

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名：光ピンセットによる核内ウイルス RNP 輸送と染色体操作(～ウイルスゲノム除去への挑戦～)
2. 研究代表者：本田 文江 (学校法人 法政大学生命科学部 教授)
3. 研究概要

インフルエンザウイルス増殖に対して、宿主の細胞周期・細胞分化の制御因子が深く関わっているとの研究代表者の発見に基づき、ウイルス感受性の細胞基盤解明のために、“単一ウイルス粒子の単一細胞感染系”の開発を目標とする。まず、光ピンセットを利用したウイルス・ウイルス RNP の捕捉・搬送、膜強度計測ツールの開発、光スペクトル変化を利用した温度・pH 計測ツールの開発を行う。これらの計画が達成されると、単一ウイルス感染、ウイルス RNP の細胞内操作に引き続き、ウイルス増殖環境の詳細な解析、ウイルス感染細胞変化計測を可能とする。それらの結果は、効果的なウイルス感染細胞診断・防御法の開発につながるもので、その社会的インパクトは大きい。

これまでの 3 年間に於いて、1. 単一ウイルス感染システム開発(光ピンセットによる捕捉搬送技術)、2. 細胞質・核内環境計測システム開発(光ピンセット・光スペクトル変化利用)、3. ウイルス感染細胞変化解析(光ピンセット技術応用)、4. 染色体 DNA 操作ツール開発、を目標として研究を実施した。開発した物理的解析・操作法を利用してウイルス感染細胞・非感染細胞の物理的・生化学的解析を行った。まず、マイクロナノ流体チップ(細胞培養チャンバーとウイルス貯留槽からなる)の開発により単一ウイルス感染システムが確立し、インフルエンザウイルスの感染は静止期細胞特異的であることを明らかにした。静止期、分裂期細胞の違いを明らかにし、1. シアル酸量の違い、2. 細胞触診法開発により細胞膜強度の違い、3. 膜主成分の脂質成分の違い、を世界で初めて発見した。次に、環境測定ツール(温度・pH 計測)開発により、1. インフルエンザウイルス感染細胞の温度上昇、2. ウイルス感染細胞での ATP 消費量上昇観測、3. ウイルス感染初期の細胞膜強度・成分の変化、を発見した。さらに、光ピンセットによる vRNP 捕捉・搬送から 8 本のインフルエンザウイルス RNP は粒子内、核内ともに集合体であることが明らかにされた。これらはいずれも世界初の成果である。

今後は、これらの成果を基盤に、感染細胞からウイルス vRNP の除去による増殖阻害解析、ウイルス非感受性細胞の人為的操作法開発、ウイルス感染細胞と非感染細胞の化学的組成の違いの総合的解析、細胞内温度、pH などの物理的性状の違い、細胞染色体切断、染色体手術法の開発、単一ウイルス感染システムを利用した感染細胞から非感染細胞への情報の流れの解析などの研究を展開する計画である。

4. 中間評価結果

4-1. 研究の進捗状況及び研究成果の現状

光トラッピング捕捉搬送による単一ウイルス感染システム、細胞・核内環境計測システム、ウイルス感染細胞変化計測、染色体 DNA 操作ツール等の開発は着実に進展しており、インフルエンザウイルスの感染が細胞周期に特異的であることを発見し、単一細胞の温度・pH 計測のプロブを開発し、感染細胞における温度上昇および ATP 消費量の増大等の観測に成功している。研究の前半において計画されていたウイルス操作装置の整備は順調と見られる。また、マイクロ流体チップの光ピンセットによる核内の単一ウイルスを単一細胞まで輸送し、感染の仕方を調べ、特異的に静止期に感染することを明らかにした。目標とした測定項目がクリアされたことにより、単一細胞に対して単一ウイルスがどのように感染し細胞内に入り込んでいくのかの実態が見えたことは大きな成果であり、本研究課題が今後に与える学術的・社会的インパクトをより大きくし、望ましい展開である。チームミーティングを頻繁に開催し、情報交換をして、各グループで開発された計測手法が研究代表者グループの研究に導入されて、実際のインフルエンザの感染過程の研究に有効に利用されていると考えられる。ただ、得られた重要な成果について、インパクトの大きな学術雑誌への発表が遅れていることは大変惜しい。

4-2. 今後の研究に向けて

本研究課題は、ウイルス感染の実態を解明する上で極めて有用なツールと知見を提供するものであり、その意義は大きい。従って、各グループの連携を深めて研究プロジェクトとして有機的にまとめていくとともに、これまでの成果を早急に論文として発表することが重要であり、特許取得も考えるべきであろう。そのための研究体制強化が望まれる。

また、後半の研究で重要となるvRNP核内操作に関しては、Z軸上では自在操作可能の見通しがついたものの、XY軸上の操作はできるものの、ある範囲に限られた。操作できる範囲や境界がどのような環境かを明らかにすることは、操作性に関する今後の研究を左右することから、その原因解明と克服のための新たな手法開発への更なる努力が必要と思われる。パルスアシストシステム等の新たな試みにより、ウイルス感染研究のブレークスルーとなる新奇な方法論の開発など、「ウイルスゲノム除去への挑戦」に向けての研究項目の早めの微調整が求められる。また、光を用いた捕捉、搬送、制御など光のさまざまな効用を新しい光技術として展開することも期待したい。

今後見込まれる研究成果の社会的インパクトとしては、ウイルス感染過程の解明に基づく対処手段の研究や引き続き感染防止手段の確立に繋がるのが強く望まれる。本研究で得られた知見が、生体組織のような複合システムではどのような意味づけとなるかについても是非明らかにしてほしい。

4-3. 総合的評価

前期3年において、光トラッピング捕捉搬送による単一ウイルス感染システム、細胞・核内環境計測システム、ウイルス感染細胞変化計測、染色体DNA操作ツールに関して、所期の目的に迫る興味ある成果が得られたことは高く評価できる。インフルエンザ等のウイルス感染による疾病は、現在、世界的にもきわめて注目されている領域であるので、その成果は、タイミングを見て遅延なく積極的に論文発表するとともに、プレス発表等を行うことも重要である。また、本研究の狙いや戦略を広く広報して社会的にアピールすることも期待される。光ピンセットによる単一ウイルス感染システムは、他の研究者からの期待も高いことから、本手法の利用促進のために民間企業などとの共同開発も積極的に進めてほしい。

本研究の成功は、インフルエンザウイルス以外の動物ウイルスの感染機構などの解析への利用など広い応用展開に繋がり、その波及効果も極めて大きいものと思われる。今後は、得られた計測技術を基盤として、感染機構の知見の蓄積や増殖の阻害、細胞染色体切断、染色体手術法の開発へと、問題点に関する適切な研究手法の見直しにより研究が順調に進むことを期待したい。