

2023 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究成果の概要

研究担当者	小笠原 徳子
研究機関名	北海道公立大学法人札幌医科大学
所属部署名	医学部微生物学講座
役職名	准教授
研究課題名	ヒト NALT 新奇細胞群解析に基づいたニューモウイルス生活環の解明
研究実施期間	2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日
研究項目 1 ヒト NALT 由来細胞を用いた解析 ヒト咽頭扁桃上皮細胞におけるニューモウイルス易感染細胞の探索・同定・機能解析 シングルセル解析と感染細胞群の RNA sequence の結果を比較しながら解析を継続している。感染細胞では複数の因子が減少することを見出し、たんぱく質レベルでそれらの因子の感染細胞における発現減少を確認した。また、電子顕微鏡によって感染細胞の特徴的な形態変化を確認した。次に 3 次元培養における RSV 感染実験を行い同様の観察を行なった。シングルセル解析は同パネルの野村征太郎さんとの共同研究により精密な解析を行う予定である。また組織の ex vivo 感染実験におけるシングルセル解析をおこない、こちらも解析中である。	
研究項目 2 ニューモウイルス増殖必須宿主因子の探索・同定・機能解析 Genome-wide KO 細胞を利用した遺伝学的アプローチによる宿主因子の同定 機能欠失細胞群において、RSV が感染する際に利用する宿主因子を抽出した。それらはヒトメタニューモウイルス (hMPV) や他のウイルスにおいても侵入や付着に関わる報告が多数ある。そのためそれらの遺伝子を破壊した細胞とその破壊遺伝子を補完した細胞での付着・internalization の違いを詳細に解析した。RSV と hMPV ではウイルス表面のタンパク質アミノ酸配列相同性が 10-30%程度なのでウイルスタンパク質の開裂部位・使用プロテアーゼなどを含めて解析中である。	
ウイルス結合宿主タンパク質の同定 RSV の NS1 結合タンパク質のうち、シングルセル解析との関連が予測される因子を抽出中である。徳島大学の小迫教授に共同研究の依頼を行い、他のウイルスタンパク質についても結合宿主タンパク質の同定を行っていく予定である。	
研究項目 3 ニューモウイルス増殖必須宿主因子の NALT における空間的発現再配置 感染による遺伝子発現変化が多く見られる細胞の年齢分布の違いを予備的に組織免疫染色にて検討予定である。	