

(2) A型肝炎ウイルスの増殖性 (表1)

無血清培地で継代した細胞の形状が対照細胞と異なっており、GL37細胞のA型肝炎ウイルスの増殖性が損なわれている可能性があった。そこで、無血清培地で継代した細胞を準備し、製造用ウイルス増殖培地でウイルス培養を行ったところ、血清を含む培地で継代された細胞を使用した場合と、ほぼ同等のウイルス増殖性が確認された。

一方、無血清培地をウイルス増殖培地として使用した群においては、細胞継代にいずれの培地を使用した場合においても、対照の24~51%程度と、低いウイルス増殖性しか得られなかった。

表1：A型肝炎ウイルスの増殖性

ウイルス増殖培地 細胞増殖培地	MEM + FBS	VP-SFM	Opti-SFM	Opti-SFM + アルブマックス
MEM + FBS	14.7 (100%)	N.D.	7.1 (48%)	7.5 (51%)
VP-SFM	18.4 (125%)	4.4 (30%)	N.D.	N.D.
Opti-SFM	16.4 (112%)	N.D.	3.5 (24%)	N.D.

※単位は $\mu\text{g}/\text{フラスコ} 1 \text{本}(225\text{cm}^2)$ 。

D. 考察

現在の製造では、ワーキングセルを最大7代継代した細胞にウイルスを接種しているため、今回の検討では7回の継代作業が安定的に実施できることを評価対象とした。結果より、アルブマックスを使用した群では安定的な継代工程が可能であることが示されてはいるが、今回のデータはいずれもラボスケールでの結果であり、製造スケールにおいても同様の結果が得られるかの検証が必要である。また、近年の状況から、培地成分から動物由来成

分を取り除く要望が高まっており、アルブマックスを使用しない細胞継代工程についても検討を進める必要がある。

ウイルス増殖工程においては、無血清培地にアルブマックスを加えても増殖性に変化が見られなかったことから、牛胎児血清内に含まれるアルブミン以外の因子がウイルス増殖に重要な役割を果たしていると推察される。今後、他種類の増殖因子の組合せ等を含めた検討が必要である。

E. 結論

細胞継代工程については無血清化の実現を示唆するデータが得られたが、ウイルス増殖工程は現時点では厳しい状況にあると言える。

F. 健康危険情報

特に無し。

G. 研究発表

特に無し。

H. 知的財産の出願・登録状況

特に無し。

無血清培地を用いた MRC-5 細胞の培養条件の検討

分担研究者 真鍋貞夫 (財)阪大微生物病研究会
研究協力者 斉藤裕之 (財)阪大微生物病研究会

研究要旨 牛血清を使用しない新たなワクチン製造の開発に関する研究として、水痘ワクチンの製造に用いられている MRC-5 細胞について無血清培地での培養を試みた。その結果、数種類の市販無血清培地を検討したが、いずれも牛胎児血清(FBS)添加培地に比べて劣っており、ほとんど増殖が認められなかった。また、細胞増殖因子として EGF やインシュリンなどの添加剤を加えたが、その効果はほとんど認められなかった。

A. 研究目的

MRC-5 細胞は水痘ワクチンの製造に使用されており、その培養では FBS を含む培地が使われている。その FBS は特定の原産国のものを使用することで安全性を確保しているが、未知の感染性及び病原性をもつ因子の存在を完全に否定するためには、牛血清を使用しないことがより望ましいと考える。本研究では MRC-5 細胞の無血清培地を用いた培養方法について検討した。

B. 研究方法

1. 無血清培地の検討

FBS 含有 MEM で培養した MRC-5 細胞をトリプシン処理し、低速遠心後、沈渣の細胞を VP-SFM(Invitrogen)、Opti-Pro(Invitrogen)、HyQMega(HyClone)、PC-1(Cambrex)、EXCELL505(JRH)の各市販無血清培地と対照として FBS 含有 MEM で浮遊させた。浮遊液の細胞数を 8.0×10^4 cells/mL に調製して 25cm^2 フラスコに 10mL ずつ分注し、 37°C で 6 日間培養後の細胞数を測定した。

2. 細胞増殖因子の添加

FBS 含有 MEM で培養した MRC-5 細胞をトリプシン処理し、低速遠心後、沈渣の細胞を VP-SFM で浮遊させた。浮遊液の細胞数を 8.0×10^4 cells/mL に調製して 25cm^2 フラスコに 10mL ずつ分注し、インシュリン、Epidermal Growth Factor(EGF) と Insulin-Transferrin - Selenium(ITS)のいずれかの細胞増殖因子を添加した。 37°C で 6 日間培養後の細胞数を測定した。

3. 牛血清中の細胞増殖因子を含む培地の検討

FBS 含有 MEM で培養した MRC-5 細胞をトリプシン処理し、低速遠心後、沈渣の細胞を GIT (1*) (日水製薬)で浮遊させた。浮遊液の細胞数を 8.0×10^4 cells/mL に調製して 25cm^2 フラスコに 10mL 分注し、 37°C で 6 日間培養後の細胞数を測定した。

細胞数を 8.0×10^4 cells/mL に調製して 25cm^2 フラスコに 10mL 分注し、 37°C で 6 日間培養後の細胞数を測定した。

1* : GIT (日水製薬)

牛血清中の細胞増殖因子 GFS(Growth Factor in Serum)を分取し、その GFS と基礎培地との組み合わせにより得られた汎用性に富む細胞培養培地。

C. 研究結果

1. 無血清培地の検討

MRC-5 細胞の培養 6 日目の細胞状態を顕微鏡観察したとき、FBS 含有 MEM では単層(図 1)を形成したのに対し、VP-SFM(図 2)、Opti-Pro と PC-1 では一部の細胞が培養容器に接着しているものの、その細胞に膨潤が認められた。HyQMega と EXCELL505 では細胞が培養容器に接着していなかった。また、培養 6 日後の細胞数は表 1 に示したように、VP-SFM、Opti-Pro 及び PC-1 は FBS 含有 MEM と比べ非常に少なかった。

表 1. 各種培地における培養 6 日後の細胞数

培地	細胞数($\times 10^4$ cells/mL)
VP-SFM	5.4
Opti-Pro	8.0
PC-1	2.4
HyQMega	.*
EXCELL505	.*
FBS 含有 MEM	30.1

*細胞が培養容器に接着しなかった。

図1. FBS含有MEM

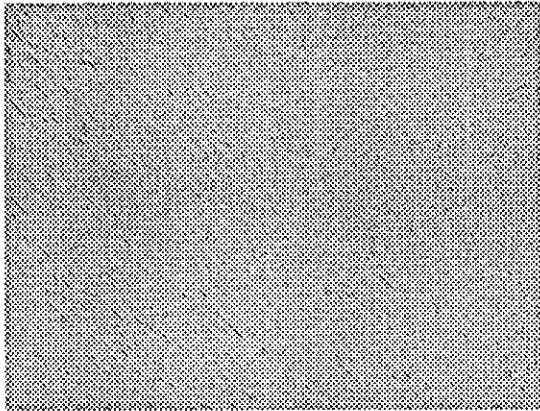
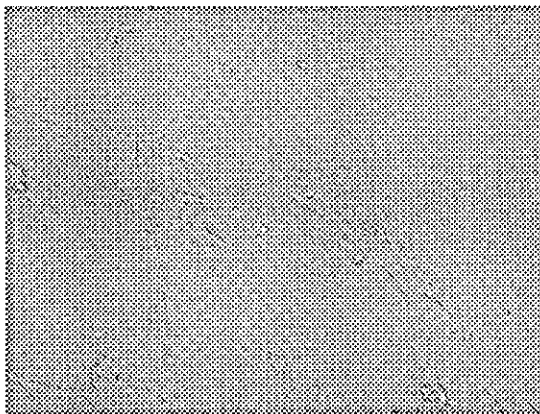


図2. VP-SFM



2. 細胞増殖因子の添加

細胞増殖因子の添加による MRC-5 細胞の増殖性の効果を表2に示した。EGF、インシュリン及び ITS のいずれの添加においても細胞の増殖性に影響を及ぼさなかった。

表2. 細胞増殖因子の添加効果

添加剤	添加量	細胞数 ($\times 10^4$ cells/mL)
無添加	—	5.4
EGF	15ng/mL	5.6
インシュリン	10 μ g/mL	7.8
ITS	1mM	6.9

3. 牛血清中の細胞増殖因子を含む培地の検討

GIT を用いた MRC-5 細胞培養 6 日後の細胞数は、 18.0×10^4 cells/mL であり、FBS 含有 MEM での細胞数の 60%であった。

D. 考察

昨年度の報告書において、無血清培地を用いたウズラ胚細胞の増殖性及び風しんウイルスの増殖性は牛血清を用いた場合と同程度であることを報告した。本年度は無血清培養法による水痘ワクチンの製造方法を開発することを目的に、無血清培地を用いて MRC-5 細胞の培養を試みたが、良好な細胞の増殖が認められなかった。また、細胞増殖因子の添加においても、その効果はほとんど認められなかった。しかしながら、牛血清中の細胞増殖因子を含む GIT を用いることで、MRC-5 細胞の増殖性が改善されたことから、牛血清中には MRC-5 細胞の増殖に必須な因子が存在することが示唆された。今回用いた細胞増殖因子はいずれも不適であったが、適切な細胞増殖因子を無血清培地中に添加することで、FBS 含有 MEM と同等の増殖性が得られる可能性が示唆された。

E. 結論

現在入手可能な無血清培地及び細胞増殖因子を用い、MRC-5 細胞の培養を試みたが、細胞の増殖は観察されなかった。

F. 健康危惧情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし。
2. 学会発表
なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）
平成 16 年度分担研究報告書

牛血清を用いない初代ニワトリ胚細胞の培養条件の検討と
麻疹ワクチン、AIK-C 株の増殖条件の設定

分担研究者 駒瀬 勝啓 (社) 北里研究所・生物製剤研究所、副所長
協力者研究：中山 哲夫 北里大学生命科学研究所

研究要旨 麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C はニワトリ胚細胞の初代細胞を用いて製造されている。一方、WHOでワクチン製造用の細胞として認定されている株化細胞、Vero 細胞は無血清培地でも増殖することが知られており、その維持管理の容易さから Vero 細胞を用いて製造できれば、牛由来成分を使用しただけでなく製造コスト、品質管理の面でも有用である。本年はワクチン株 AIK-C が Vero 細胞を用いて製造できるかを検討した。研究を始めるにあたり、ウイルスの性状をより明らかにするために、quasi-species で存在するワクチン株ではなく、AIK-C 株 RNA ゲノムからクローニングしたゲノム cDNA より reverse genetics 法で作製したリコンビナント AIK-C 株を用いた。この AIK-C 株を Vero 細胞で継代すると AIK-C 株の弱毒のマーカークと考えられている温度感受性、スモールプラーク形成能が消失し、親株である Edmonston 株の性状に似てきた。以上より Vero 細胞継代では弱毒に関する遺伝子に変異が出現しウイルスの性状が安定しないことから、少なくとも麻しんウイルスワクチンの製造には適切ではない可能性が示された。

A. 研究目的

麻疹ウイルス生ワクチン AIK-C 株はニワトリ胎児胚細胞を用いて製造されている。近年、狂牛病、variant Creutzfeldt-Jakob 病のプリオンによる感染が問題となっており医薬品の製造過程に使用してきた牛を含めた生物由来原料の安全性が問われている。生ワクチン製造過程では、初代培養細胞を用いるがその増殖に牛血清を使用し、ウイルス液を採取する前に牛血清を含まない培養液に交換している。

一方、不活化ポリオワクチン等は Vero 細胞を用いて製造され、Vero 細胞はワクチン製造に適した細胞として WHO にも承認されている。株化細胞を使用すれば血清成分を添加しなくても大量培養が可能であることから、本年は麻しんウイルスワクチンのウイルス原液が Vero 細胞を用いて製造できる可能性があるかを検討した。

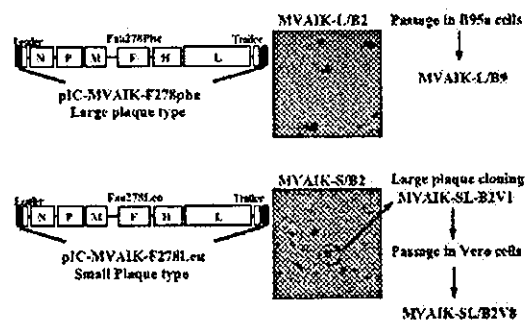
B. 研究方法

1) 麻疹ワクチン AIK-C 株のシードウイルスから全長 cDNA ゲノムを作製し、さらに以下のポイントミューテーションをゲノムに導入して 2 種類のゲノム cDNA を構築した。すなわち AIK-C 株は Vero 細胞に接種すると多くは small plaque を形成し、きわめて少数の medium-large plaque を形成する。Small plaque type は F 蛋白 278 番目のアミノ酸が Leu で、large plaque type は phe であることを報告している。Small plaque type の cDNA pIC-

MVAIK-F278Leu と large plaque type の pIC-MVAIK-F278Phe を構築した。

2) T7 RNA polymerase を発現する非増殖性 Vaccinia virus を B95a 細胞に感染させ、そこへ AIK-C 株由来の N、P、L 発現プラスドを全長 cDNA とともに co-transfection し 2 代継代し感染性ウイルス MVAIK-S/B2 (small plaque type), MVAIK-L/B2 (large plaque type) を回収した。

3) MVAIK-S/B2 を Vero 細胞に接種し寒天を重層し large plaque からウイルスをクローニングし Vero 細胞を用いて 33℃で 8 代継代し MVAIK-SL/B2V8 を得た。MVAIK-L/B2 は更に B95a 細胞を用い 33℃で 7 代継代し MVAIK-L/B9 を得た (図 1)。



(図 1) 麻疹ウイルス AIK-C の cDNA 構築と回収したウイルスの継代

- 4) 継代した麻疹ウイルスのN、P、M、F、H、L領域の翻訳領域をPCRで増幅し塩基配列を決定した。
- 5) 回収したウイルスのVero細胞における33℃、39℃での増殖能を比較した。
- 6) MVAIK-L/B9, MVAIK-SL/B2V8からF、H遺伝子をクローニングしてT7 promoterの下流に挿入し、Fタンパク、Hタンパク発現プラスミドを構築し、T7 RNA polymerase 下で発現実験を行い、プラーク形成能を検討した。

C. 研究結果

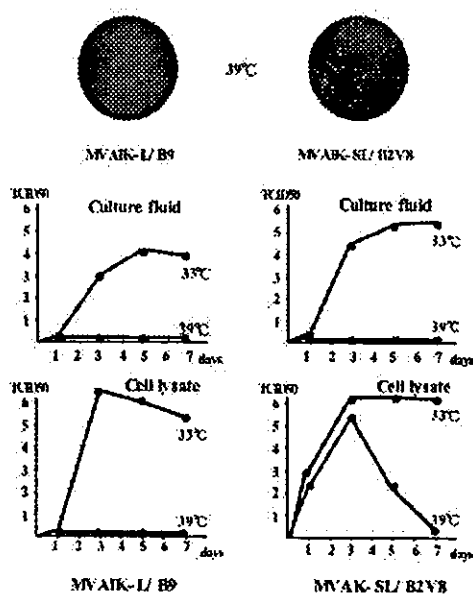
1) 温度感受性の保持

AIK-C株はEdmonston株を羊腎臓細胞に接種し33℃培養で、small plaque cloningした後、ニワトリ胎児胚細胞にadaptationさせ樹立したワクチン株である。従ってその生物学的性状としてsmall plaqueと39℃で増殖しない温度感受性が特徴となる。MVAIK-L/B9とMVAIK-SL/B2V8の増殖能を比較して図2に示した。培養1,3,5,7日に培養上清と細胞成分に分けB95a細胞で感染価を測定した。MVAIK-L/B9は33℃培養3日目から細胞内でウイルスは増殖し培養上清中にも産生されてくる。一方、39℃培養では細胞内、培養上清中にもウイルスは検出されず細胞変性効果も認められない。MVAIK-SL/B2V8は33℃では同様にウイルスは増殖し、39℃でも細胞内には感染性ウイルスは産生され細胞変性効果も認められた。培養上清中にはウイルスは検出されなかった。

2) 塩基配列の変化

MVAIK-SL/B2V8, MVAIK-L/B9, Edmonston, AIK-Cの4株の翻訳領域の塩基配列の差を表1に示した。MVAIK-L/B9は5カ所の塩基配列の変異が認められ、4カ所にアミノ酸の変異を伴っていた。N129, L371, L542にアミノ酸の変異が認められいずれも親株であるEdmonston株のアミノ酸に変化していた。L2032はAIK-C, EdmonstonともにGlyであるがMVAIK-L/B9はArgに変異していた。Genome position 12671はアミノ酸の変異は伴わないsilent mutationでEdmonston株に戻っていた。MVAIK-SL/B2V8は13カ所のアミノ酸変異を認めL2032以外はすべてEdmonston株に戻るback-mutationであった。L領域に11711(L826), 12671(L1146), 14651(L1806)にアミノ酸変異を伴わないsilent mutationを認めた。MVAIK-L/B9にはenvelop蛋白の変異は認めなかったがMVAIK-SL/B2V8にはH338, F278, F453, F494アミノ酸の変異を認めた。F278はPheに変異しておりLarge plaque cloningを行ったB2V2の時点で変異

を認めていた。MVAIK-SL/B2V8からF、H発現プラスミドを構築してVero細胞にtransfectionして発現実験を行ったが細胞融合能には差が観察されなかった。MVAIK-SL/B2V8とMVAIK-L/B9はN129の変異は共通して認められMVAIK-SL/B2V8にはC134, P275, P439の変異が認められた。



(図2)MVAIK-L/B9とMVAIK-SL/B2V8の33℃、39℃におけるウイルス増殖

D. 考察

1) BSEの流行以来、牛(反芻動物)由来の製品を極力使用しない方向で、生物製剤の製造工程の見直しがなされている。生ウイルスワクチンの製造にも牛血清を用いない製造方法が求められている。AIK-C麻疹生ワクチンウイルスは低温馴化、plaque cloningを繰り返すことで弱毒されたウイルスが選択されたものでありsmall plaque、温度感受性をその生物学的なマーカーとしてvalidationに利用している。しかしながら、生ワクチンウイルスは遺伝子レベルでは均一ではなく数種類のウイルス遺伝子が存在すると考えられ継代を重ねることでBack-mutationしてワクチンとしての弱毒性が保証できない可能性がある。このことからワクチン製造はマスターシードから5代継代以内で製造することになっている。AIK-Cシードの中にもVero細胞にLarge plaqueを示すウイルスも混在しF278のアミノ酸がLeuではsmall plaque、Pheではlarge plaqueを示すことを報告している。ウイルス継代によるback-mutationはこうしたquasi-speciesの中に微量

に混在する minor population として弱毒過程のウイルスが存在するものと考えられている。

- 2) 今回用いたのは、reverse genetics の手法で作製されたウイルスであり、出発材料のウイルス遺伝子は単一のものと考えられる。Large plaque cloning で F278 位は親株の Edmonston と同じアミノ酸に変化し、さらに 33℃継代を Vero 細胞で重ねると温度感受性の性状を失うことが明らかとなった。温度感受性に関与する遺伝子は P 蛋白 439 位の Pro が重要であることを報告しており、P 蛋白領域で 3 カ所の変異は Edmonston 株と共通した。
- 3) Vero 細胞で継代した MVAIK-SL/B2V8 は合計で 16 カ所の塩基配列の変化が認められ genome position 15327 以外はすべて親株 Edmonston 株への Back-mutation で、random mutation は起こさないことが明らかとなった。AIK-C 株の弱毒に関与する特性である温度感受性を失うことから Vero 細胞を用いて製造することは適切でないと思われる。

E. 結論

Vero 細胞は麻疹ワクチンの製造には適切でない可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文；

- 1) Kumada,A., Komase,K., and Nakayama, T., 2004. Recombinant measles AIK-C strain expressing current wild-type hemagglutinin protein. Vaccine, 22 (3-4) :309-316.

2. 学会発表

- 1) 麻疹ウイルスのN蛋白の解析、飯嶋益巳、駒瀬勝啓、第52回日本ウイルス学会、学術集会、総会、平成16年11月21日～23日 横浜
- 2) 麻疹ウイルス野生株の高温での増殖能、藤野元子、吉田菜穂子、飯嶋益巳、駒瀬勝啓、中山哲夫、第52回日本ウイルス学会、学術集会、総会、平成16年11月21日～23日 横浜
- 3) ムンプスウイルス野生株の遺伝子型による細胞融合の差、吉田菜穂子、藤野元子、駒瀬勝啓、中山哲夫、第52回日本ウイルス学会、学術集会、総会、平成16年11月21日～23日 横浜

F. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得；なし
2. 実用新案登録；なし
3. その他；なし

NT position(AA position)	Virus strain			
	AIK-C	Edmonston	MVAIK-L/B9	MVAIK-SL/B2V8
492 (N 129)	A (Lys)	C (Gln)	C (Gln)	C (Gln)
2229 (C 134)	A (Tyr)	C (Ser)	*	C (Ser)
2630 (P 275)	A (Tyr)	G (Cys)	*	G (Cys)
3122 (P 439)	C (Pro)	T (Leu)	*	T (Leu)
6291 (F 278)	A (Leu)	C (Phe)	*	C (Phe)
6815 (F 453)	T (Leu)	C (Ser)	*	C (Ser)
6937 (F 494)	T (Cys)	A (Ser)	*	A (Ser)
8282 (H 338)	A(Thy)	C (Pro)	*	C (Pro)
10344 (L 371)	T(Trp)	A(Arg)	A(Arg)	*
10857 (L 542)	G(Ala)	A(Thr)	A(Thr)	A(Thr)
11158 (L 642)	G(Arg)	A(Gln)	*	A(Gln)
11711 (L 826)	G(Ser)	A(Ser)	*	<u>A(Ser)</u>
12671 (L 1146)	A(Ala)	G(Ala)	<u>G(Ala)</u>	<u>G(Ala)</u>
14651 (L 1806)	A(Lys)	G(Lys)	*	<u>G(Lys)</u>
15039 (L 1936)	T(Tyr)	C(His)	*	C(His)
15327 (L 2032)	G(Gly)	G(Gly)	C(Arg)	C(Arg)
15622 (L 2130)	C(Thy)	T(Ile)	*	T(Ile)

表1 AIK-C, Edmonston, MVAIK-L/B9, MVAIK-SL/B2V8 の塩基配列、アミノ酸の違い、下線部位は silent mutation.

牛血清無添加による培養細胞で得たムンプスウイルスの遺伝子塩基配列に関する研究

分担研究者 末原章宏

武田薬品工業株式会社

協力研究者 岩本好司

山下利明

武田薬品工業株式会社

研究要旨 牛血清添加培地で培養したニワトリ胚培養細胞から得られたムンプスウイルス（鳥居株）と無血清培地で培養したニワトリ胚培養細胞から得られたムンプスウイルス（鳥居株）の遺伝子塩基配列の比較を行った結果、F、SH およびHN領域は継代0代から3代まで、いずれの場合も変異は認められなかった。細胞培養で添加する血清有無により、ムンプスウイルスの継代による遺伝子に変異を認めなかったことより、おたふくかぜワクチン製造への無血清培地適用の可能性が示唆された。

A. 研究目的

弱毒生おたふくかぜワクチンの製造に用いるニワトリ胚細胞培養は、培養時に牛血清を添加しているが、今回、細胞培養で添加する牛血清の有無により、その培養細胞で得たムンプスウイルスの遺伝子塩基配列 HN、SH およびF領域に変異を起し得るかを調査した。

なお、昨年度は、細胞培養で添加する牛血清の有無により、継代3代までその培養細胞で得た麻疹ウイルスの遺伝子塩基配列 N 領域に変異のないことを報告した。

B. 研究方法

1. ウイルス試料の作製

認可ムンプスウイルス株（鳥居株）をウシ血清添加した 199 培地で培養したニワトリ胚細胞で 3 代継代培養したウイルス株を継代開始時とした。

以後は、牛血清を 2vol% 添加した 199 培地及び牛血清を添加しないインビトロジェン社製の無血清培地 (Opti-SFM) を用いて、36~38℃ で 3 日間培養したニワトリ胚培養細胞にウイルス株をそれぞれ接種して 29~31℃ で 8 日間培養する継代を 3 代行い、継代開始時及び継代 3 代のウイルスを RNA 用試料とした。

2. 遺伝子塩基配列解析用試料の作製

継代開始時、継代 3 代のウイルスから常法に従い RNA を精製し、分光光度計を用いて純度ならびに精製量を測定し、続いて RT-PCR により得られた PCR 産物を遺伝子塩基配列解析用試料とした。

3. 遺伝子塩基配列の解析

プライマーウォーキング法を用いてシーケンシングを行い塩基配列の決定を行った。更に、DNASIS 解析ソフトを使用して得られた塩基配列の比較検討を実施した。

C. 研究結果

1. 牛血清添加による培養細胞で得たムンプスウイルスの遺伝子塩基配列の解析

F、SH および HN 領域を含む 3946 塩基の決定を行った結果、継代開始時及び継代 3 代の塩基配列に相違は認められなかった。

2. 牛血清無添加による培養細胞で得たムンプスウイルスの遺伝子塩基配列の解析

F、SH および HN 領域を含む 3946 塩基の決定を行った結果、継代開始時及び継代 3 代の塩基配列に相違は認められなかった。

D. 考察

今回、牛血清添加培地で培養したニワトリ胚培養細胞から得られたムンプスウイルスと無血清培地で培養したニワトリ胚培養細胞から得られたムンプスウイルスの遺伝子塩基配列 F、SH および HN 領域の比較を行った結果、牛血清添加培養ウイルスの継代開始時、継代 3 代に変異はなかったことから、ニワトリ胚細胞培養で添加する牛血清は、ムンプスウイルス（鳥居株）の培養において、F、SH および HN 領域の遺伝子塩基配列には影響しないことが確認された。一方、無血清培地（Opti-SFM）培養ウイルスの継代開始時、継代 3 代に変異はなかったことから、ニワトリ胚細胞培養で添加する牛血清の有無は、ムンプスウイルス（鳥居株）の培養において、F、SH および HN 領域の遺伝子塩基配列には影響しないことが確認された。

また、F および HN 領域は、ムンプスウイルスのエンベロープ上に位置し抗原性ならびに感染性に関与するたん白質をコードする領域であることから、継代開始時と継代 3 代の抗原性ならびに感染性に影響しないことが示唆された。

今後、3 代を超えた継代による遺伝子塩基配列の解析を行うとともに、製剤化した場合のウイルスの力価安定性等についても検討が必要と考える。

E. 結論

無血清培地で培養したニワトリ胚細胞から得られたムンプスウイルス(鳥居株)の F、SH および HN 領域の遺伝子塩基配列は、ウイルスの継代による塩基配列の変異を認めず、牛血清を用いる現行法とも差を認めないことが確認されたことにより、牛血清を使用しないおたふくかぜワクチン製造方法として、無血清培地適用の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし。
2. 学会発表
なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
予定なし。
2. 実用新案登録
予定なし。
3. その他
特記なし。

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	頁	出版年
A. Kato, C. Cortese-Grogan, S. A. Moyer, F. Sugahara, T. Sakaguchi, T. Kubota, N. Otsuki, M. Kohase, M. Tashiro, and Y. Nagai.	Characterization of the amino acid residues of Sendai virus C protein that are critically involved in its interferon antagonism and RNA synthesis down-regulation.	J Virol.	76	7114-7124	2004
Y. Nagai, and A. Kato.	Accessory genes of the Paramyxoviridae, a large family of nonsegmented negative strand RNA viruses, as a focus of active investigation by reverse genetics, in press.	In Y. Kawaoka (ed.), Biology of Negative Strand RNA Viruses: The Power of Reverse Genetics, Springer-Verlag GmbH and Co. KG, Curr. Topic Microbiol. Immunol.	283	198-248	2004
M. Kuwayama, M. Ito, S. Takao, Y. Shimazu, S. Fukuda, K. Miyazaki, I. Kurane, T. Takasaki.	Detection of Japanese encephalitis virus genome in cerebrospinal fluids from meningitis patients in Japan.	Emerg. Infect. Dis.	11(3)	471-473	2005
Kumada, A., Komase, K., and Nakayama, T.,	Recombinant measles AIK-C strain expressing current wild-type hemagglutinin protein.	Vaccine	22 (3-4)	309-316	2004