厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

ポリオウイルスの病原体バイオリスク管理の標準化等を推進するための研究

研究分担者　小池智　（公財）東京都医学総合研究所・プロジェクトリーダー

研究要旨：衛生研究所などでウイルス分離業務を行う際に、検体中にポリオウイルスが混入している場合、現在の方法ではポリオウイルスは非常によく増殖してしまうため、封じ込めを有効に行うことができない。ポリオウイルスの増殖がなく、他のウイルス分離に影響を及ぼさない手法を確立することを試みる。

A．研究目的

衛生研究所などでウイルス分離業務を行う際に、検体中にポリオウイルスが混入している場合、現在の方法ではポリオウイルスは非常によく増殖してしまうため、封じ込めを有効に行うことができない。ポリオウイルスの増殖がなく、他のウイルス分離に影響を及ぼさない手法を確立することができれば、ポリオの封じ込めに大きく貢献することができる。

B．研究方法

通常衛生研究所でウイルス分離に用いている株化細胞のポリオウイルス受容体をCrispr/Cas9システムで破壊し、ポリオウイルスにだけ感受性を持たなくなった細胞株の樹立を行う。その細胞で他のウイルスの分離について影響がないことを確認する。

（倫理面への配慮）
特になし

C．研究結果

ヒトにおいてはポリオウイルス受容体遺伝子はCD155のみであるため、この遺伝子を破壊するためのガイドRNAの設計を行った。

D．考察

ヒト細胞でPVR遺伝子の破壊は有効であると思われる。他のウイルスの感染に影響を与えない事を確認する必要がある。

ウイルスの分離はアフリカミドリザルの細胞も用いられているが、旧世界ザルにおいてはPVR遺伝子は遺伝子重複により複数の遺伝子座からなっていることが知られている。そのため、ヒト細胞よりも感受性を失った細胞を樹立することは困難である可能性がある。

E．結論

PVR遺伝子ノックアウト細胞の作製は理論的に可能であり、有効であると考えられる。安全性と有効性を実証したい。

F．研究発表

1.　論文発表
なし
2.　学会発表
なし
（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

G．知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし