒト遺伝子 cDNA ライブラリーを用いた CRISPR-Cas9 法によるゲノムワイドスクリーニングを行った。スクリーニング結果に基づき、候補遺伝子をランク付けし、ランク上位の候補遺伝子の中から RV の感染性が低下した数種類のノックアウト細胞を作製した。これらのノックアウト細胞では、同じレオウイルス科に属する他のウイルス種 哺乳類レオウイルス、コウモリ由来レオウイルス等) の感染性は低下しなかったことから、これらの遺伝子が RV 感染に関わる特異的な因子であることが示唆された。特に、Tumor Associated Calcium Signal Transducer 2 (TACSTD2) ノックアウト細胞で最も RV の増殖効率が低下したことから、この因子に焦点を絞り解析を行った。TACSTD2 は膜 1 回貫通型糖タンパク質であり、皮膚や肺などの上皮に発現している。また、多くの腫瘍でも高発現が認められており、癌の進行との関与が示唆されている。RV が感染すると、TACSTD2 の開裂がウエスタンブロッティングの結果から明らかになり、この開裂が RV 感染に重要な役割を担っていることが示唆された。TACSTD2 は Matriptase により細胞膜上で開裂することが知られている。RV 感染細胞において TACSTD2 の経時的な開裂が観察されたが、Matriptase のノックダウン細胞では RV 感染時の開裂が抑制され、RV の感染性が低下した。これらの結果から、細胞膜上に存在する TACSTD2 が RV の細胞侵入に寄与していることが示唆された。

(3) NSP4 の N-グリコシル化部位変異ウイルスの解析

NSP4 は多機能タンパク質であり、ウイルス複製のさまざまなプロセスに関与しており、2 つの保存された N-グリコシル化部位を持っているが、N-グリコシル化部位の役割は明らかではない。RV の遺伝子操作系によって作製された組換えウイルスを使用して、ウイルス複製および病原性における NSP4 の N-グリコシル化の役割を明らかにした。1 つのグリコシル化部位を失った組換

えウイルスの成長率は野生型ウイルスと同じくらい高かったが、両方のグリコシル化部位を失った組換えウイルス（N-グリコシル化欠損ウイルス）はヒト iPS 細胞由来腸管上皮細胞、培養細胞株での複製が减弱した。HT29 細胞での N-グリコシル化欠損ウイルスの複製は、野生型ウイルスに比べて顕著に低く、NSP4 の N-グリコシル化が RV 複製に重要な役割を果たすことを示唆している。N-グリコシル化欠損ウイルスは NSP4 の局在、細胞質内カルシウムイオンの上昇の遅延、および MA104 細胞での Viroplasm 形成の減少を示した。しかし、これらの変化は HT29 細胞では認められなかった。さらに、HT29 細胞では N-グリコシル化欠損ウイルスの粒子産生能が著しく抑制されたが MA104 細胞では抑制されなかった。これらの結果より、RV 複製メカニズムは各種細胞株によって異なることが示唆された。マウスを用いた実験でも、N-グリコシル化欠損ウイルスは野生型ウイルスよりも病原性が低いことが示された（図 3）。これらの結果は、NSP4 の N-グリコシル化がウイルス複製および病原性に重要な役割を果たすことを示唆している。

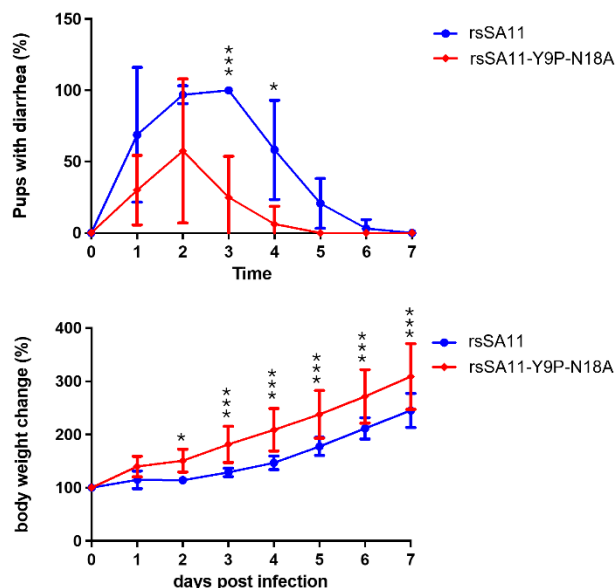


図3. N-グリコシル化部位変異ウイルスの病原性解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 20件／うち国際共著 8件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamasaki Moeko, Kanai Yuta, Wakamura Yoshiki, Kotaki Tomohiro, Minami Shohei, Nouda Ryotaro, Nurdin Jeffery A., Kobayashi Takeshi	4. 巻 97
2. 論文標題 Characterization of Sialic Acid-Independent Simian Rotavirus Mutants in Viral Infection and Pathogenesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e01397-22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/jvi.01397-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nurdin Jeffery A., Kotaki Tomohiro, Kawagishi Takahiro, Sato Shintaro, Yamasaki Moeko, Nouda Ryotaro, Minami Shohei, Kanai Yuta, Kobayashi Takeshi	4. 巻 97
2. 論文標題 N-Glycosylation of Rotavirus NSP4 Protein Affects Viral Replication and Pathogenesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e01861-22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/jvi.01861-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hamajima Rina, Lusiany Tina, Minami Shohei, Nouda Ryotaro, Nurdin Jeffery A., Yamasaki Moeko, Kobayashi Nobumichi, Kanai Yuta, Kobayashi Takeshi	4. 巻 103
2. 論文標題 A reverse genetics system for human rotavirus G2P[4]	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of General Virology	6. 最初と最後の頁 1816
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1099/jgv.0.001816	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Katsuhiko, Yamada Kentaro, Etoh Tsuyoshi, Kitagawa Masahiro, Shirasaka Yoshinori, Noguchi Kazuko, Kobayashi Takeshi, Nishizono Akira, Inomata Masafumi	4. 巻 308
2. 論文標題 Development of an oncolytic mammalian orthoreovirus expressing the near-infrared fluorescent protein iRFP720	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Virological Methods	6. 最初と最後の頁 114574
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jviromet.2022.114574	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nouda Ryotaro, Kawagishi Takahiro, Kanai Yuta, Shimojima Masayuki, Saijo Masayuki, Matsuura Yoshiharu, Kobayashi Takeshi	4. 巻 18
2. 論文標題 The nonstructural p17 protein of a fusogenic bat-borne reovirus regulates viral replication in virus species- and host-specific manners	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1010553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1010553	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Phan Tung, Kobayashi Masaaki, Nagasawa Koo, Hatazawa Riona, Thi Kim Pham Ngan, Miyashita Hideaki, Komoto Satoshi, Tajima Takeshi, Baba Tuneyoshi, Okitsu Shoko, Khamrin Pattara, Maneekarn Niwat, Kimura Hirokazu, Kobayashi Takeshi, Hayakawa Satoshi, Ushijima Hiroshi	4. 巻 33
2. 論文標題 Whole genome sequencing and evolutionary analysis of G8P [8] rotaviruses emerging in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 VirusDisease	6. 最初と最後の頁 215-218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13337-022-00765-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Phan Tung, Hatazawa Riona, Komoto Satoshi, Nishimura Shuichi, Khamrin Pattara, Pham Ngan Thi Kim, Okitsu Shoko, Kobayashi Takashi, Maneekarn Niwat, Hayakawa Satoshi, Ushijima Hiroshi	4. 巻 167
2. 論文標題 Whole genome sequence of an uncommon G9P[4] species A rotavirus containing DS-1-like (genotype 2) genes in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Archives of Virology	6. 最初と最後の頁 1603-1606
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00705-022-05462-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Pham Ngan Thi Kim, Nishimura Shuichi, Shimizu-Onda Yuko, Trinh Quang Duy, Komine-Aizawa Shihoko, Khamrin Pattara, Okitsu Shoko, Sato Shintaro, Kobayashi Takeshi, Maneekarn Niwat, Hayakawa Satoshi, Ushijima Hiroshi	4. 巻 28
2. 論文標題 Emerging norovirus GII.4 Sydney[P31] causing acute gastroenteritis outbreak in children in Japan, during COVID-19, 2021	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 1347-1351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2022.05.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hoque S. A., Nishimura K, Thongprachum A. , Khamrin P. ,Ngan Thi Kim Pham, Islam M. T. , Khandoker n. , Okitsu S, Onda-Shimizu Y , Dey S. K. ,Maneekarn N. , Kobayashi T, Hayakawa S, Ushijima H.	4. 巻 15
2. 論文標題 An increasing trend of human sapovirus infection in Japan, 2009 to 2019: An emerging public health concern	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Public Health	6. 最初と最後の頁 315 ~ 320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiph.2022.01.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsuji S, Minami S, Hashimoto R, Konishi Y, Suzuki T, Kondo T, Sasai M, Torii S, Ono C, Shichinohe S, Sato S, Wakita M, Okumura S, Nakano S, Matsudaira T, Matsumoto T, Kawamoto S, Yamamoto M, Watanabe T, Matsuura Y, Takayama K, Kobayashi T, Okamoto T, Hara E.	4. 巻 2
2. 論文標題 SARS-CoV-2 infection triggers paracrine senescence and leads to a sustained senescence- associated inflammatory response	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Aging	6. 最初と最後の頁 115 ~ 124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s43587-022-00170-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yano T, Kajisa T, Ono M, Miyasaka Y, Hasegawa Y, Saito A, Otsuka K, Sakane A, Sasaki T, Yasutomo K, Hamajima R, Kanai Y, Kobayashi T, Matsuura Y, Itonaga M, Yasui T.	4. 巻 12
2. 論文標題 Ultrasensitive detection of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein using large gold nanoparticle- enhanced surface plasmon resonance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-05036-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi T, Patton J.T., Desselberger U.	4. 巻 306
2. 論文標題 Species A rotavirus reverse genetics: Achievements and prospects	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virus Research	6. 最初と最後の頁 198583 ~ 198583
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virusres.2021.198583	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nouda R, Minami S, Kanai Y, Kawagishi T, Nurdin JA, Yamasaki M, Kuwata R, Shimoda H, Maeda K, Kobayash T.	4. 巻 118
2. 論文標題 Development of an entirely plasmid-based reverse genetics system for 12-segmented double-stranded RNA viruses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2105334118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2105334118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 J. R. Diller, M. H. Carter, Kanai Y, S. V. Sanchez, Kobayashi T, K. M. Ogdena.	4. 巻 -
2. 論文標題 Monoreassortant Rotaviruses of Multiple G Types Are Differentially Neutralized by Sera From Infants Vaccinated With ROTARIX and RotaTeg	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/infdis/jiab479	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ushijima H, Hikita T, Kobayashi M, Ngan TKP, Onda-Shimizu Y, Kawagishi T, Okitsu S, Kanai Y, Kobayashi T, Tung P, Ariful SH, Takanashi S, Komoto S, Kattareeya K, Taniguchi K, Niwat M, Hayakawa S, Pattara K.	4. 巻 67
2. 論文標題 The Detection of Rotavirus Antigenemia by Immunochromatographic Kits: a Case Series	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Laboratory	6. 最初と最後の頁 2275 ~ 2282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7754/Clin.Lab.2021.210125	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kanai Y, Kobayashi T.	4. 巻 8
2. 論文標題 FAST Proteins: Development and Use of Reverse Genetics Systems for Reoviridae Viruses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annual Review of Virology	6. 最初と最後の頁 515 ~ 536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1146/annurev-virology-091919-070225	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nutthawadee J, Kattareeya K, Arpaporn Y, Kanai Y, Okitsu S, Kobayashi T, Nuthapong U, Ushijima H, Niwat M, Pattara K.	4. 巻 95
2. 論文標題 Epidemiology and genetic diversity of group A rotavirus in pediatric patients with acute gastroenteritis in Thailand, 2018-2019	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Infection, Genetics and Evolution	6. 最初と最後の頁 104898 ~ 104898
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.meegid.2021.104898	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Izum T, Morioka Y, Urayama S, Motooka D, Tamura T, Kawagishi T, Kanai Y, Kobayashi T, Ono C, Morinaga A, Tomiyama T, Iseda N, Kosai Y, Inokuchi S, Nakamura S, Tanaka T, Moriishi K, Kariwa H, Yoshizumi T, Mori M, Matsuura Y, Fukuhara T.	4. 巻 13
2. 論文標題 DsRNA Sequencing for RNA Virus Surveillance Using Human Clinical Samples	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 1310 ~ 1310
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v13071310	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kanai Y, Kobayashi T.	4. 巻 295
2. 論文標題 Rotavirus reverse genetics systems: Development and application	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virus Research	6. 最初と最後の頁 198296 ~ 198296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virusres.2021.198296	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taniguchi M, Minami S, Ono C, Hamajima R, Morimura A, Hamaguchi S, Akeda Y, Kanai Y, Kobayashi T, Kamitani W, Terada Y, Suzuki K, Hatori N, Yamagishi Y, Washizu N, Takei H, Sakamoto O, Naono N, Tatematsu K, Washio T, Matsuura Y, Tomono K.	4. 巻 12
2. 論文標題 Combining machine learning and nanopore construction creates an artificial intelligence nanopore for coronavirus detection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3726 ~ 3726
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-24001-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Pattara Khamrin, Kattareeya Kumthip, Shintaro Sato, Shoko Okitsu, Takeshi Kobayashi, Satoshi Hayakawa, Hiroshi Ushijima, Niwat Maneekarn
2. 発表標題 Whole Genome Characterization of HAstV5-HAstV8-HAstV1 Recombinant Strains of ORF1a-ORF1b-ORF2 Regions
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林剛
2. 発表標題 Recent advances in rotavirus reverse genetics research
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山崎萌子、金井祐太、浜島りな、小瀧将裕、南昌平、納田遼太郎、Jeffery A. Nurdin、小林剛
2. 発表標題 ロタウイルス感染に關与する宿主因子Tumor Associated Calcium Signal Transducer 2の機能解析
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小瀧 将裕、金井 祐太、南 昌平、納田 遼太郎、Jeffery A. Nurdin、山崎 萌子、小林 剛
2. 発表標題 ロタウイルスNSP2タンパク質の機能解析
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金井 祐太、小瀧 将裕、南 昌平、納田 遼太郎、山崎 萌子、小林 剛
2. 発表標題 マウス順化サルロタウイルスの作出
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 浜島 りな、Tina Lusiany、南 昌平、納田 遼太郎、Jeffery A. Nurdin、山崎 萌子、小林 宣道、金井 祐太、小林 剛
2. 発表標題 ヒトロタウイルスHN126株におけるリバースジェネティクス系の確立
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuta Kanai, Eriko Hirai, Tomohiro Kotaki and Takeshi Kobayashi
2. 発表標題 Single amino acid substitution in VP7 promotes the pathogenicity of simian rotavirus in mice
3. 学会等名 14th International dsRNA Virus Symposium (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomohiro Kotaki, Jeffery A. Nurdin, Takahiro Kawagishi, Shintaro Sato, Moeko Yamasaki, Ryotaro Nouda, Shohei Minami, Yuta Kanai, Takeshi Kobayashi
2. 発表標題 N-glycosylation of rotavirus NSP4 protein affects viral replication and pathogenesis
3. 学会等名 14th International dsRNA Virus Symposium (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomohiro Kotaki, Nurdin Jeffery A., Kawagishi Takahiro, Sato Shintaro, Yamasaki Moeko, Nouda Ryotaro, Minami Shohei, Kanai Yuta, Kobayashi Takeshi
2. 発表標題 Analysis of the role of rotavirus NSP4 protein in viral replication and pathogenicity
3. 学会等名 第20回 あわじ感染と免疫国際フォーラム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Moeko Yamasaki, Yuta Kanai, Rina Hamajima, Tomohiro Kotaki, Shohei Minami, Ryotaro Nouda, Takeshi Kobayashi.
2. 発表標題 Identification of TACSTD2 as a host factor involved in rotavirus infection
3. 学会等名 第20回 あわじ感染と免疫国際フォーラム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山崎 萌子、浜島 りな、金井 祐太、小瀧 将裕、南 昌平、納田 遼太郎、Nurdin Jeffery、小林 剛
2. 発表標題 A genome-wide CRISPR-Cas9 screening approach to identify host factors for rotavirus infection CRISPR-Cas9法によるロタウイルス感染に関する宿主因子のゲノムワイドスクリーニング
3. 学会等名 第68回ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金井 祐太、Jeffery Nurdin、南 昌平、納田 遼太郎、山崎 萌子、小林 剛
2. 発表標題 Altered infectivity of rotaviruses in mice treated with antibiotics 抗生物質を投与したマウスにおけるロタウイルスの増殖能
3. 学会等名 第68回ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryotaro Nouda, Shohei Minami, Yuta Kanai, Takahiro Kawagishi, Jeffery A. Nurdin, Moeko Yamasaki, Ryusei Kuwata, Hiroshi Shimoda, Ken Maeda, Takeshi Kobayashi.
2. 発表標題 Development of an entirely plasmid-based reverse genetics system for 12-segmented double-stranded RNA virus.
3. 学会等名 第68回ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jeffery A. Nurdin, Yuta Kanai, Tomohiro Kotaki, Takahiro Kawagishi, Shohei Minami, Ryotaro Nouda, Moeko Yamasaki, Takeshi Kobayashi.
2. 発表標題 Determining the role of rotavirus NSP4 N-glycosylation sites using reverse genetics approach
3. 学会等名 第68回ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shohei Minami, Naomi Matsumoto, Ryotaro Nouda, Jeffery Nurdin, Moeko Yamasaki, Tomohiro Kotaki, Yuta Kanai, Shintaro Sato, Takeshi Kobayashi.
2. 発表標題 Analysis of intestinal epithelial cells differentiated from human induced pluripotent stem cells as a more suitable tool for the study of SARS-CoV-2
3. 学会等名 第68回ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 金井祐太、納田遼太郎、小林 剛	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 5
3. 書名 医学のあゆみ280巻9号 ウイルスを創る, ウイルスを視る	

1. 著者名 金井祐太、納田遼太郎、山崎萌子、小林 剛	4. 発行年 2021年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 10
3. 書名 創薬研究者がこれだけは知っておきたい最新のウイルス学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	金井 祐太 (Kanai Yuta)		
研究協力者	小瀧 将裕 (Kotaki Tomohiro)		
研究協力者	山崎 萌子 (Yamasaki Moeko)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------