

(海外実践疫学演習 海外共同研究演習) 報告書

2014 年 12 月 12 日提出

|      |                                                             |
|------|-------------------------------------------------------------|
| 氏名   | 日尾野隆大                                                       |
| 所属   | 微生物学教室                                                      |
| 学年   | 博士 3 年                                                      |
| 出張先  | 米国カリフォルニア州 The Scripps Research Institute                   |
| 出張期間 | 2014 年 10 月 6 日 - 11 月 29 日                                 |
| 目的   | カモおよびニワトリのインフルエンザウイルスのレセプター特異性を Glycan microarray を用いて解析する。 |

活動内容 (2,000 字程度、活動内容が判る様な写真や図表を加えて下さい)

### 1. はじめに

The Scripps Research Institute (TSRI) は米国カリフォルニア州サンディエゴに位置する私立研究所で、生命科学および分子生物学の分野において世界最高峰と謳われる研究所である。James C. Paulson 博士は TSRI の acting President であり、また糖鎖生物学、特にシアル酸を介した免疫シグナル伝達とインフルエンザウイルスのレセプター認識機構という異なる 2 つの分野における世界的な権威である。Paulson 博士の研究室では Glycan microarray という、多種の糖鎖をスライドにプリントし、それら糖鎖とタンパク質を反応させることにより、糖結合タンパク質の糖鎖認識特異性をスクリーニングする系を近年立ち上げ、特にインフルエンザウイルスのレセプター特異性の分野で大きな功績をあげている。本演習では Paulson 博士の研究室に 8 週間滞在し、この Glycan microarray の技術を用いて、カモとニワトリのインフルエンザウイルスのレセプター特異性および、それぞれのレセプター認識に係るアミノ酸モチーフがレセプター特異性に与える影響について検討した。



Fig.1 TSRI の外観

### 2. サンディエゴでの生活 (仕事編)

TSRI は私立の研究所なので、大学のように Dormitory を備えていない。また TSRI の位置する La Jolla 地区はリゾート地であり家賃が高く、TSRI からバスで 1 時間ほどの場所にホームステイすることとなった。サンディエゴの公共交通機関は日本のそれほど時間に正確ではなく、また路線によっては 30 分に 1 本程度と本数も少なかった。

たため、通勤はやや不便であった。また公共交通機関を利用し通勤していることに加え、共働きの老夫婦の家にホームステイしているということでそれほど遅くまで仕事をするとはなかったが、一方でラボでは 100% 自分の実験に集中できたためそれほど不便に感じることはなかった。ラボでは最初の 1 週間、本年度の SaSSOH の Invited speaker であった Robert P. de Vries 博士が基本的なことを教えてくれたが、その後彼は母国のオランダに移動してしまった為、多くのことを自分でやる必要があった。ラボでは発現タンパクを作出し、それを Ryan MacBride 技官のもとに持って行って、一緒に解析するということの繰り返しだった。MacBride 氏は技官でありながら、糖鎖化学、インフルエンザウイルスのレセプター特異性の両方に非常に造詣が深く、Glycan microarray のデータの読み取り方や、糖鎖結合特異性を考える際の基礎的な理論等を講義してくれた。ラボの環境は、「研究者は実験に集中する」の一言に尽き、研究者の他に非常に多くのスタッフがこの環境を支えていた。大学では考えられないほどの良い環境に、やや気おくれしてしまうこともあったが、普段の倍以上のペースで実験が進んだように感じる。一方で Paulson 博士は非常に忙しく、この点はいわゆる Big Lab に赴く際のデメリットではあった。



Fig.2 ラボで与えられた実験台。ここで実験していた。

### 3. 研究の成果

これまでの研究で、カモの結腸には直鎖状の  $\alpha$  2,3 シアル酸糖鎖が、ニワトリの呼吸器にはフコース付加  $\alpha$  2,3 シアル酸糖鎖が存在していること、カモのインフルエンザウイルスは直鎖状とフコースの単糖分岐が付加した  $\alpha$  2,3 シアル酸糖鎖に、ニワトリのインフルエンザウイルスはフコース付加  $\alpha$  2,3 シアル酸糖鎖のみに結合特異性を示すことが明らかとなっていた。一方でレセプター認識に係る HA タンパクのみを発現タンパクとして用い、Glycan microarray で解析したところ、カモのウイルスの HA はフコース付加の無い  $\alpha$  2,3 シアル酸糖鎖のみに、ニワトリのウイルスの HA はフコースが付加した  $\alpha$  2,3 シアル酸糖鎖のみに結合することが明らかとなった。また、カモのウイルスの HA もフコースの無いものならば何でも良いわけではなく、O 型糖鎖の Core 4 といわれる構造や N 型糖鎖のコア構造を持つ糖鎖をより好んで結合した。さらにこのようなレセプター糖鎖のフコース基を受け入れるかどうかは、HA の 222 番目および 227 番目のアミノ酸モチーフが規定していることが明らかとなった。これ

らのアミノ酸は HA のレセプター認識部位を構成する 220 ループに位置する。222 番目および 227 番目をカモ型からニワトリ型に置換したカモのウイルスの HA はフコース付加  $\alpha$  2,3 シアル酸糖鎖を特異的に認識する。これに加え 220 ループの近傍に位置する 216 番目のアミノ酸をカモ型からニワトリ型に置換すると、フコースの付加したもの、していないもの両方の  $\alpha$  2,3 シアル酸糖鎖を認識した。一方で同じく HA のレセプター認識部位を構成する 190 ヘリックスにおけるアミノ酸置換はフコース基を受け入れるかどうかに影響を及ぼさなかった。これらのことから、HA は 220 ループを介してフコース付加  $\alpha$  2,3 シアル酸糖鎖のフコース基を認識していることを示しており、HA の 220 ループの構造がニワトリの呼吸器上皮に存在するレセプターの認識に重要であると考えられる。

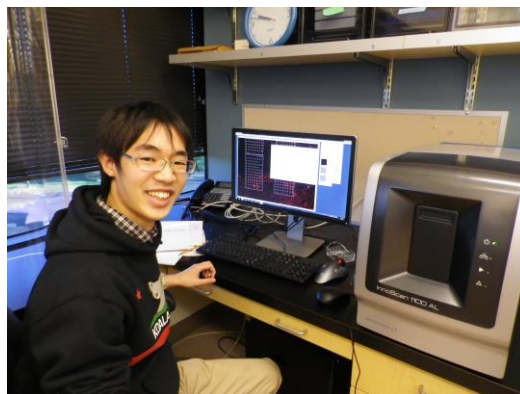


Fig.3 Glycan microarray のデータを解析中。

#### 4. サンディエゴでの生活（日常編）

滞在期間が 10 月の初めから 11 月の終わりということで Halloween と Thanks Giving Day を体験することができた。Halloween の日は Associate professor の Matthew Macauley 博士がバットマンのコスチュームで登場し、ラボメンバーを驚かせていた。また夜はホームステイ先を近所の子供たちが訪ねてきて、大家さんとともに迎えた。Thanks Giving Day は MacBride 氏とともに彼の奥さんの友人宅に伺った。そこでは、Host の夫妻、その友人、奥さんの知り合いの中国人留学生 8 名ほど、McBride 夫妻とお母さんと様々な人が集まり、楽しく食卓を囲んだ。

#### 5. おわりに

Paulson 博士の研究室は現在主に糖鎖を介した免疫系の調節に関する研究を進めており、ほとんどの人が私の研究分野とは異なる背景を持っていた。これは、自分の研究について「気軽に」議論するには不便であったが、新たなことを多く学べるという利点もあった。また Paulson 博士の研究室では免疫シグナルに関する研究を進める Immunology & Microbial Science の生物学者からなるグループと、糖鎖そのものや解析のための物質を合成する Chemical Physiology の化学者からなるグループが非常に密接にコミュニケーションを取りつつ研究を進めているということが印象的だった。このように異なる分野の人同士が手を取り合うことで、科学を進歩させるとい



うことが実感できた。最後に 8 週間の滞在を受け入れ、惜しみない援助をしてくださった Paulson 博士、ラボでのルールの手ほどきをしてくれた Robb (de Vries 博士)、解析の手伝いを含め公私にわたりサポートをしてくれた Ryan (MacBride 氏)、滞在に係る事務手続きをサポートしてくれた Anna



Fig.4 PI の Paulson 博士と。

と、大変すばらしい機会を与えてくれた堀内教授、迫田教授、岡松准教授およびリーディング事務担当の皆様はこの場を借りて御礼申し上げます。

(海外実践疫学演習・海外共同研究演習) 指導教員評

| 指導教員所属・職・氏名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 微生物学教室 教授 迫田義博 | 印 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|---|
| <p>実施内容について講評を記述して下さい</p> <p>日尾野隆大君は、2 か月間の渡航で受け入れ先の Paulson 博士の研究室のメンバーと協力しつつインフルエンザウイルスのレセプター特異性に関する研究を進め、Glycan microarray 法の原理および解析方法を習得しました。また、渡航期間中に得られた成果から、インフルエンザウイルスのレセプター認識機構およびカモとニワトリにおける異種宿主間伝播機構に関する多くの知見が得られました。本演習において、日尾野君は普段接している獣医学やウイルス学の世界を離れ、糖鎖生物学の世界に飛び込みましたが、その中でも主体的に実験を進めてきたと聞いています。本演習を通じて、日尾野君は国際的な共同研究を進めるうえで必要な協調性および専門的な知識を醸成することができたと私は考えます。よって、日尾野君は本科目の履修目標を達成したと考えます。</p> |                |   |

- ※1 電子媒体を e-mail で国際連携支援室・リーディング大学院担当に提出するとともに、指導教員が押印した原本を国際連携支援室・リーディング大学院担当に提出して下さい。
- ※2 本報告書はリーディングプログラム運営委員会で内容を確認します。その後、教務委員会で単位認定を受けることになります。

提出先：国際連携推進室・リーディング大学院担当

内線：9545 e-mail: leading@vetmed.hokudai.ac.jp