

ELISA OD 値

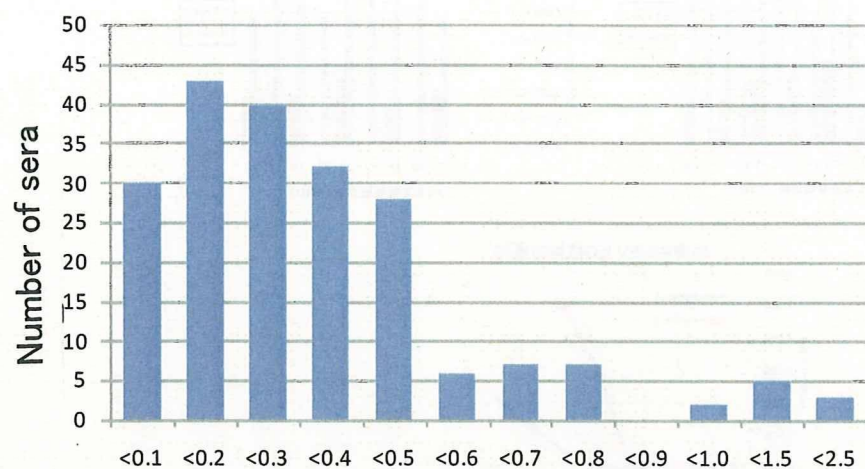


図 3. めん羊血清の HEV IgG 抗体測定用 ELISA OD 値の分布.

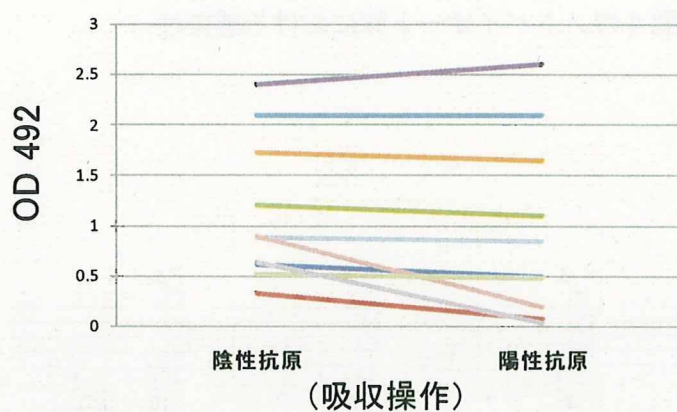


図 4. 吸収操作による ELISA 法の特異性確認

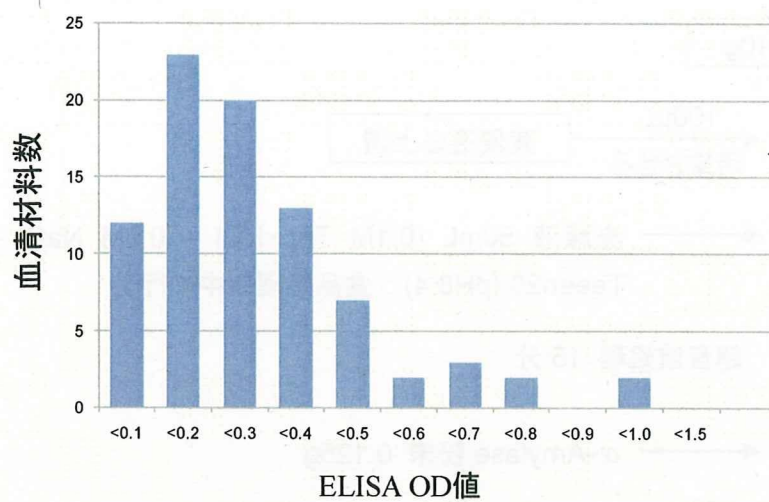


図 5. 牛血清 91 例の HEV IgG 抗体測定用 ELISA OD 値の分布.

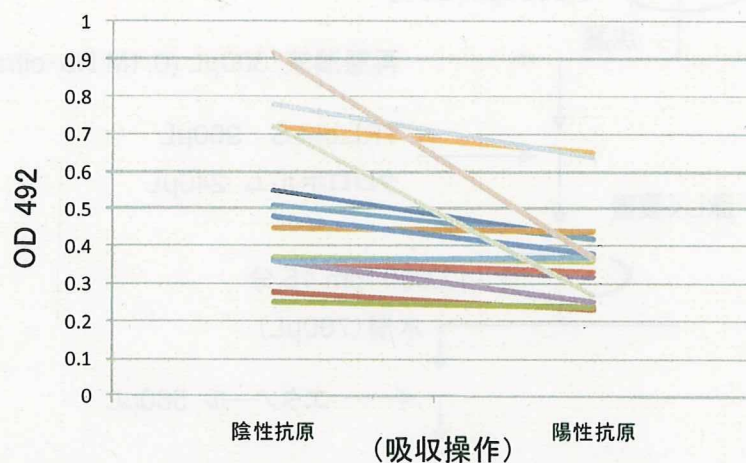


図 6. 吸収操作による ELISA 法の特異性確認

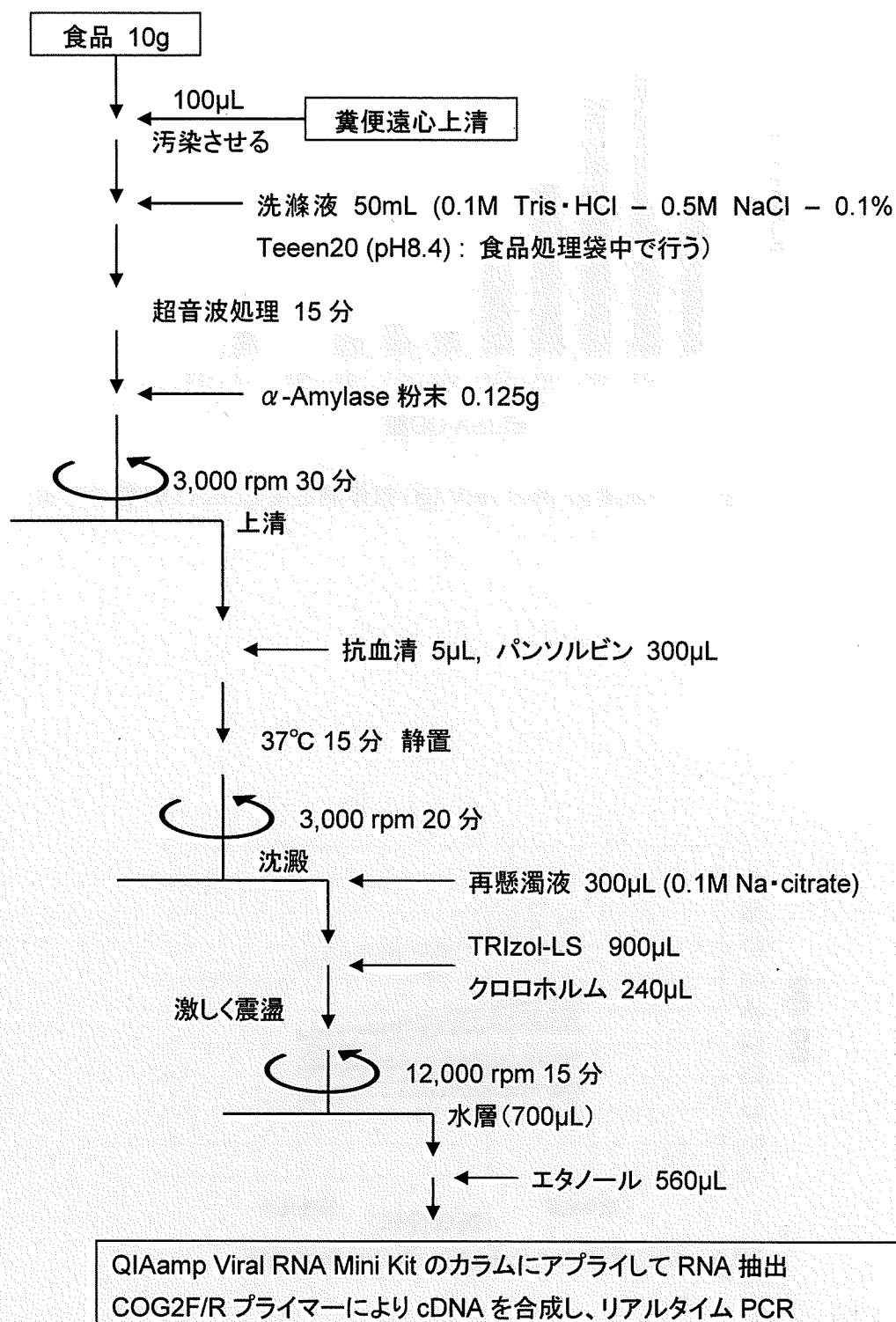


図7 パンソルビン・トラップ法の基本プロトコル (Ver. 3.1)

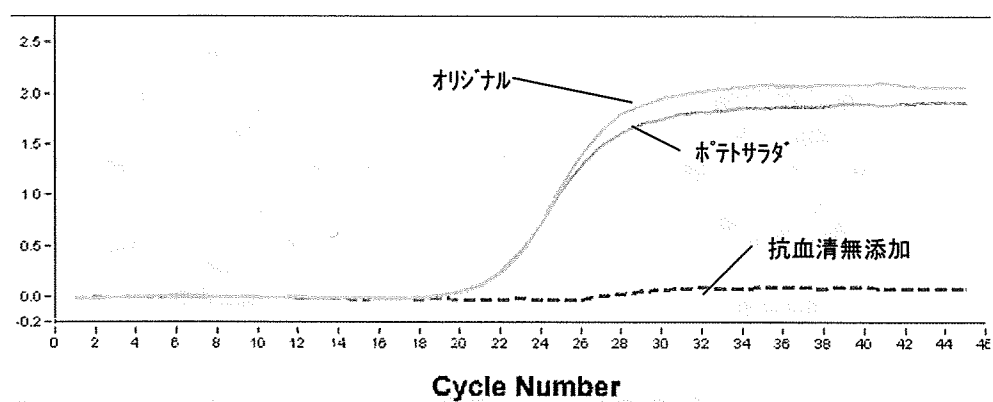


図8 食品検体からのNV回収の一例（増幅曲線）

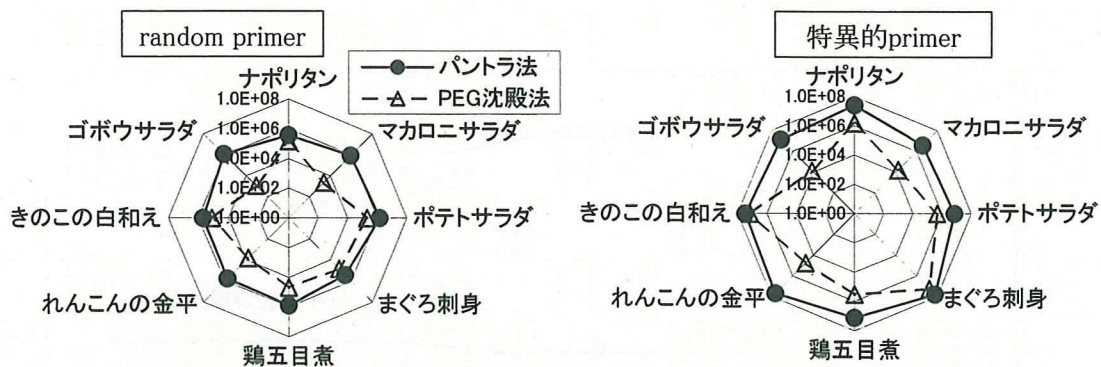


図 9. G II / 4 型NVによる各種汚染モデル食品におけるパントラ法とPEG 沈澱法の比較、及び逆転写プライマーの検討

表 1. 各遺伝子型の NV についての回収実験

G I 検出系		汚染用糞便	上清のみ定量値	単味血清	G I プール血清	NV プール血清	G I specific	broad
遺伝子型	使用検体番号	採取年月	(copies/反応)	(対応する1種)	(6種 プール)	(19種 プール)	(#3912)	(#22#23MIX)
GI/1	21508T47	2004.3	2.2E+03	○	○	○	×	×
GI/2	21608T4	2004.12	2.0E+03	○	○	○	×	×
GI/3	21618F17	2005.2	4.7E+03	○	○	○	×	×
GI/4	22017N23	2009.3	4.3E+02	○	○	○		
GI/8・GII/?	21620W3 ¹⁾	2005.3	9.8E+01	○	○	○ ³⁾		
GI/11	21616T12	2005.1	8.3E+02	○	○	○		
GII/1・GI/?	20602X8 ²⁾	1994.12	1.2E+02		○	△ ⁴⁾		
G II 検出系		汚染用糞便	上清のみ定量値	単味血清	G II プール血清	NV プール血清	G II specific	broad
遺伝子型	使用検体番号	採取年月	(copies/反応)	(対応する1種)	(13種 プール)	(19種 プール)	(#14)	(#22#23MIX)
GII/1・GI/?	20602X8 ²⁾	1994.12	2.7E+03	○	○	○ ⁴⁾		
GII/2	21603S4	2004.4	7.5E+02	○	○	○		
GII/3	21914F1	2007.12	6.5E+05	○	○	○	○	△
	21504N7	2003.12	2.7E+03	○	○	○	△	○
GII/4	21823S2	2006.11	4.5E+04	○	○	○		
GII/5	21412S3	2003.2	3.3E+03	○	○	○		
GII/6	21301S1	2001.4	2.1E+02	○	○	○	○	○
GII/7	21708S15	2005.12	2.1E+03	○	○	○		
GII/8	21309N1	2002.1	4.8E+04	○	○	○	×	×
			3.7E+06	○	○	○	○	△
GII/10	21103F1	2000.3	2.2E+03	○	○	○		
GII/12	22019F45	2009.3	3.0E+05	○	○	○	○	×
	21307F3	2001.12	6.5E+04	○	○	○	○	×
GI/8・GII/?	21620W3 ¹⁾	2005.3	7.6E+03		○	○ ³⁾		

○: 2wellとも10copies/反応以上の定量値にて検出

△: ○の基準は満たさないが検出、もしくは抗体なしの場合より低い定量値

×: 検出されず

1),2) それぞれ同一の糞便検体

3),4) それぞれ同一の抽出RNA使用

表 2 振出し液による NoV 回収率の比較

振出し液	回収率±標準偏差(%)
SDS-TG	59.3±5.9
滅菌蒸留水	18.2±11.4
PBS(-)	28.3±6.8
0.05%Tween20 加 PBS(-)	18.4±14.9

振出し時間は、1時間とした。

表 3 ダストからの NoV 回収率の経時変化

振出し時間(hr)	回収率±標準偏差(%)
1	53.2±2.9
3	59.3±9.9
6	71.1±10.2
22	34.9±14.4

振出し液は、SDS-TG を用いた。

表 4 ダスト中の NoV あるいは SaV 汚染実態

調査対象	供試 検体数	陽性 検体数(%)	ウイルス別陽性数(%)	
			NoV	SaV
一般家庭ダスト	51	2 (3.9)	1 (2.0)	1 (2.0)

調査期間:2008 年 12 月～2009 年 3 月、2009 年 11 月～2010 年 3 月

表 5 NoV 陽性家庭のダストにおける
ウイルス量の推移

経過日数	0	30	60
検査結果	+	+	-
	(5.7)*	(4.3)*	

*: $\log_{10}(\text{copies/g of dust})$

表 6 SaV 陽性家庭のダストにおけるウイルス量の推移

経過日数	0	34	45	68	77	92	105	107
集塵器内 ダスト	+	+	+	NT	-	-	NT	NT
	(6.6)*	(5.2)*	(5.2)*					
集塵器奥 ダスト	NT	NT	NT	+	NT	+	+	-
				(6.2)*		(4.4)*	(5.4)*	

*: $\log_{10}(\text{copies/g of dust})$ 、 NT: 試験未実施

表7 得られた単クローン抗体の交叉性 (ELISA法による)

	MAb	Antigen(VLPs)					
		GI		GII			GIV
		GI/1 (Mc114)	GI/5 (Akita)	GII/2 (Mc10)	GII/3 (C12)	GII/3 (Syd53)	GIV/1 (Syd3)
GI/1(Mc114)	8318	++	—	—	—	—	—
	5011	++	—	—	—	—	—
	1325	++	—	—	—	—	—
	4357	++	—	—	—	—	—
	4732	+	—	—	—	—	—
GI/5(Akita)	616	++	++	—	—	—	—
	630	++	++	—	—	—	—
	8127	++	++	+	+	+	+
GII/3(Syd53)	8030	—	—	++	++	++	—
	1015	—	—	—	++	++	—
	930	—	—	—	—	+	—
GIV/1(Syd3)	819	—	—	NT	NT	—	+
	806	—	—	NT	NT	—	+
GV/1(NK24)	1011	++	—	—	—	—	—
	6609	—	—	—	—	—	—
	4652	—	—	—	—	—	—
	1052	—	—	—	—	—	—
	563	—	—	—	—	—	—
	1496	—	—	—	—	—	—
	155	—	—	—	—	—	—
Anti-SV	8315	++	++	++	++	++	++
PBS		—	—	—	—	—	—

数値はELISA法によるOD値 (x1000)

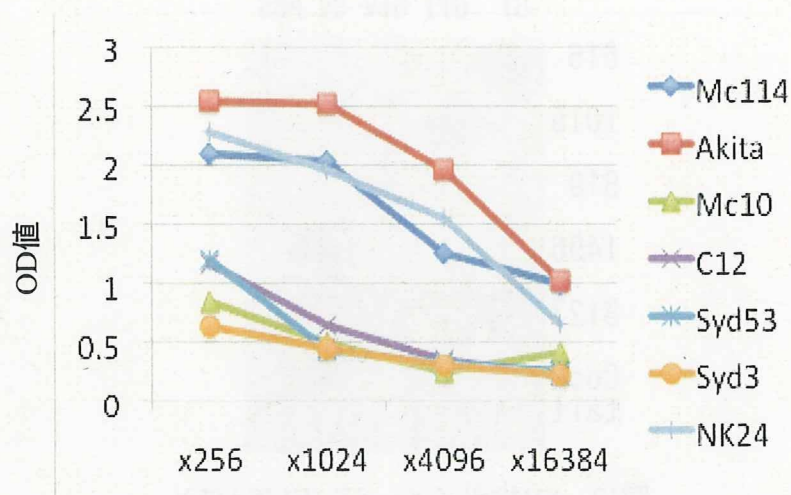


図10 各VLPsに対するMAb8127の反応性 (ELISA法)

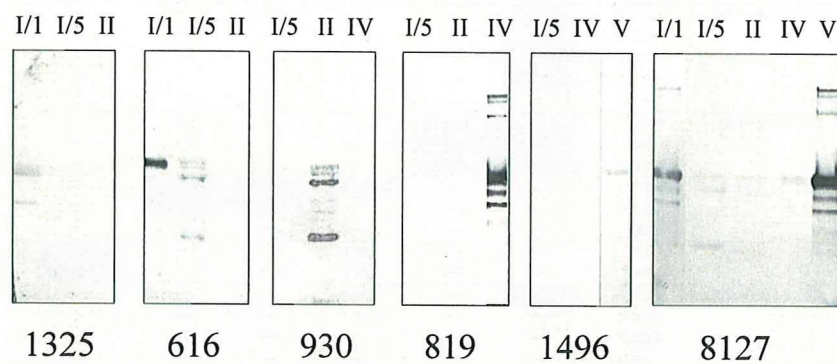


図11 主なMAbsの交叉性
(ウエスタンブロット法)

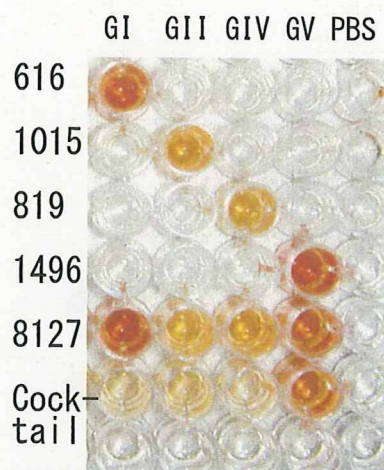


図12 SV検出イメージ (ELISA法)

Cocktail=616+1015+819+1496

図13 日本におけるGII/4亜株の年次推移

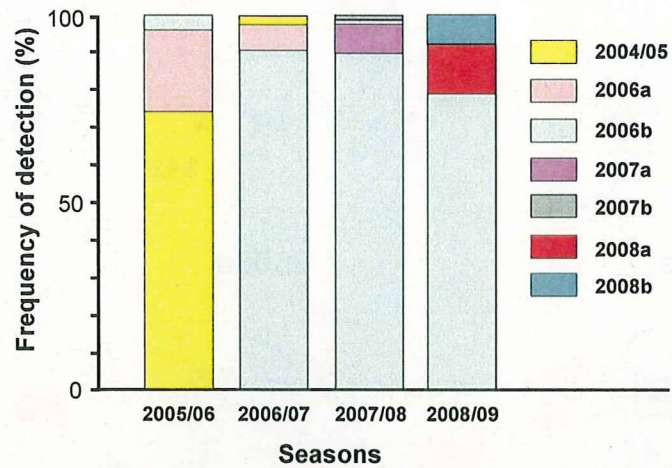
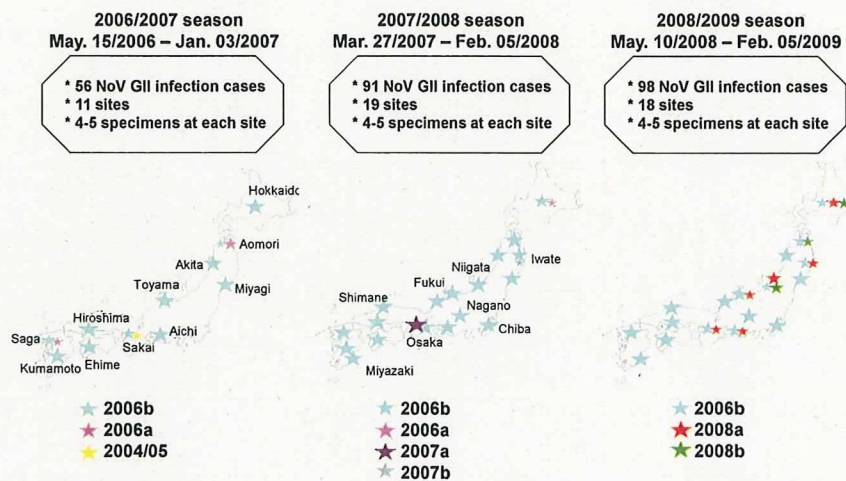


図14. 日本におけるGII/4変異型分布の推移



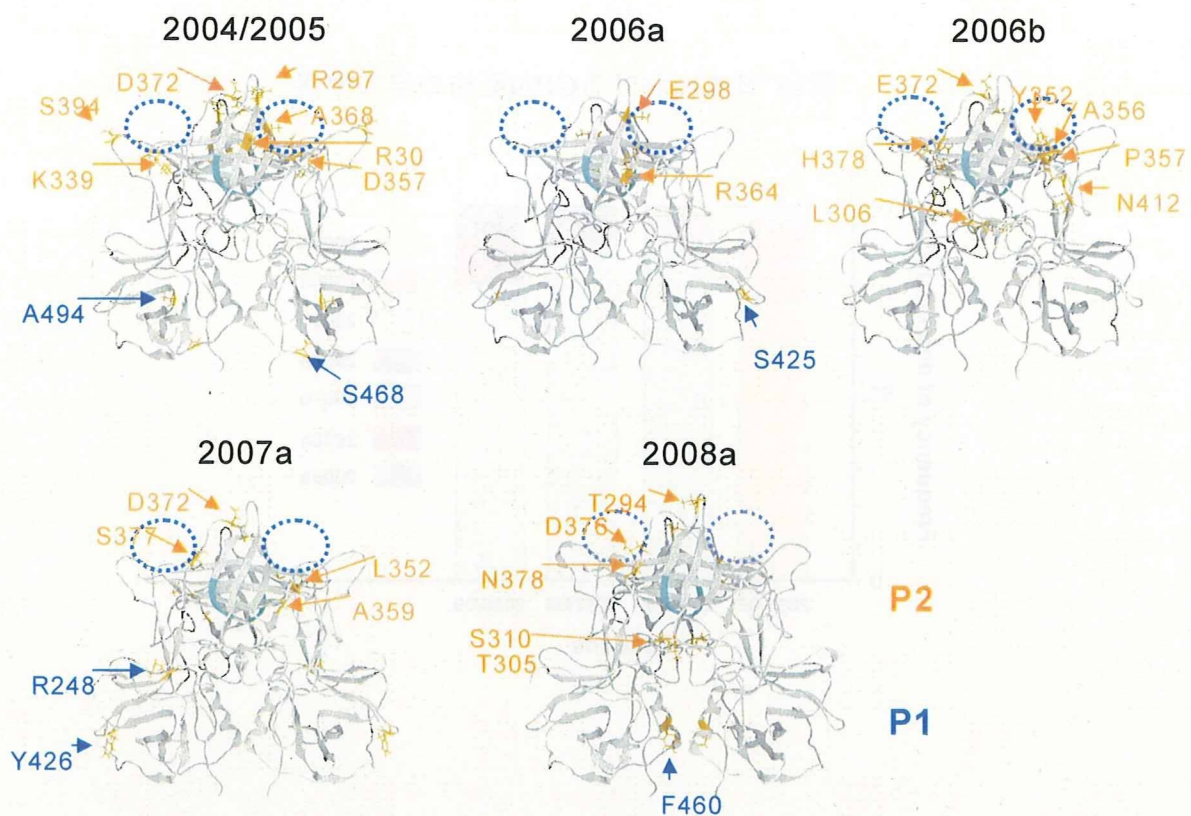
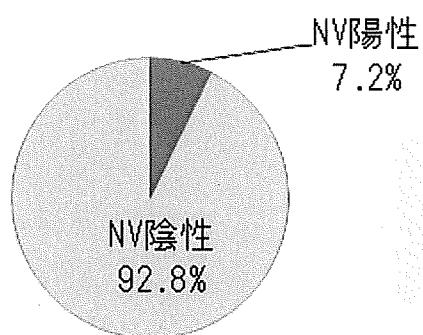


図 15. 2004 年～2009 年に国内で流行したノロウイルス GII/4 のキャプシド蛋白質 P ドメイン二量体における特徴的な残基の位置

カキ中腸腺



パック水

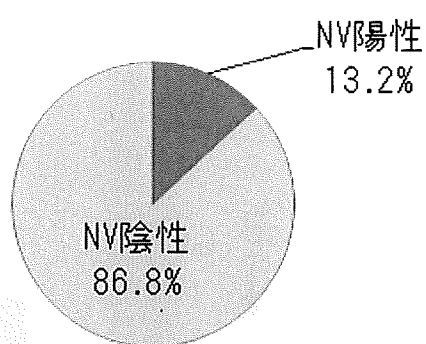


図 16 カキ中腸腺とパック水における NV 陽性の割合

表 8 NV 陽性のパック水から検出の NV 遺伝子型とカキ中腸腺 NV 検出結果の比較

NV 陽性のパック水	遺伝子型	カキ中腸腺の NV 検出結果
19P-4W	G II / 8	-
19P-6W	G II / 8	-
19P-13W	G II / 8	G II (シーケンス不可)
19P-18W	G I (シーケンス不可)	G II / 4
21P-20W	G II / 4	G I / 4 ・ G II / 4

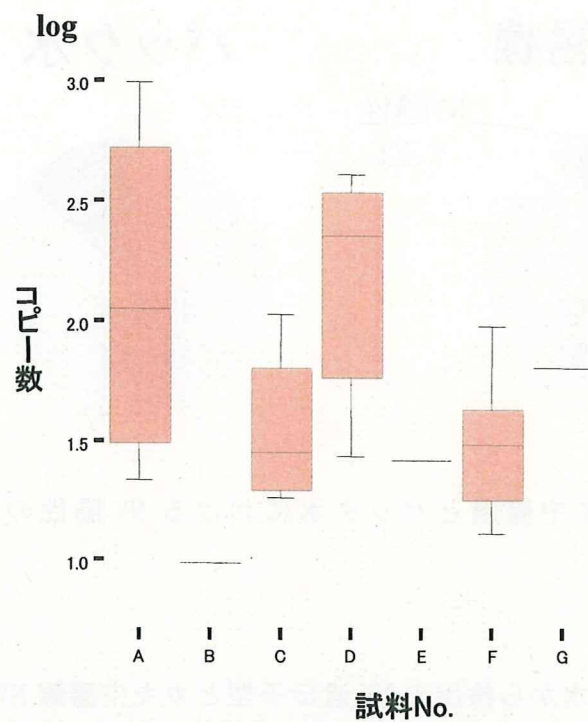


図 17 市販 1 パック中のカキに含まれる NoV 量の分布

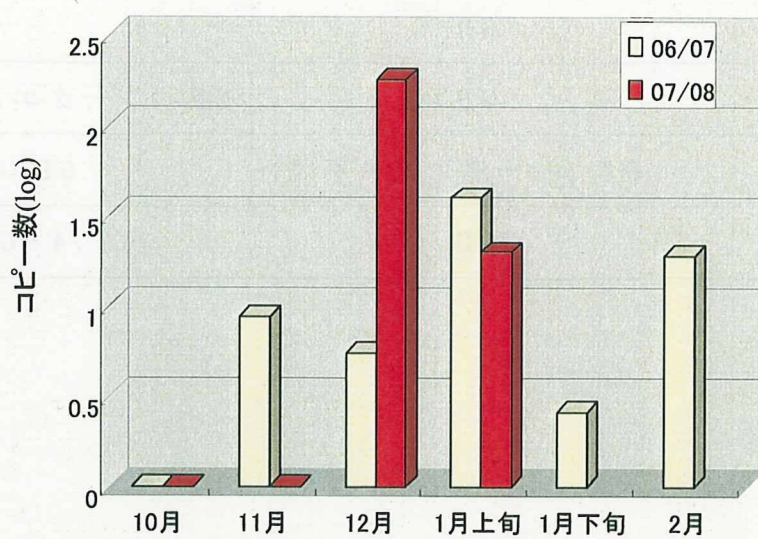


図 18 養殖場カキにおける NoV 量の経時推移

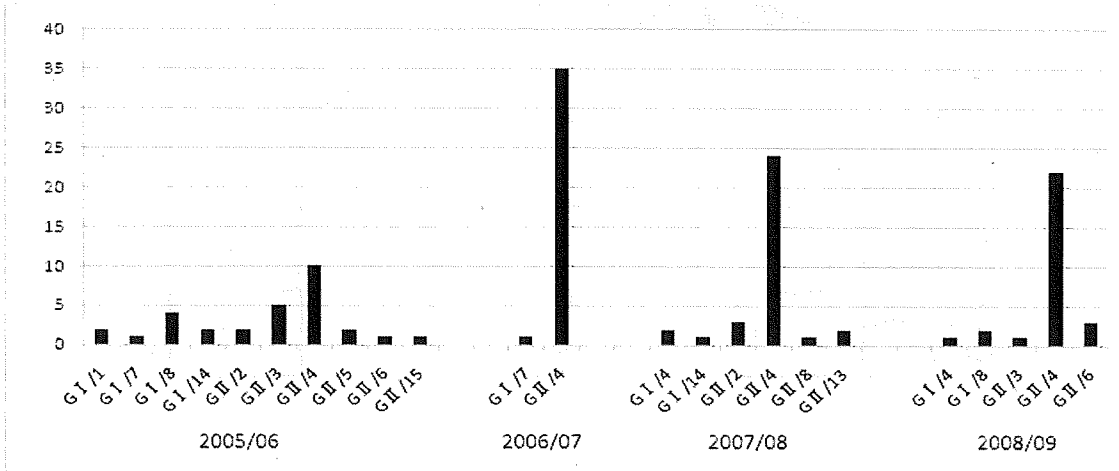


図 19 シーズン別 NV 遺伝子型

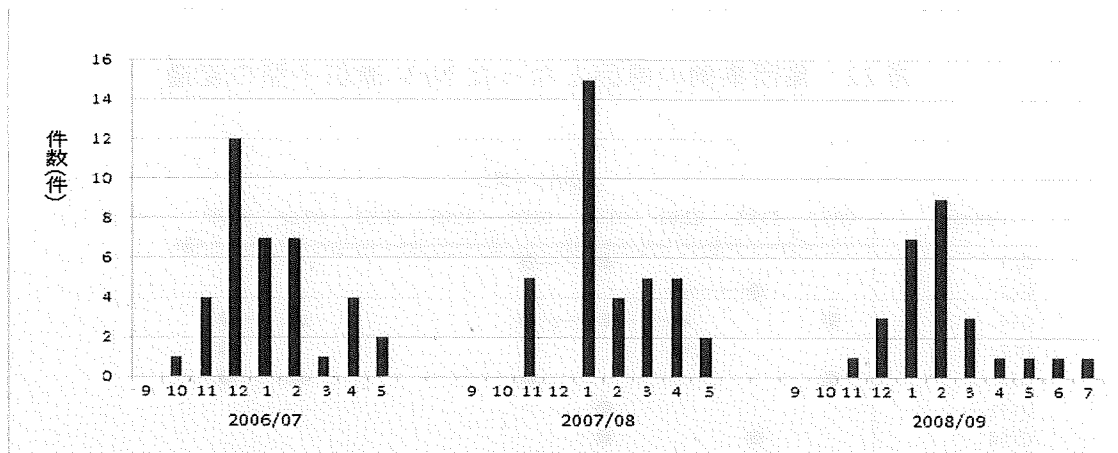


図 20 シーズン別・月別 NV 集団事例数

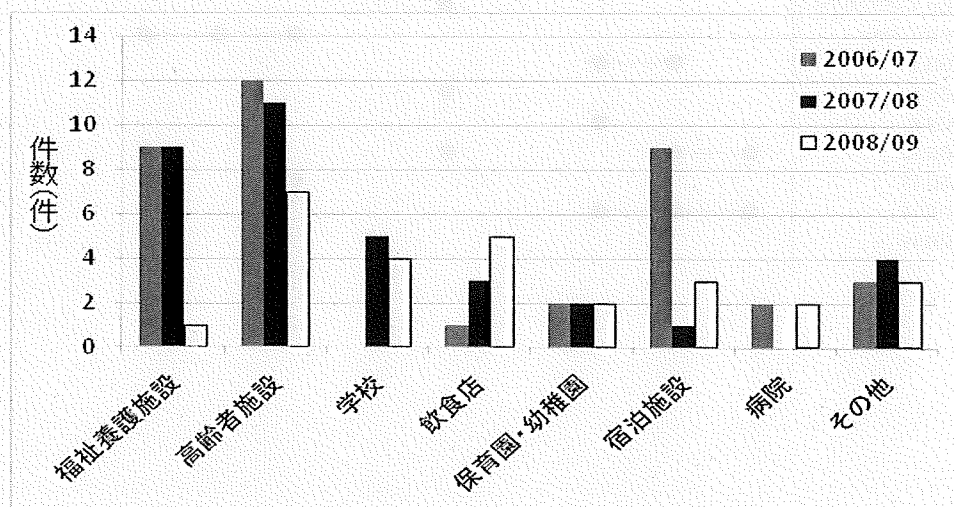


図 21 NV 集団事例発生施設の種類と

表 9. GII/4 亜型の検出状況

GII/4亜型		2006a	2008a	2006b	2008b	計
08/09シーズン	2008年9月- 2009年3月	0	1	55	1	57
	2009年4月- 2009年8月	0	0	4	1	5
09/10シーズン	2008年9月- 2010年1月	0	6	11	0	17

図 22 集団事例の原因となった NoV 遺伝子型の変遷

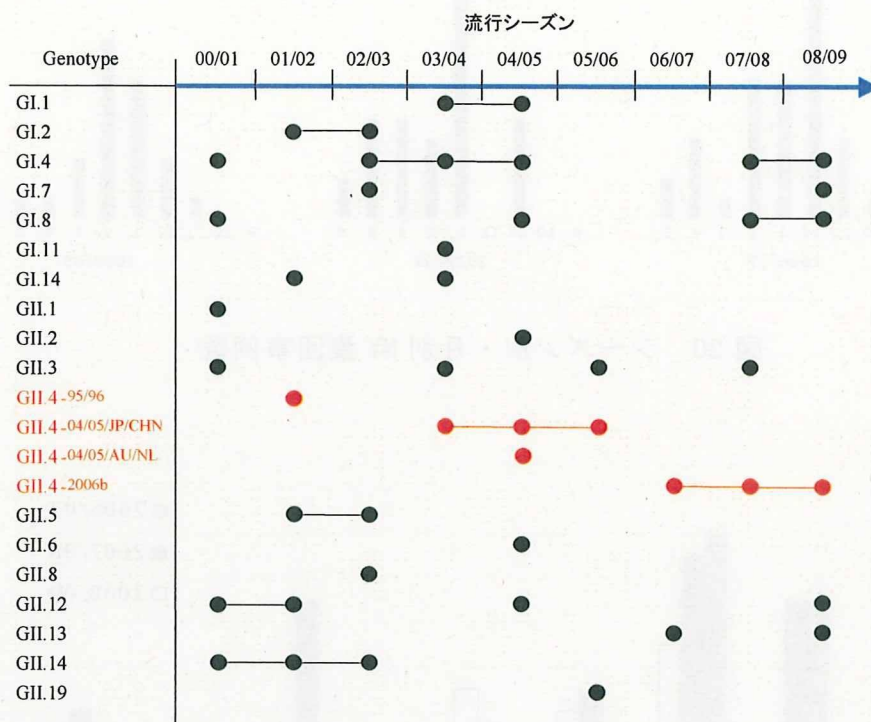


表 10 N/S ドメインにおけるアミノ酸モチーフの年代順の変化

モチーフ	流行シーズン							
	2001/02	2002/03	2003/04	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09
NNTQ	2							
NSTQ			3	8	4			
NTTQ				2				
NNAT						10	3	
SNAQ						1	1	
NSAQ						1		
NNAQ						28	9	5

モチーフは6, 9, 15および45番目のアミノ酸残基を示す。
数字は事例数を示す。

表 11 VP1 領域 296-298, 393-395 および 412-414 番目の
アミノ酸モチーフの年代順の変化

変異型	アミノ酸残基位置・モチーフ		
	296-298	393-395	412-414
95/96	SHD	N-N	TGH
2004/JP/CHN	TRT	SS(A/T)	TVH
2004/NL/AU	TQN	STT	DSH
2006a ^a	TQE	STT	DSH
2006b	(S/T)RN	(G/S)TT	NV(H/P)
2007/Jp ^b	SRN	STT	TGH
2007/NL ^c	SRN	DTA	NNH

^aHu/GII.4/Terneuzen70/2006/NL (GenBank accession number EF126964)

^bHu/OC07138/07/Jp (AB434770)

^cHu/GII.4/Apeldoorn317/2007/NL(AB445395)

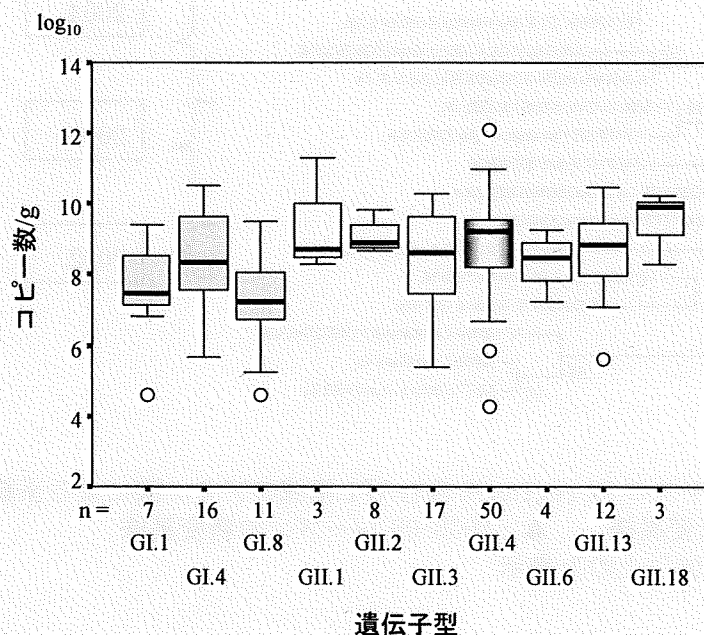


図 23 糞便中に排泄されるウイルス量の遺伝子型別の比較

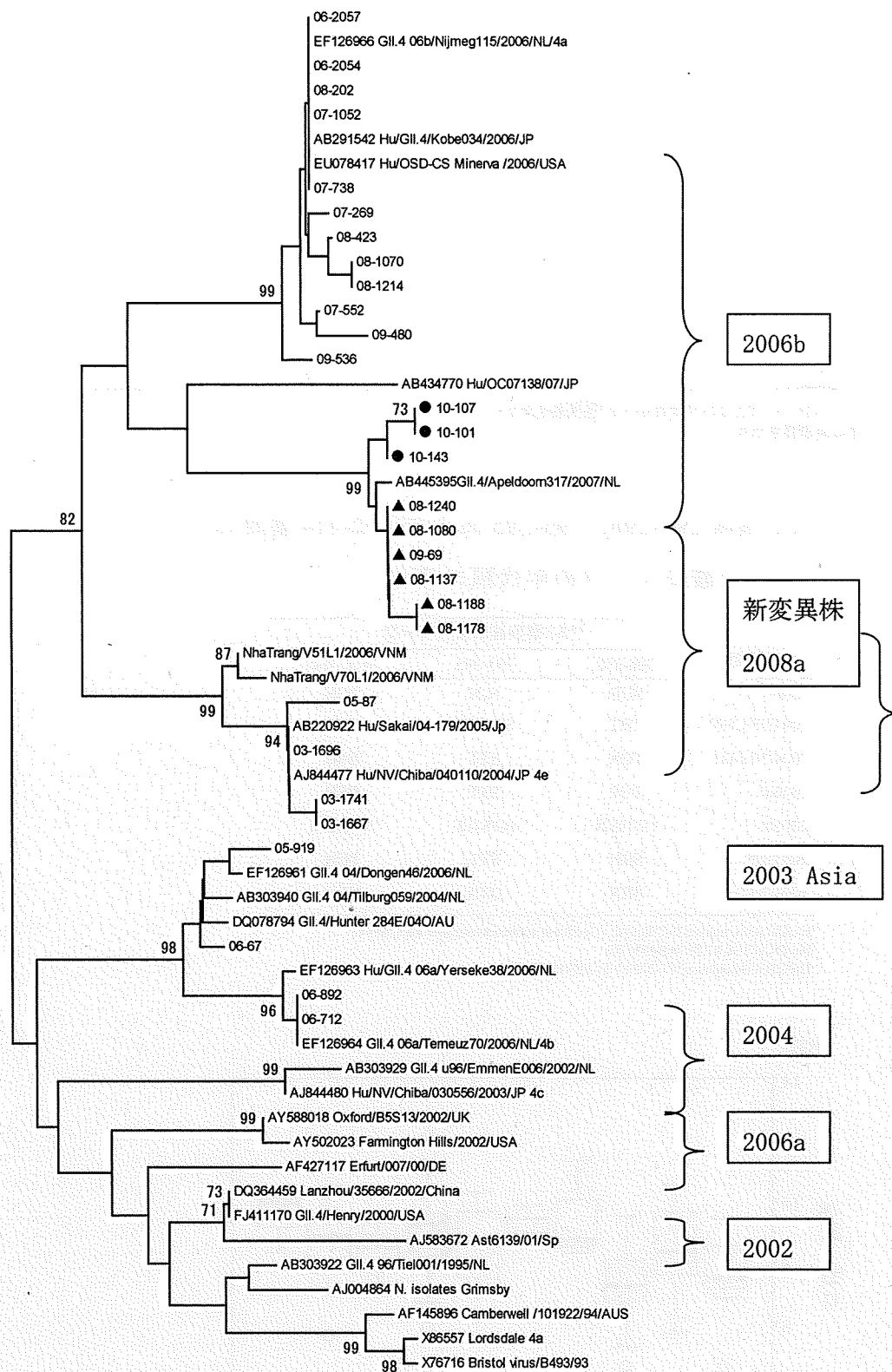


図 24 GII.4 ノロウイルスの P2 region を含む VP1 領域のアミノ酸による系統樹
 ● : 2010 年の新変異株 ▲ : 2008-09 シーズンの新変異株
 Bootstrap 値は 70% 以上のみ表示

表 12 GII.4 ノロウイルス変異株の抗原エпитープと推測される部位のアミノ酸配列の相違

Epitope	A(SiteB*)			B		C		D(SiteA*)			E	
	393	394	395	340	376	296	372	296	297	298	329	355
GII.4.1987	D	-	H	A	Q	S	N	S	H	D	K	S
GII.4.1997	G	-	N	E	Q	S	N	S	H	D	K	S
VA387 N -	N	-	N	E	Q	S	N	S	H	D	K	T
GII.4.2002a	N	G	T	G	E	T	N	T	H	N	R	D
GII.4.2002	N	G	A	G	E	T	N	T	H	N	R	D
GII.4.2004	S	T	T	R	E	A	S	A	Q	N	K	S
GII.4.2005	S	S	A	G	E	T	D	T	R	T	K	S
GII.4.2006a	S	T	T	R	E	T	S	T	Q	E	K	S
GII.4.2006b	S	T	T	G	E	S	E	S	R	N	K	S
GII.4.2006b	S	T	T	G	E	S	E	S	R	D	K	S
GII.4.2006b	G	T	T	G	E	S	E	S	R	N	K	S
GII.4.2008a	D	T	A	A	D	S	D	S	R	N	K	S
GII.4.2008a	D	T	A	A	D	S	D	S	R	N	K	S
GII.4.2008a-2	N	T	A	A	D	S	D	S	R	N	K	S

Donaldson ら (Immunol Rev. 225:190-211. 2008) の表 4 を改変した。

* Allen (PLoS ONE. 23;3(1):e1485. 2008) らの Site A 及び Site B に該当。

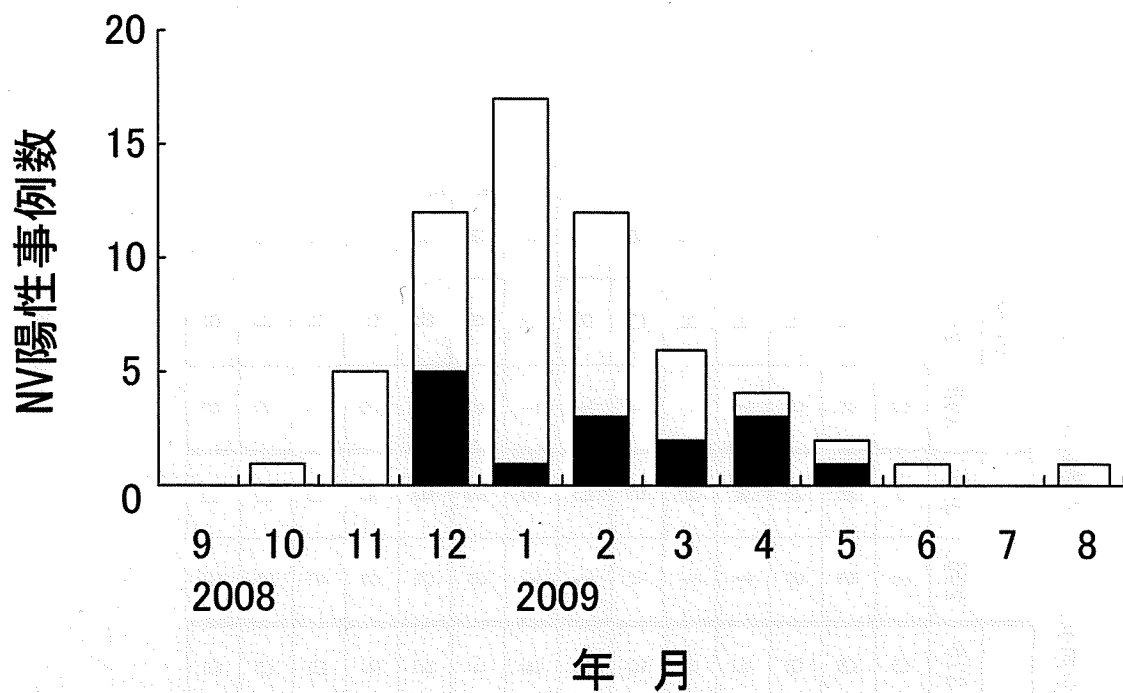


図 25 大阪市における胃腸炎事例からの月別 NV 検出状況
 ■ GII.6 型、□ その他の遺伝子型

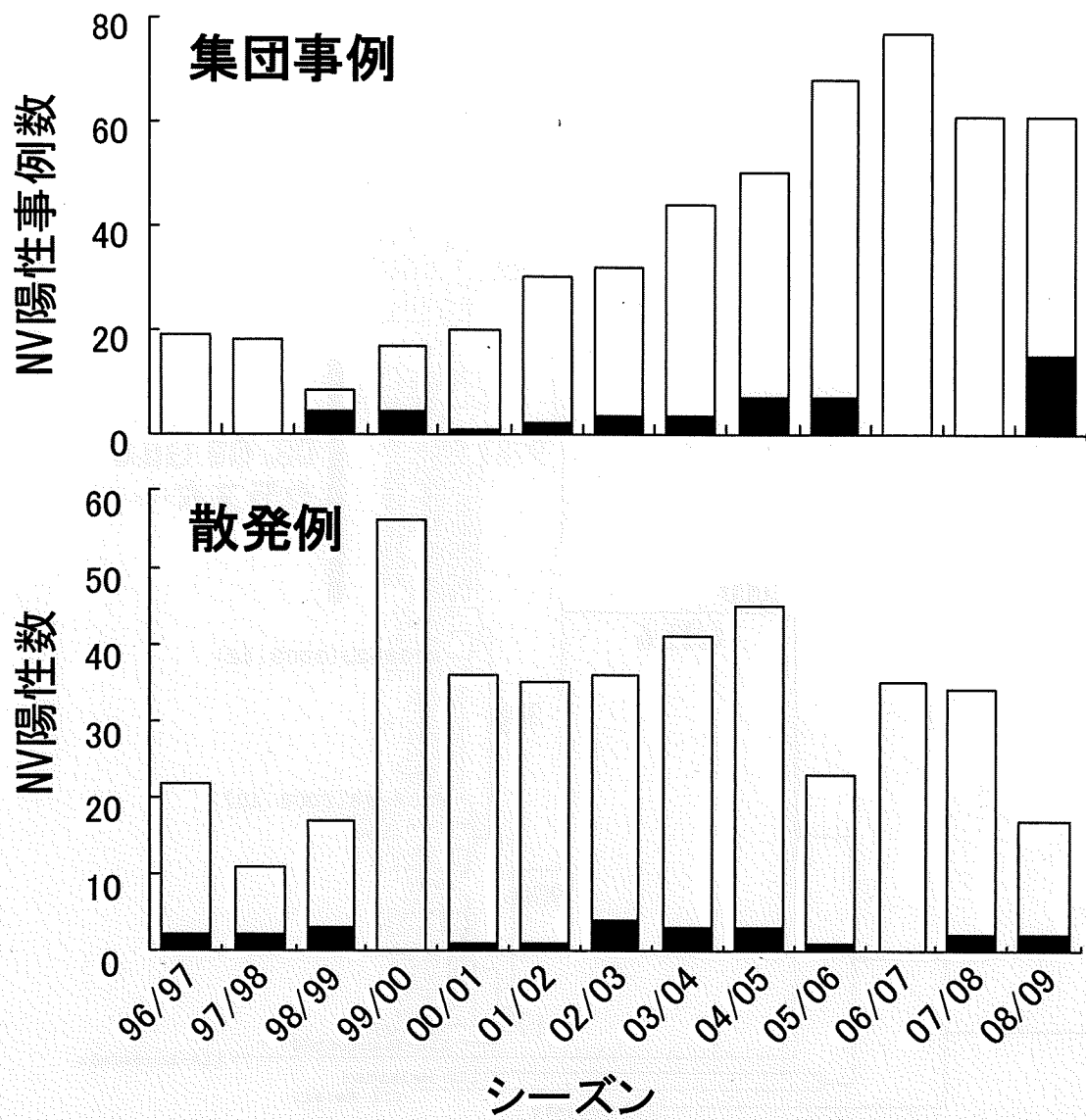


図 26 大阪市における GII.6 型 NV 検出状況
 ■ GII.6 型、□ その他の遺伝子型