

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19379

研究課題名(和文)レオウィルスベクターを用いた新規粘膜ワクチンの開発に関する研究

研究課題名(英文)Development of novel mucosal vaccines using reovirus vectors

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) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類レオウィルス(MRV)を用いて、世界経済に多大な影響を与えている新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)および急性胃腸炎を引き起こすノロウィルス(NV)に対する粘膜ワクチンの開発を目的としている。MRV S1遺伝子内に2A配列を付加したSARS-CoV-2 Sタンパク質のレセプター結合領域を挿入することで、組換えMRVを作製した。NVタンパク質を発現する組換えMRVについては、MRV S遺伝子内にNV VP1遺伝子を挿入した組換えMRVを作製した。作製した組換えMRVについてはin vitroおよびin vivoでの解析を行い、MRVベクターの開発を進める上で有用な知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

哺乳類レオウィルス(MRV)は病原性が極めて低く、経鼻、経口投与により粘膜免疫を誘導できることから優れた粘膜ワクチンベクター候補と考えられる。本研究ではヒトノロウィルスおよび新型コロナウイルスのワクチン開発を目的として、各種ウィルス抗原を発現する組換えMRVの作製を行った。in vivoにおける解析結果から、克服すべき課題も見つかかり、引き続き、開発研究を進める必要があるものの、これらの成果は様々な呼吸器・消化器感染症に対するワクチン開発にも応用可能と考えられ、社会的意義も高い。

研究成果の概要(英文)：The aim of this project is to develop mucosal vaccines against the novel coronavirus (SARS-CoV-2), which has had a significant impact on the global economy, and norovirus (NV), which causes acute gastroenteritis, using mammalian reoviruses (MRVs). We generated recombinant MRV by inserting the receptor-binding domain of the SARS-CoV-2 spike protein, fused with a 2A sequence, into the MRV S1 gene segment. For the generation of recombinant MRV expressing the NV protein, we inserted the NV VP1 gene within the MRV S gene segment. The recombinant viruses were analyzed in vitro and in vivo, providing valuable insights for the further development of MRV vectors.

研究分野：ウイルス学

キーワード：レオウィルス ワクチン

1. 研究開始当初の背景

ノロウイルス (NV) は、冬季の感染性胃腸炎の主な原因ウイルスである。国内における NV 感染者数は、年間約 100 万人に上り、全世界では年間約 7 億人に達すると推定されている。NV では、感染モデル動物が確立されていないこと、効率の良い培養細胞を用いたウイルス増殖系が開発されていないことから、ワクチンは実用化されていない。また、世界経済に多大な影響を与えている新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は、重篤な呼吸器疾患を引き起こすウイルスであり、現在も収束の目処は立っておらず、感染制御法の開発は喫緊の課題である。NV や SARS-CoV-2 の感染防御においては呼吸器や腸管粘膜免疫が重要な役割を担っていることから、粘膜ワクチンの開発はこれらの感染症に対する予防に効果的と考えられる。

哺乳類レオウイルス (MRV) は、ヒトに対して安全性が極めて高いこと、高力価のウイルス調整が容易であること、粘膜免疫誘導能を有すること等、ワクチンベクターとして優れた特性を備えている。NV および SARS-CoV-2 に対する防御免疫の主体は呼吸器や腸管局所で誘導される粘膜免疫であることを考慮すると、MRV を経鼻・経口ウイルスベクターとして応用する試みは、呼吸器や腸管 M 細胞を標的としたワクチン抗原デリバリーに極めて有用な戦略と考えられる。しかし、MRV においては、ウイルス遺伝子改変技術は確立されているものの、これまで MRV を用いたワクチンベクターの開発研究は進んでいない。

2. 研究の目的

MRV が含まれるレオウイルス科においては、安定的にサイズの大きな外来遺伝子を発現できる組換えウイルスの作製は困難であったことから、ワクチンベクター開発を進める上で、大きな障壁となっていた。本研究では、MRV 遺伝子改変技術を駆使することで、安定的に外来遺伝子を発現できる組換えウイルスを作出できる技術の開発・改良を行うと同時に、NV および SARS-CoV-2 を対象とした消化器および呼吸器感染症に対する粘膜ワクチンの開発基盤の確立を目的とする。

3. 研究の方法

1) NV カプシドタンパク質 VP1 を発現する MRV の開発

外来遺伝子を安定的に発現できる MRV の改良研究を行った。MRV ゲノムと同様のコドン使用頻度を持つように変異を導入したレポーター遺伝子 ZsGreen を発現する MRV を作製し、ゲノムに挿入されたレポーター遺伝子の安定性について検討した。方法として、MRV S1 遺伝子内の sigma1 ORF 下流に 2A 配列を付加した ZsGreen 遺伝子を挿入したポリシストロニック発現が可能な S1 遺伝子発現プラスミドを作製し、このコンストラクトを用いて組換え MRV の作製を行った (図 1A)。NV 抗原発現 MRV の作製については、外来遺伝子を安定的に発現できる人工合成系を用いて、MRV ゲノムと同様のコドン使用頻度になるように NV VP1 遺伝子をデザインし、MRV 分節遺伝子内に VP1 遺伝子を挿入した組換えウイルスの作出を試みた。S1 遺伝子内に 2A 配列を付加した S2 ORF 領域を挿入することで両方のウイルスタンパク質 (sigma1 および sigma2) を発現する組換え S1 遺伝子および S2 遺伝子両末端の間に NV VP1 遺伝子を挿入した遺伝子を有する組換えウイルス (MRV-VP1-S2) の作出を試みた。さらに、S1 遺伝子にコードされている sigma1 と直接融合させた NV VP1 P ドメインを発現する組換えウイルス (MRV-VP1 P-S1) を作製し、解析を進めた。

2) SARS-CoV-2 スパイク (S) タンパク質を発現する組換え MRV の開発

SARS-CoV-2 の S 遺伝子を MRV S1 遺伝子に挿入することで、S タンパク質を発現する組換え MRV の作製を試みた。方法として、MRV S1 遺伝子内の sigma1 ORF 下流に 2A 配列を付加した S 遺伝子全長あるいはレセプター結合領域を挿入したポリシストロニック発現が可能な S1 遺伝子発現プラスミドを作製し、このコンストラクトを用いて目的とする組換え MRV の作出を試みた。SARS-CoV-2 S 遺伝子は MRV ゲノムと同様のコドン使用頻度になるように変異を導入した。作製した組換えウイルスについては培養細胞および動物モデルを用いて解析を行った。

4. 研究成果

1) NV カプシドタンパク質 VP1 を発現する MRV の開発

MRV ゲノムと同様のコドン使用頻度である ZsGreen 遺伝子を発現する組換えウイルス (MRV-MrvZsG-S1) におけるレポーター遺伝子安定性を評価するため、培養細胞において 4 回感染継代後のレポーター遺伝子発現能を検討した。その結果、標準型の ZsGreen 遺伝子を発現する組換えウイルスでは継代 1 回目からレポーター遺伝子を挿入した S1 遺伝子に欠損が認められ、ZsGreen の発現も顕著に低下していた。一方、MRV-MrvZsG-S1 については、4 回継代後もレポーター遺伝子を挿入した S1 遺伝子内に欠損は認められなかった (図 1B)。また、4 回継代後も MRV-MrvZsG-S1 の ZsGreen の発現は安定していた (図 1C)。以上の結果より、外来遺伝子のコドン使用頻度を MRV ゲノムと同程度まで変異させる方法は MRV ベクターの開発を進めるうえで有用な方法と考えられる。

MRV ゲノムと同様のコドン使用頻度になるようにデザインした NV VP1 遺伝子全長を S2 遺伝子の末端領域の間に挿入したゲノムを有する MRV-VP1-S2 の作出を試みた。その結果、組換えウイルスのレスキューに成功した。しかし、培養細胞での増殖性が極めて低いことが判明した。高増殖性を維持するため、ウイルスゲノム内に挿入可能な外来遺伝子のサイズは制限されることが予想されたため、VP1 遺伝子の P ドメインのみを発現する MRV の作出を行った。sigma1 と直接融合させた VP1 P ドメインを発現する MRV-VP1 P-S1 の作製を試みた結果、作出に成功した。作製した組換えウイルスのゲノムパターンを解析すると VP1 P ドメインを挿入した S1 遺伝子を確認することができた (図 2)。今後、動物モデルを用いて免疫学的解析を進めることでワクチンベクターとしての有用性を評価する。

2) SARS-CoV-2 S タンパク質を発現する組換え MRV の開発

SARS-CoV-2 の S タンパク質を発現する組換え MRV の作製を試みた。S 遺伝子全長を発現する MRV の作出には成功しなかったが、S タンパク質のレセプター結合領域 (RBD) を発現する MRV の作製に成功した (図 3A)。S1 遺伝子内の RBD の挿入はウイルスゲノムのゲル電気泳動により確認することができた (図 3B)。また、組換えウイルス感染細胞において RBD の発現を確認することができた (図 3C)。RBD 発現組換え MRV をハムスターに経鼻接種し、その後、SARS-CoV-2 を攻撃接種し、ワクチンベクターとしての有用性を評価した。その結果、コントロール

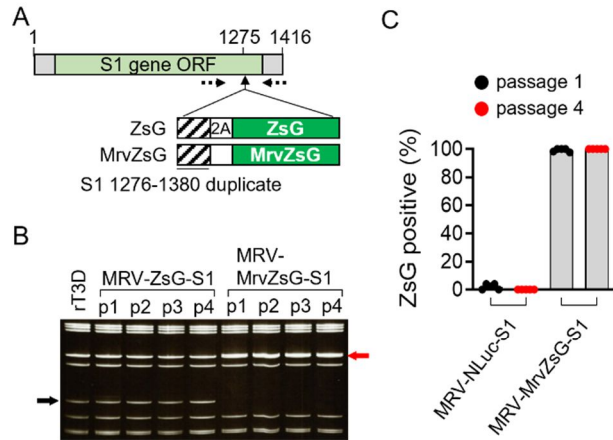


図1. 安定的にレポーター遺伝子を発現できるMRVの作製
A. S1遺伝子内へのウイルス様のコドン使用頻度に合わせたZsGreen遺伝子 (MrvZsG) の挿入。
B. MrvZsG発現MRVのゲノム電気泳動パターン。黒矢印は野生型S1遺伝子、赤矢印はZsGを挿入したS1遺伝子。
C. MrvZsG発現MRVのレポーター遺伝子発現能の評価。MrvZsG発現MRVでは継代4回目でも安定したレポーター遺伝子の発現が確認された。

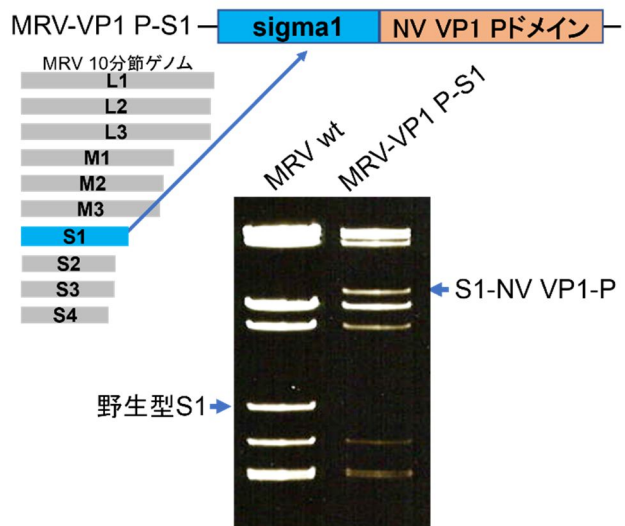


図2. ノロウイルス (NV) Pドメイン発現MRVの作製
S1遺伝子内にNV Pドメインを挿入した組換えMRVを作出し、ウイルスゲノム電気泳動により、S1遺伝子内への目的遺伝子 (S1-NV VP1-P) の挿入を確認した。

群と比較して、有意な防御効果を認めることができず、接種方法や MRV ベクターの改良が必要と考えられた。現在、SARS-CoV-2 S タンパク質の MRV ゲノム内への挿入部位や挿入方法に工夫を加えた MRV ベクターの開発を行っている。

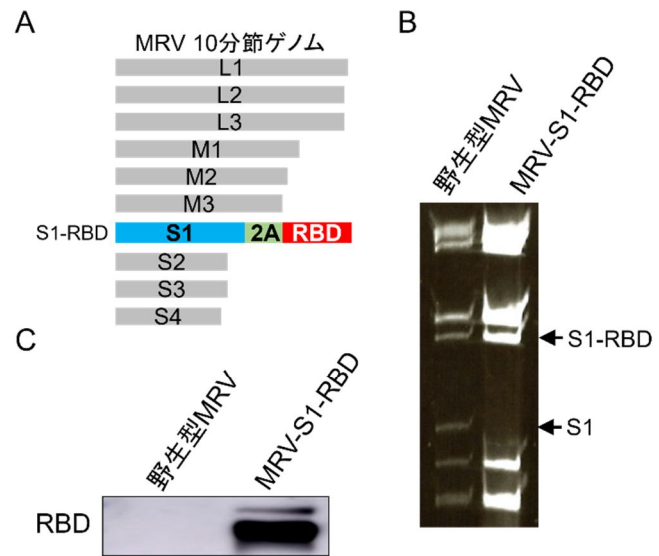


図3. SARS-CoV-2 S RBD発現MRVの作製

- A. S1遺伝子内に2A配列を付加したSARS-CoV-2 S RBDを挿入した。
- B. ウイルスゲノム電位泳動により、S1遺伝子内への目的遺伝子(S1-RBD)の挿入を確認した。
- C. MRV-S1-RBD感染細胞内においてRBDの発現を確認した。

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 5件 / うちオープンアクセス 6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 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 G11.4 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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

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)	大阪大学・微生物病研究所・准教授 (14401)	
研究協力者	南 昌平 (Minami Shohei)	大阪大学・微生物病研究所・特任研究員 (14401)	

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
---------	---------