

法で採用していたカラムを用いた方法に比べ10倍以上の高感度化を達成した。

D. 考察

1. LAMP法に用いるプライマーの改良
塩基配列番号 28000 で設計したプライマーセットは現行セットより優れて可能性があるため、今後感度、特異性を中心に検討する予定である。

2. LAMP法に用いる逆転写酵素のスクリーニング

RNAを鋳型とするLAMP法では、初期反応が逆転写反応であるため、本工程が全体の測定感度に大きく左右すると考えられる。今回の検討で、逆転写が持つRNaseH活性の有無が測定感度に大きく関与していることが示唆された。また感度面からスクリーニングされた7種についてはさらに阻害物質の影響を中心に検討し、候補を絞っていく予定である。

3. 新規ウイルスRNA抽出方法の検討
現行法に比べ10倍以上の高感度化を達成したが、抽出時間は1時間以上を要すること、および洗浄のため複数回の遠心分離操作を必要とするなど煩雑である。今後迅速化および操作の簡便化が必要である。

E. 結論

1. 現行開発済みとは3つの別領域でプライマー設計を行い、増幅を確認した。2. 検出感度に直結する増幅初期反応の改善を目指し逆転写酵素のスクリーニングを行い、現行と同等以上の酵素を7種見出した。3. 抽出RNAの全量を反応に持ち込める高感度な新規な抽出方法を開発した。

F. 健康危険情報

なし

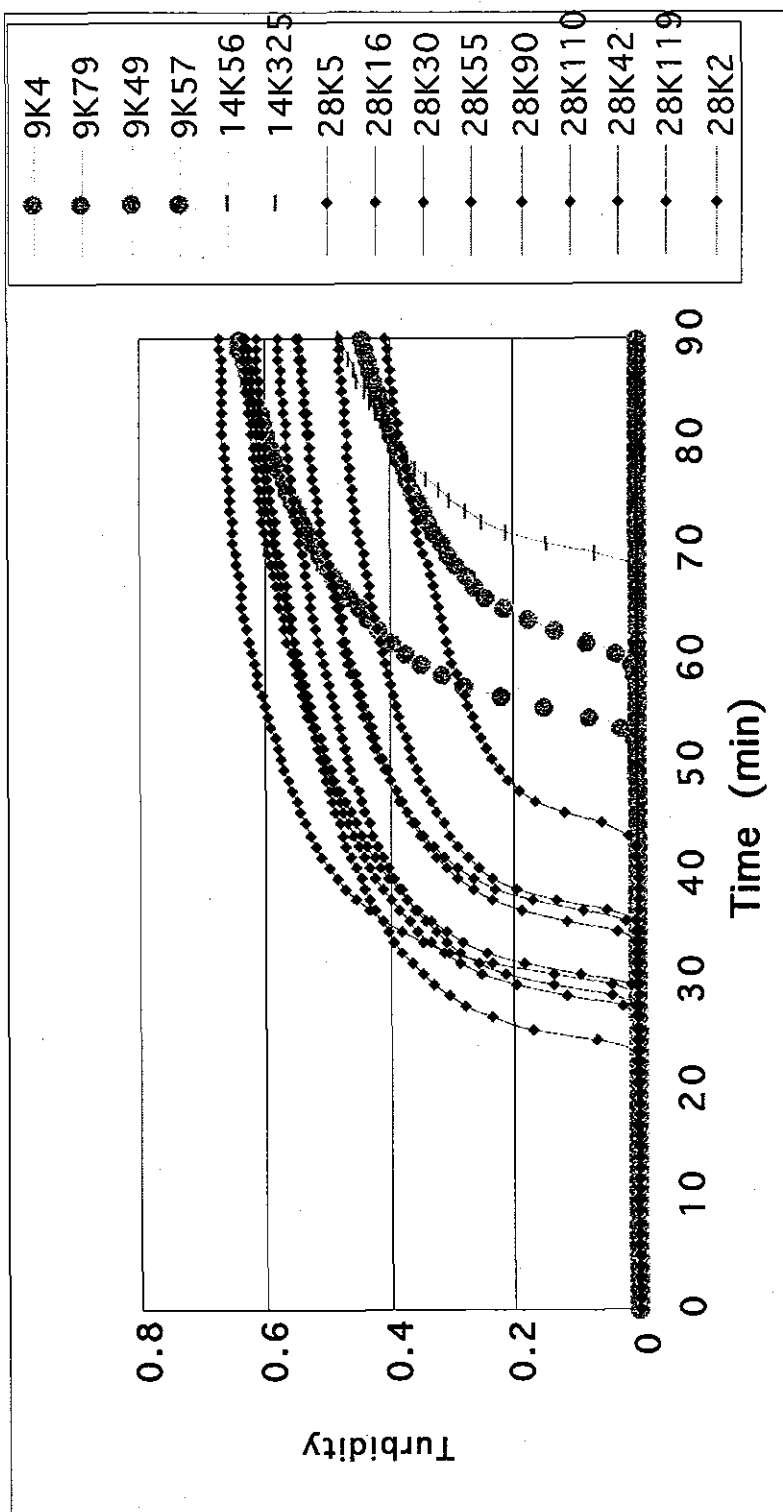
G. 研究発表

Hong TC, Mai QL, Cuong DV, Parida M, Minekawa H, Notomi T, Hasebe F, Morita K. (2004): Development and Evaluation of a Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Detection of SARS Coronavirus.

J.Clin.Microbiol. 42: 1956-1961.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
なし

1. LAMP法に用いるプライマーの改良 —別領域でのスクリーニング結果—



2. LAMP法に用いる逆転写酵素の再スクリーニング

酵素名	メーカー	由来	RNaseH 活性	感度
AMV Reverse Transcriptase	Invitrogen	AMV	+	◎
"	FINNZYMES	AMV	+	◎
"	STRATAGENE	AMV	+	○
"	SIGMA	AMV	+	○
"	和光純薬	AMV	+	△
"	USB	AMV	+	△
AMV Reverse Transcriptase XL	LIFE SCIENCE	AMV	+	△
M-MLV Reverse Transcriptase	Invitrogen	M-MLV	+	○
"	NEB	M-MLV	+	△

酵素名	メーカー	由来	RNaseH 活性	感度
Cloned AMV	Invitrogen	AMV	+	◎
ReverTra Ace	TOYOBO	M-MLV	-	X
SuperScriptII	Invitrogen	M-MLV	-	X
ThermoScript	Invitrogen	トリウイルス	-	X
StrataScript	Stratagene	M-MLV	-	○
PowerScript	clontech	M-MLV	-	○
ReverScriptI	WAKO	M-MLV	-	X
ReverScriptII	WAKO	M-MLV	-	X
ReverScriptIII	WAKO	M-MLV	-	○
SensiScript	QIAGEN	?	?	◎
OmniScript	QIAGEN	?	?	◎
Transcriptor	Roche	?	+	◎
ImProm II	Promega	?	?	◎

3. 新規ウイルスRNA抽出方法の検討 —新法（ゼオライト抽出法）と現行法との感度比較—

HCV copy/100uL	ゼオライト抽出法		QIAamp viral RNA mini kit	
	Positive n=4		Positive n=4	
	Ct(min)±SD		Ct(min)±SD	
20	19.38±3.34	2	N.D.	0
25	29.57±11.67	4	45.8	1
50	22.06±6.04	4	30.52±3.74	3
100	17.53±0.61	4	26.1	1
250	15.96±0.43	4	20.8	1
500	15.33±0.23	4	23.52±4.21	3
1000	14.77±0.19	4	20.34±1.46	4

分担研究者 北村義浩 東京大学医科学研究所先端医療研究センター 感染症分野
助教授

研究要旨：重症急性呼吸器症候群（Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS）は高熱と呼吸器症状を主徴とする新興ウイルス感染症である。この起因ウイルスは SARS コロナウイルス（SARSCoV）である。一方、同様の症状を呈する SARS 以外の急性感染症もきわめて多い。このため SARSCoV はもとより既知の急性呼吸器感染症起因微生物を鑑別することが院内感染対策、公衆衛生学、分子疫学を含む様々な観点から求められている。臨床症状が似て要る疾患としてインフルエンザ（A 型、B 型）を鑑別することにした。また、ウイルス学的に類似しているヒトコロナウイルスも鑑別の対象とした。これらはすべて RNA ウイルスであるのでまずゲノム RNA を逆転写酵素（RT）で DNA に変換しこれを LAMP 法によって検出する手段を採用した。いくつかのプライマーセットをデザインし、実際にそのプライマーセットが対象とする微生物ゲノムを検出できるかどうかを real-time PCR 機を用いて対象核酸の増幅による蛍光強度上昇をモニタリングした。蛍光強度の測定強度基線が揺らぐ。この揺らぎの中から対象核酸の増幅による真の蛍光強度の立ち上がりを判定するアルゴリズム・プログラムを作成した。このプログラムを用い各病原体に対するプライマーセットの感度を測定できた。対象核酸を複数個有するレトロウイルスベクターを作成した。このベクター粒子を試料としてプライマーセットの感度を客観的に比較する方法を確立した。

A. 研究目的

本研究は SARS と同様の臨床症状を示す急性熱性呼吸器感染症と SARS を鑑別することを目的として、核酸によるそれぞれの病原微生物の同定法を開発することを目的とする。

B. 研究方法

まず SARSCoV と鑑別すべき対象ウイルスとして A 型・B 型インフルエンザウイルス（Flu-A, Flu-B）とヒトコロナウイルス（hCoV）を選んだ。これらはすべて RNA ウイルスであるのでまずゲノム RNA を逆転写酵素（RT）で DNA に変換しこれを LAMP 法によって検出する手段

を採用した（以下これを RT-LAMP 法という）。PCR 法に比べて感度が高いと考えたからである。上記の対象ウイルスのほか HIV（p24 領域）に対して複数の RT-LAMP 法用のプライマーセットをデザインし、実際にそのプライマーセットが対象とする微生物ゲノムを検出できるかどうかを real-time PCR 機を用いて対象核酸の増幅による CyberGreen の蛍光強度上昇をモニタリングした。

プライマーセットの感度を客観的に調べるために対象ウイルスの増幅対象領域のいずれか 1 つと HIV の p24 領域を有するレトロウイルスベクターを作成した。このベクター粒子から RNA を調製し、これを試料として RT-LAMP 法で核酸検出を行った。

(倫理面での配慮)
該当しない。

C. 研究結果

RT-LAMP 法による核酸増幅を Real-TimePCR 機で蛍光強度をモニタしたところ測定強度基線が揺らぐため反応開始後何分経過したところで対象核酸の増幅が真に検出され始めたが不明確であることが明らかになった。そこで蛍光強度曲線の一次微分関数を利用して真の蛍光強度の立ち上がりを判定するアルゴリズム・プログラムを作成した。

HIV の p24 領域を有するキメラ核酸を有するレトロウイルスベクターを作製しこの粒子から RNA を調製した。この試料を RT-LAMP 法で各プライマーを用いて核酸検出をした。これらには常に HIV の p24 領域が含まれているので HIVp24 を対象とするプライマーセットと感度を比較できるシステムであることがわかった。SARSCoV > HIVp24 > hCoV > Flu-B > FluA の順で感度が良好であった。

D. 考察

RT-LAMP 法に用いるプライマーセットの感度を客観的に比較できるようになった。今後は特異性を調べるべきである。

E. 結論

RT-LAMP 法で鑑別診断できる可能性が示された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 発表

(1)原著

1: Zhu D, Taguchi-Nakamura H, Goto M, Odawara T, Nakamura T, Yamada H, Kotaki H, Sugiura W, Iwamoto A and **Kitamura Y**. Influence of single-nucleotide polymorphisms in the multidrug resistance-1 gene on the cellular export of nelfinavir and its clinical implication for highly-active antiretroviral therapy. *Antiviral Therapy. in press, 2004.*

2) Furutsuki T, Hosoya N, Kawana-Tachikawa A, Tomizawa M, Odawara T, Goto M, **Kitamura Y**, Nakamura T, Kelleher AD, Cooper DA, Iwamoto A. Frequent transmission of cytotoxic-T-lymphocyte escape mutants of human immunodeficiency virus type 1 in the highly HLA-A24-positive Japanese population. *J. Virol. 78: 8437-8445, 2004*

厚生労働科学研究費補助金（新興再興感染症研究事業）

平成 16 年度分担研究報告書

「SARS コロナウイルス検査法の精度向上及び迅速化に関する研究」

9. SARS-CoV 感染動物モデルにおけるウイルスの動態と免疫応答の解析

分担研究者：長谷川秀樹（国立感染症研究所、感染病理部）

協力研究者：永田典代、岩田奈織子、佐藤由子、原嶋綾子、佐多徹太郎

（同所、感染病理部）

森川 茂、西條政幸（同所、ウイルス第一部）

板村繁之、西藤岳彦（同所、ウイルス第三部）

網 康至（同所、動物管理室）

研究要旨

SARS-CoV のカニクイザル感染モデルを用いてウイルス感染後の抗体応答、ウイルス感染および抗原の分布などを解析し、適切な診断材料、材料採取時期について検討した。その結果、経鼻、気管内接種あるいは静脈内接種後に直腸拭い液からウイルスが一定期間検出されることを明らかにした。臨床診断に用いる検体として直腸拭い液や糞便材料が有用であることを示した。また、病理組織学診断に必要なパラフィン切片で使用可能なポリクローナル抗体と、陽性コントロールに用いるための SARS-CoV 感染サル肺組織を準備した。

A. 研究目的

われわれはすでにカニクイザル、マウス、ラットが重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（SARS-CoV）の感受性動物であることを確認した（平成 15 年度文科省緊急研究費「SARS の診断及び検査手法等に関する緊急調査研究班」）。これらの動物は SARS の発症を認めないものの、感染は成立し、感染部位におけるウイルス増殖がみられる。よって、感染初期の病態について検索が可能である。

今年度は、カニクイザル感染モデル実験からのサンプルを用いて感染後の抗体応答、ウイルス感染および抗原の分布などを解析し、適切な診断材料、材料採取時期に関して検討した。

B. 研究方法

材料：

SARS-CoV（HKU39849 株）を経鼻、気管内、静脈内、胃内接種したカニクイザル（筑波霊長類センター育成サル、雄、

2-3 年齢) から接種後 1 日おきに採取された血液、咽頭、鼻腔、直腸拭い液を用いた。拭い液は綿棒で咽頭、鼻腔あるいは直腸を拭い、1ml の 2%血清加 MEM に浸したもので、使用するまで -80℃に保存した。

ウイルス分離とウイルス量の測定：

各拭い液と末梢血単核系細胞からのウイルス分離およびウイルス量の測定を実施した。これらは VeroE6 細胞を用い、材料接種後に細胞変性効果 (CPE) の有無を 3 日間観察して判定した。またウイルス量は VeroE6 細胞における 50% 細胞培養感染量(TCID₅₀)を Kärber 法によって算出して表した。

なお、いずれの感染実験も国立感染症研究所村山分室高度安全実験施設においてバイオセーフティーレベル 3 病原体取り扱い規定および動物実験委員会規定に従い実施した。

ウイルスゲノムの定量：

拭い液を溶解した際に 100µl を Trizol 液(Invitrogen) 900µl と混合し使用まで -80℃で保存した。プロトコールどおり核酸を抽出し、DNase 処理し RNA サンプルとした。Light Cycler SARS-CoV quantification kit (Roche) を用いて one-step RT-Real time PCR を行った。

IF 抗体価および中和抗体価の測定：

経時的に採取した血漿を用いて、

HKU39849 株を感染させた VeroE6 細胞 (MOI: 1.0、18 時間後)をアセトン固定し UV 不活化処理後、常法どおり IF 抗体価の測定を行った。二次抗体には FITC 標識抗ヒト IgG 抗体を用いた。また、同じ株と細胞を用いて中和抗体価の測定も行った。

病理学的解析：

過麻酔による安楽殺を行い、心臓採血後解剖し、組織を採取し常法どおり 10%ホルマリン緩衝液固定後にパラフィン切片組織を作製し病理学的解析を行った。免疫組織化学によるウイルス抗原の検出は UV 不活化粒子 (HKU39849 株) をウサギに免疫して得られた抗 SARS-CoV 血清を用いて実施した。

C. 研究結果

ウイルスの検出と抗体価

感染実験と接種後の経過、感染性ウイルスとウイルスゲノムの検出、抗体価について図 1 にまとめた。いずれの動物も SARS 発症には至らなかったが、10⁶ TCID₅₀ 経鼻接種、気管内接種、静脈内接種、胃内接種 (2 頭中 1 頭) で感染の成立とウイルスの排泄を確認した。また、感染成立後 10 日目以降に血清中の中和抗体および IF 抗体の上昇が認められた。感染性ウイルスとウイルスゲノムの量について図 2 に示した。10⁶ TCID₅₀ 経鼻接種群 (n=2) からは接種後 2 - 10 日目に鼻腔拭い液、2 - 7 日目に咽頭拭い液で

感染性ウイルス (4 日目の 10^4 TCID₅₀/ml をピークとする)、とウイルスゲノム (4 日目の 10^7 copy /ml をピークとする) がそれぞれ分離された。接種後 2 - 10 日目に直腸拭い液からウイルスゲノム (10^4 copy /ml) のみ検出された。また、 10^8 TCID₅₀ 静脈内接種群 (n=1) からは接種後 8 - 12 日目に咽頭拭い液からウイルスゲノム (10 日目の 10^4 copy /ml をピークとする) が検出されたが、直腸拭い液からは接種後 4 - 14 日目に感染性ウイルス (10 日目の 10^4 TCID₅₀ /ml をピークとする) とウイルスゲノム (12 日目の 10^6 copy /ml をピークとする) が検出された。

病理学的解析結果

感染が成立した群において接種後 7 日目と 2 週あるいは 3 週間目に 1 頭ずつ解剖し、病理学的検索を行った。その結果、気管内接種後 7 日目の動物の肺に最も強い病変が認められた (図 3)。この肺の肺胞上皮にウイルス抗原が検出され、マクロファージを主体とする炎症性反応がみられた。 10^6 TCID₅₀ 量経鼻接種後 7 日目の動物の肺で同様の病変が見られたが軽度であり、鼻腔粘膜上皮の一部でウイルス抗原が検出された。気管内および経鼻接種後 3 週間目に解剖した動物ではウイルス抗原は検出されず、炎症の修復過程である軽度の線維増生が見られるのみであった。静脈内接種後 14 日目の直腸粘膜上皮においてウイルス抗原が検出されたが、肺病変は認められなかった。

D. 考察

気管内、経鼻あるいは静脈内接種後のカニクイザルの直腸拭い液からウイルスゲノムが一定期間検出された。気管内と経鼻接種の動物では感染性ウイルスの検出は困難であったのに対し、静脈内接種後の動物では感染性ウイルス量は高かった。病理組織学的検索によって、静脈内接種後の動物の直腸上皮にウイルス抗原が検出された。腸内でウイルスが増殖している場合に感染性ウイルスが検出され、上気道でのみウイルスが増殖している場合は飲み込んだウイルスは胃、腸管で不活化されるため、ゲノムのみが検出されている可能性がある。(SARS) のアウトブレイクに際して患者からの SARS コロナウイルス (SARS-CoV) の分離と血清学的診断が試みられ、RT-PCR によるウイルスゲノムの検出は 6 ~ 14 病日の便サンプルが最も効率が高かった (86-100%)。この疫学調査の結果とわれわれのサル実験の結果は一致した。

また、患者血清中の中和抗体は 14 ~ 21 病日以降上昇が観察されたと報告されており、これもサル実験の結果と一致した。

E. 結論

経鼻、気管内接種あるいは静脈内接種後に直腸拭い液からウイルスが一定期間検出されることを明らかにした。これらは臨床診断に用いる検体として有用である。

また、病理組織学診断に必要なパラフィン切片で使用可能なポリクローナル抗体と陽性コントロールに用いるための SARS-CoV 感染サル肺組織を準備した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

学会発表

1. 長谷川秀樹、佐多徹太郎。SARS の病理とその病態。第 93 回日本病理学会総会 (2004 年 6 月札幌)。
2. 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎。SARS コロナウイルス感染動物モデルの作製。第 93 回日本病理学会総会 (2004 年 6 月札幌)。
3. 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、森川茂、原嶋綾子、佐藤由子、佐多徹太郎。マウス、ラットを用いた SARS-CoV 感染モデルの作製。第 52 回日本ウイルス学会総会 (2004 年 11 月横浜)。

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし。

図 1. SARS-CoV感染カニクイザルのウイルスとウイルスゲノム検出および抗体価

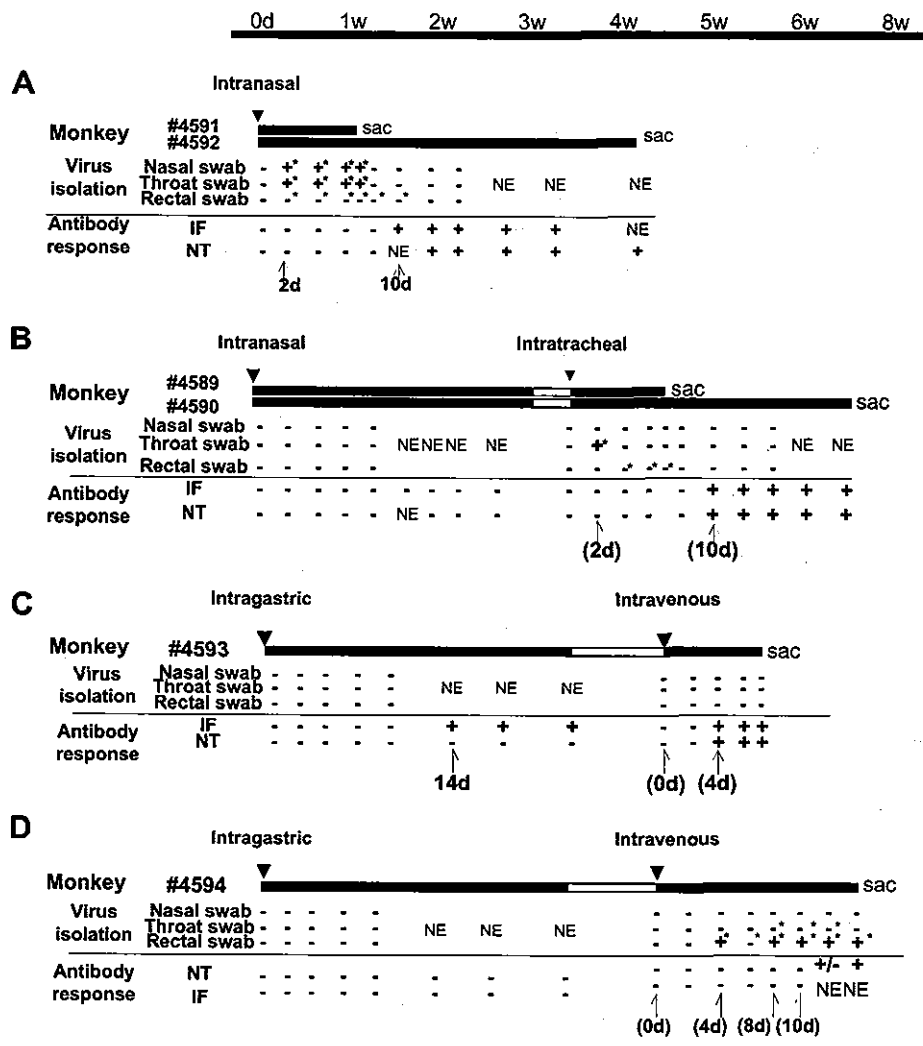
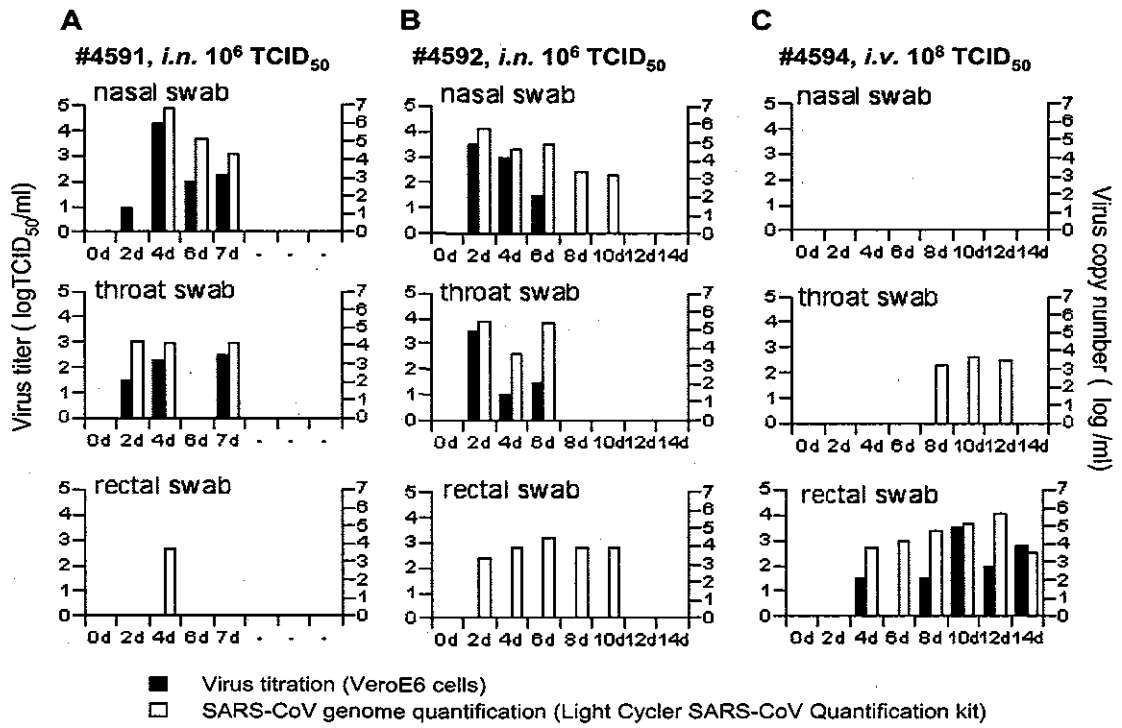


図2. ウイルスゲノムと感染性ウイルスの量



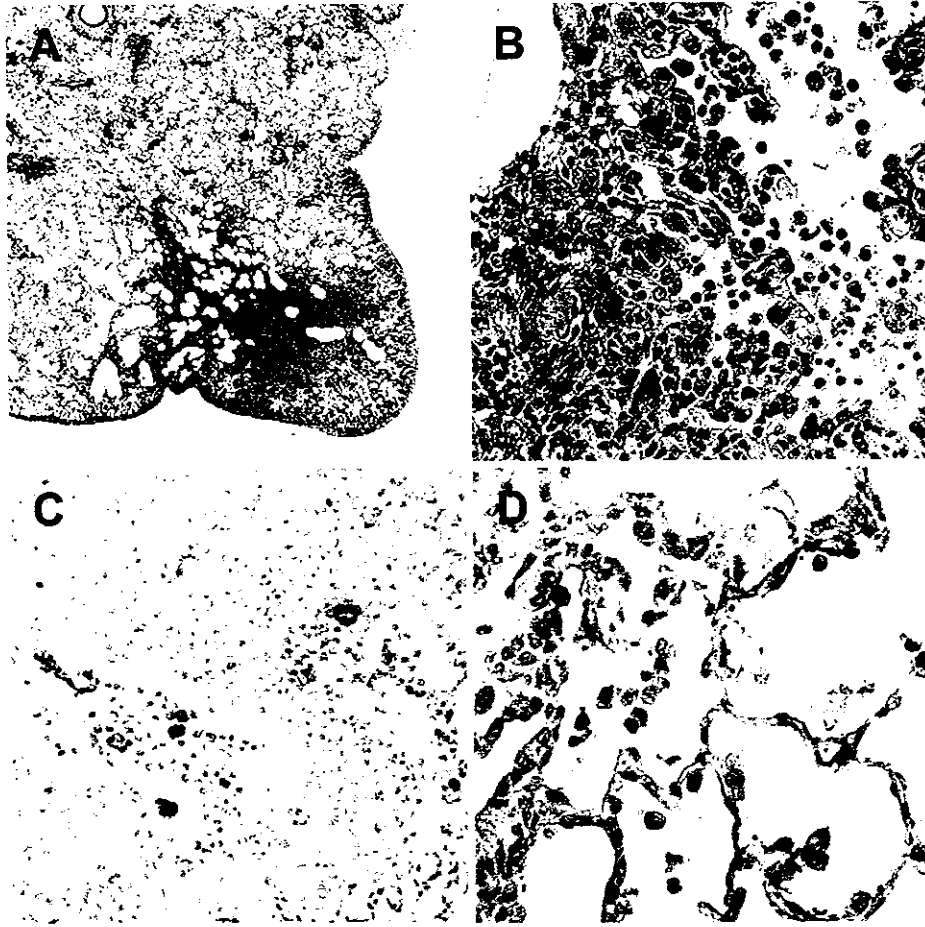


図3. 気管内接種後7日目 (#4589) の肺組織病変。肺の下葉を中心に炎症がみられた(A)。炎症の程度が激しい部位の肺胞内には好中球、マクロファージなどを中心とした炎症性細胞の浸潤がみられる(B)。マクロファージ、肺胞上皮にウイルス抗原が検出できた(C)。比較的炎症の軽度な部位では扁平な細胞である、I型肺胞上皮と、肺胞内のマクロファージにウイルス抗原が強く検出された(D)。

10. ヒト ACE2 発現トランスジェニックマウスの作出

分担研究者 棚林 清 国立感染症研究所 獣医科学部 室長
協力研究者 宇田晶彦 国立感染症研究所 獣医科学部 研究員
巽 正志 国立感染症研究所 エイズ研究センター 室長
松田潤一郎 国立感染症研究所 獣医科学部 室長

SARS コロナウイルスの感染モデル動物を開発するために、本ウイルスのレセプターであるヒトのアンギオテンシン変換酵素 2 (ACE2) を発現するトランスジェニックマウスの作出を試みた。導入遺伝子 DNA が PCR にて陽性だったマウスのうち 3 系統でヒト ACE2 蛋白の発現がウエスタンブロット法で確認された。これらの候補マウスについて詳細な発現部位や発現量の解析およびウイルス感染の感受性の検討をする必要がある。

A. 研究目的

重症急性呼吸器症候群(SARS)の原因ウイルスである SARS コロナウイルス(SARS-CoV)感染による発症機構の解析や診断および検査方法の開発や検証のためには適した小動物感染モデルの開発が重要である。これまでのマウスでの感染実験では、SARS-CoV に感染するもののウイルスは比較的速やかに排除され発症しない。本研究では、有用な SARS-CoV 感染モデル動物を開発するために本ウイルスのレセプターであるヒトのアンギオテンシン変換酵素 2 (human angiotensin converting enzyme 2, hACE2)を発現するトランスジェニックマウスの作出を試み、SAS-CoV 感染の小動物モデルとしての有用性を検証することを目的とした。

B. 研究方法

(1)ヒト ACE2 発現プラスミドの構築

ヒト腎細胞由来である 293 T細胞から抽出した RNA を鋳型に RT-PCR により作製した hACE2 の翻訳領域の cDNA を、哺乳類細胞での発現プラスミドベクターである pCAGGS-P7 にクローニングした。このプラスミド DNA をトランスフェクトした培養細胞における目的蛋白の発現はヤギ抗ヒト ACE2 抗体(R&D Systems)を用いた間接蛍光抗体法にて確認した。

(2)トランスジェニックマウスの作出

hACE2 発現プラスミド DNA のプロモーターからポリ A 付加領域を含む DNA 断片をマウス(C57BL/6J)の受精卵にマイクロインジェクションした後、仮腹マウスに移植、妊娠させ子孫マウスを得た。出生したマウスの尾組織よりゲノム DNA を抽出し、PCR 法により導入した hACE2 遺伝子 DNA 断片の有無をスクリーニングした。

導入 DNA 断片を有する個体と同系統マウスとの交配により得られた子孫マウスについて、hACE2 遺伝子および蛋白の発現の確認を RT-PCR 法およびウエスタンブロットティング法により行った。マウスの各種臓器から抽出した mRNA を鋳型にしてオリゴ dT プライマーおよび逆転写酵素による cDNA 合成後、PCR 法による DNA 増幅とアガロース電気泳動で hACE2 遺伝子の転写産物の検出を行った。対照として G3PDH 遺伝子についても同時に実施した。さらに、抽出した各種臓器の可溶化画分についてウエスタンブロットティング法による hACE2 蛋白発現の確認を行った。一次抗体としては抗 hACE2 モノクローナル抗体 (clone 171606) を用い、HRP 標識 Protein A を反応させた後 ECL plus で発光させ VersaDoc5000 により画像を得た。

(倫理面への配慮) 本研究における動物実験は国立感染症研究所の規定に従い実施した。

C. 研究結果

(1) ヒト ACE2 発現プラスミドの構築

ヒト腎細胞由来である 293 T 細胞から抽出した RNA を鋳型に RT-PCR により作製した hACE2 の 805 アミノ酸残基をコードする領域の cDNA を、哺乳類細胞での発現プラスミドベクターである pCAGGS-P7 にクローニングした。このプラスミド DNA を HeLa 細胞や COS7 細胞にトランスフェクトしたところ抗 ACE2 抗体を用いた間接蛍光抗体法にて発現が確認できた。

(2) トランスジェニックマウスの作出

hACE2 発現プラスミド pCAGGS-P7/hACE2 のプロモーターと hACE2cDNA

の融合 DNA 断片をマウス(C57BL/6J)の受精卵にマイクロインジェクション後、仮腹マウスに移植し、子孫マウスを得た。出生マウスのゲノム DNA について PCR 法により導入した hACE2 遺伝子 DNA 断片の有無をスクリーニングし、増幅予定サイズ (1106 塩基) のバンドが検出されたマウスを選別した。

導入 DNA 断片を有する個体と同系統マウスの交配により得られた子孫マウスの抽出臓器における hACE2 遺伝子の発現を RT-PCR 法で蛋白の発現をウエスタンブロットティング法で調べた。3系統のマウスで骨格筋や心臓において明らかな RT-PCR での増幅バンドが認められた。また、食道や脳にもシグナルが見られる系統もあった (図 1)。これらのマウス臓器におけるウエスタンブロットティング法による hACE2 蛋白の発現を調べたところ、骨格筋や心臓で発現が認められた。また、弱いながらも肺においてシグナルが認められた個体もあった (図 2)。

D. 考察

SARS-CoV の感染小動物モデルの開発を目的にウイルス受容体であるヒト ACE2 発現トランスジェニックマウスの作出を試みた。これまでのところ hACE2 遺伝子が挿入されたゲノムを有するマウスのうち、いずれかの臓器で hACE2 蛋白の発現が確認されたのは 3 系統であった。筋肉や心臓ではいずれの系統の個体でも発現が検出されたが、SARS の主な標的臓器と考えられる肺では 1 系統で弱い発現が認められただけであった。また、腸管ではいずれの系統でも検出されなかった。

導入遺伝子に由来する目的蛋白の発現の確認をウエスタンブロット法により実施したが、解析に供した臓器由来の総蛋白量が一定ではないことや、摘出した臓器中に均一に発現しない場合は本方法では検出できないことも考えられ、発現部位の詳細な解析のためにも免疫組織化学染色法による解析が必要と考えられた。また、RT-PCRによる検出とウエスタンブロット法による蛋白検出の結果が必ずしも一致しないことなどから、複数の個体についての解析も必要である。得られた候補マウスにおいて安定した目的蛋白の発現が維持されることを確認しつつ、摘出臓器や組織の SARS-CoV に対する感受性を調べるとともに有用系統での感染実験が必要であると考えられた。

E. 結論

SARSCoVのレセプターであるhACE2を発現するトランスジェニックマウスの作出を試み、hACE2が挿入されたゲノムDNAを有するマウスのうちウエスタンブロット法により蛋白の発現が3系統で確認された。心臓や骨格筋においては当該蛋白の発現が明らかであり、1系統においては弱いながら肺でも認められた。今後、定量的解析と再現性の検討ならびに免疫組織化学染色法での詳細な発現部位の解析の実施と摘出組織や個体への感染実験を行い有用性の検証をする必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

棚林 清、巽 正志、藤田 修、宇田晶彦、山田章雄. SARS コロナウイルスの安定性の検討. 感染症誌 78:991-992 2004.

2. 学会発表

棚林 清、巽 正志、藤田 修、宇田晶彦、山田章雄. SARS コロナウイルスの環境中での安定性の検討. 第 52 回日本ウイルス学会. 2004 年 11 月 (横浜).

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

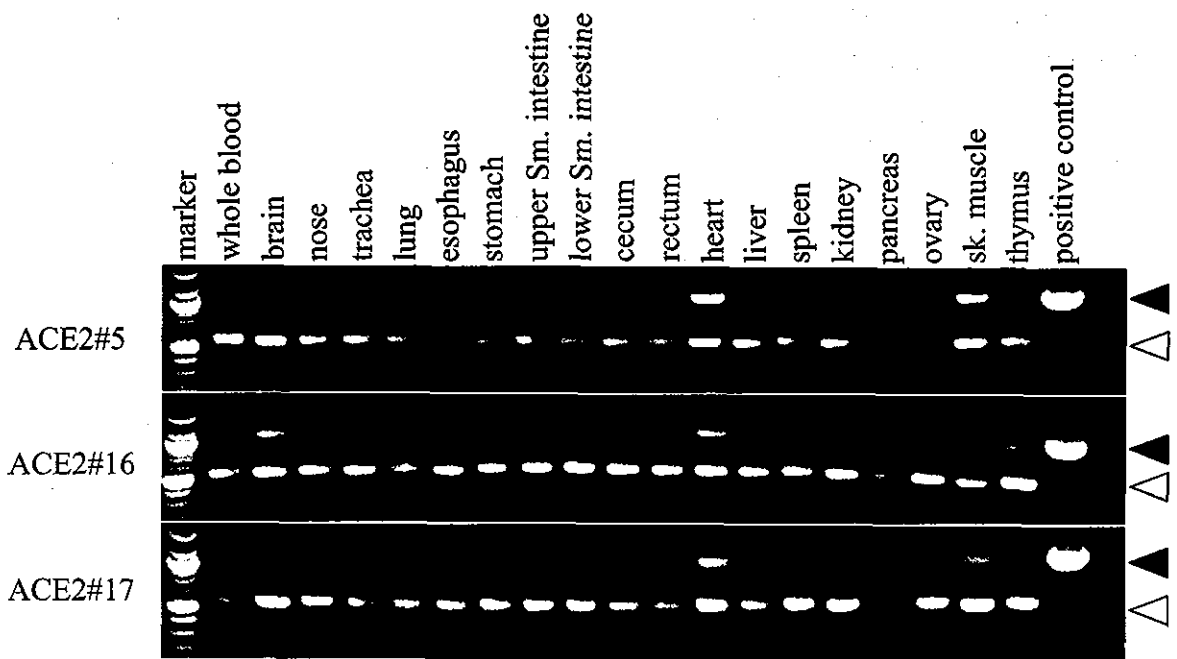


図1： RT-PCRによる各種臓器におけるヒトACE 2 mRNAの検出
 (▲ hACE2, △ G3PDH)

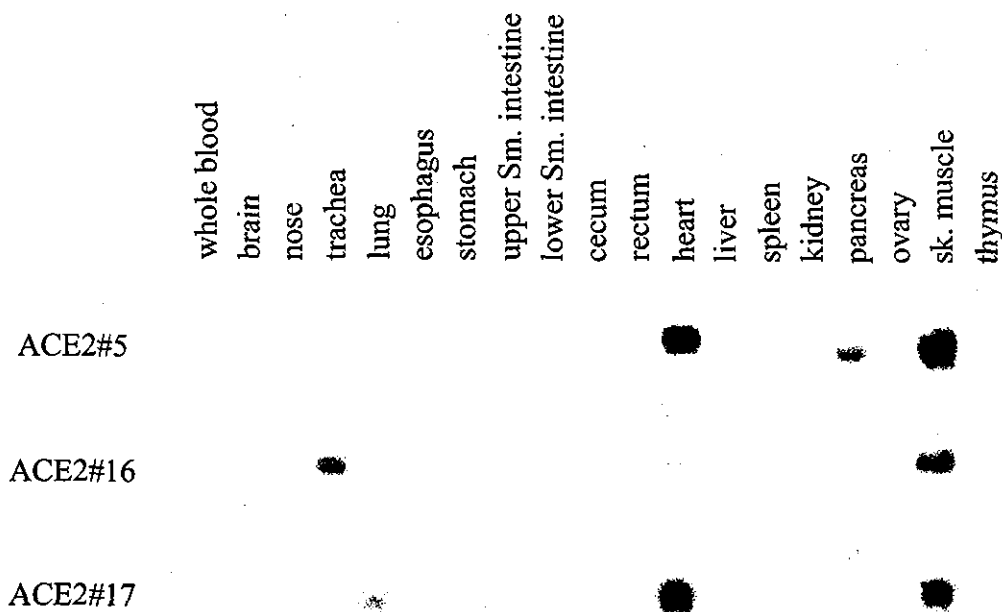


図2： ウェスタンブロット法による各種臓器におけるヒトACE 2 蛋白の検出