

図2. エスケープミュータント作製に使用した MAb が示す親株（望月株）とミュータントに対する中和・増強活性バランスの比較。(A) D1-IV-1C8、(B) D1-V-8E8。DENV1 望月株 (◆)、ミュータント実験群 (■)。破線は、中和活性及び感染増強活性を判定するボーダーラインを表す。

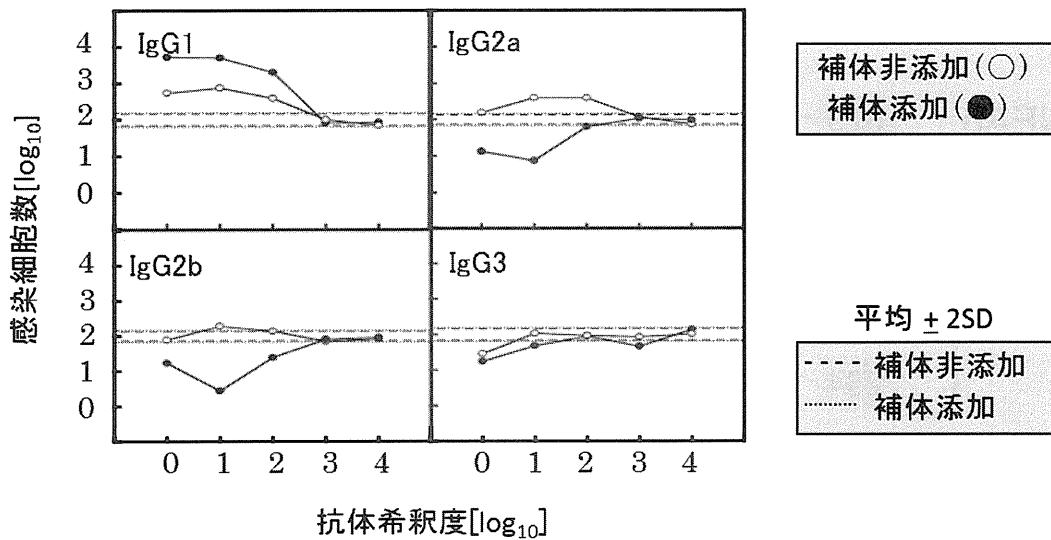


図3. 抗体エンジニアリングにより作製した D1-I-11G12 の各アイソタイプが DENV1 望月株に対して示す中和・増強活性のバランス。

厚生労働省新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
「節足動物媒介感染症の効果的な防除等の対策研究」

チクングニア熱 IgM 抗体検査キットの評価

研究分担者 高崎智彦（国立感染症研究所、ウイルス第一部 室長）

協力研究者 池田真紀子、モイ メンリン、小滝 徹、田島 茂、林 昌宏
（国立感染症研究所ウイルス第一部）

倉根一郎（国立感染症研究所 副所長）

チクングニア熱は、2011年2月1日の感染症法収載以来、10例のチクングニア熱輸入症例が報告された。チクングニア熱輸入症例は2006年の第1例から28例であるが、急性症状が治まっても関節痛が持続することで病院を受診する場合も多い。このため抗体検査が重要である。特に IgM 抗体検査が重要になってくるが、チクングニアウイルスは BSL3 のウイルスであるため、IgM 捕捉 ELISA のためのウイルス抗原をどこの施設でも用意できるわけではない。我々は、世界において商業ベースで入手（輸入）可能な抗チクングニアウイルス IgM 抗体検査キットを評価した。しかし、イムノクロマト法による迅速キットは3キットともいずれも感度は低かった。また、IgM 捕捉 ELISA キットは、ロット間の特異性に問題があり、偽陽性きたす場合があった。今回、評価したチクングニアウイルス IgM 抗体検査キットは、いずれも実験室診断に用いるに堪えるものではなかった。

A. 目的

チクングニア熱は、平成23年2月1日より感染症法に全数把握の4類感染症として診断後ただちに届け出ることが医師に義務付けられた。また、同時に検疫感染症として検疫法に規定された。チクングニア熱は、臨床症状がデング熱と類似し、流行地域も東南アジア、南アジア、アフリカとデング熱と重なることから実験室診断が重要となってくる。特にチクングニア熱は急性症状が治まっても関節痛が続くため、急性期を過ぎて病院を受診する患者も多く、その場合は抗体検査が重要である。

そこで、比較的早期に検出できる IgM 抗体検査キットを評価した。

B. 方法

評価したキットは、以下の4つのキットである。いずれも輸入品であり、日本国内で認可されたものではない。

- 1) Chikungunya (CHIKV) IgM; Millenium Biotechnology, Inc., USA/SA.
- 2) Chikungunta (IgM) Test (Cassette); AZOG, Inc., NJ USA.
- 3) Chikungunya IgG/IgM Test

(Cassette); biocam Diagnostic Inc. BC Canada.

以上はイムノクロマト法を利用した迅速診断キットである。検査法は 3 キットともほぼ同じであり、それぞれのキットのプロトコルに基づいて検査は実施したが、例として Chikungunya IgG/IgM Test (Cassette)について簡単に記載する。

- ① Cassette を室温に戻す。
- ② Cassette を水平な台の上に置き、サンプルウェルに血清あるいは血漿の場合は、 $10\mu\text{L}$ を入れる。全血の場合は $20\mu\text{L}$ を滴下する。
- ③ 同じウェルにバッファーを 4 滴滴下する。
- ④ 赤いバンドが見えるまで待ち、滴下後 30 分で判定する。

4) NovaLisa™ Chikungunya Virus IgM μ -capture ELISA; NovaTec Immundiagnostica GmbH. Diezenbach, Germany は IgM 抗体捕捉 ELISA キットである。検査はキットのプロトコルに基づいて実施した。

C. 結果

1) イムノクロマトキット

日本のチクングニア熱輸入症例の血清を用いて評価したが、in house IgM 捕捉 ELISA キットで陽性、回復期血清で抗チクングニア中和抗体陽性の血清に対して、反応しないあるいは、バンドが極めて薄いなど十分な感度を示さなかった。

2) IgM 抗体捕捉 ELISA キット (表 1)

(NovaLisa™) では検体 10-57/1 は in house kit では陰性でその後の中和抗体検査でもチクングニア熱ではなかった検体

であるが、本キットでは判定保留となった。

10-23/1 は in house kit では判定保留、10-23/2 は陽性となった症例の検体であったが本検体に関しては結果が一致した。本キットの陽性コントロールの OD 値は 0.652 であるのに対して、Cut off 血清の OD 値は 0.585 と 0.589 であり、非常にわずかな差であり Cut off の OD 値の微妙な変動が判定結果に及ぼす影響が大きいことが示唆された。実際本キットの次のロットでは、検体 10-57/1 は陽性の判定結果となった。

D. 考察

チクングニアウイルス IgM 抗体検査キットで使用が可能な商業ベースのキットは見いだせなかった。イムノクロマト法を用いた迅速診断法キットは、デングウイルスに対するキットにおいても感度、特異性に関して満足のものはない。したがって、まずは IgM 捕捉 ELISA キットに関して評価するほうが効率的である。今回評価した IgM 捕捉 ELISA キット (NovaLisa™) もヒトの診断用として使用に堪えるものではなかったが、今後新たなキットが販売されることが予想されている。入手出来しだい評価したい。

チクングニアウイルスは、トガウイルス科アルファウイルスに属するウイルスであり、抗アルファウイルス IgG 抗体を有する日本人は稀である。この点が、日本脳炎ウイルスと交差反応を示すデングウイルスとは異なり、IgG 抗体検査 (IgG ELISA 法) もペア-血清がそろった症例では有用である。今後、商業ベースの抗チクングニアウイルス IgG ELISA キットの評価する

必要がある。

E. 結論

今回の評価では信頼のおける抗チクングニアウイルス IgM 抗体検査キットは確認されなかった。入手でき次第他のキットも評価するが、今後、*in house* キットを普及させるためには、チクングニアウイルス抗原のレコンビナント化などを考慮する必要がある。また、チクングニアウイルスは、トガウイルス科アルファウイルスに属するウイルスであり、抗アルファウイルス IgG 抗体を有する日本人は稀であることから、今後は抗チクングニアウイルス IgG 抗体キットを評価する予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

1) 国際学会

1. Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Detection of higher levels of dengue viremia using FcγR-expressing BHK

-21 cells than FcγR negative cells in serum samples from patients with secondary infection but not in those with primary infection. IV International Congress on Virology, Sapporo, Japan, 2011年9月

2. Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Antibody-dependent enhancement of dengue virus infection: revisit of antibody response and viremia in dengue patients using FcγR-expressing BHK cells. 45th Joint Working Conference on Immunology and Viral Diseases, US-Japan Cooperative Medical Science Program, California, USA, 2011年6月

2) 国内発表

なし

H. 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

表 1

		IgM 抗						
NovaTEC		検査名	体					
検体名	CHIKV							
	検査日	7月5日	OD		INDEX		判定結果	
	1	2	1	2	1	2		
A	Blank	10-55/1	0.155	0.423	0.0	6.2	Blank	Negative
B	Neg	10-55/1	0.258	0.433	2.4	6.4	Neg	Negative
C	cut off	10-56/1	0.585	0.398	10.0	5.6	cut off	Negative
D	cut off	10-56/1	0.589	0.391	10.0	5.5	cut off	Negative
E	posi	10-57/1	0.652	0.623	11.5	10.8	posi	Equivocal
F	10-50/1	10-57/1	0.357	0.618	4.7	10.7	Negative	Equivocal
G	10-50/2	10-23/1	0.335	0.613	4.2	10.6	Negative	Equivocal
H	10-50/2	10-23/2	0.366	1.582	4.9	33.0	Negative	Positive

Index=(Sample OD)/(Cut off OD)x10; Index は 1.1 以上を陽性、0.9 未満を陰性、0.9 以上を 1.1 未満を判定保留とする。

10-57/1 は *in house kit* では陰性

10-23/1 は *in house kit* では判定保留

10-23/2 は *in house kit* では陽性

本キットの陽性コントロールの OD 値は 0.652 であるのに対して、Cut off 血清の OD 値は 0.585 と 0.589 であり、非常にわずかな差であり Cut off の OD 値の微妙な変動が判定結果に及ぼす影響が大きいことが示唆された。

厚生労働省新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
節足動物媒介感染症の効果的な防除等の対策研究
(H21-新興-一般-005)

分担研究報告書

FcγR 発現細胞を用いたデング熱患者血清における抗体依存性感染増強(ADE)活性の
検討に関する研究

研究分担者 倉根一郎 (国立感染症研究所・副所長)
協力研究者 高崎智彦 (国立感染症研究所ウイルス第一部・室長)
モイメンリン (国立感染症研究所ウイルス第一部・研究官)

研究要旨

本研究ではこれまでに確立したデングウイルス血清学的検査法(抗体依存性感染増強(ADE)アッセイ法および新規中和試験法)が感染増強活性を含んだ中和抗体の検出に使用可能かを検討した。この検査法を用いてデング熱流行地の患者および住民の 80 検体を検討した。その結果、デング熱再感染患者と確認された 18 検体のうち 11 検体は、感染したウイルスの血清型に対する中和能を非 FcγR 発現細胞を用いて検出可能であったが、FcγR 発現細胞では検出されなかった。さらに、再感染患者 10 検体においては、複数の血清型に対する交叉中和能が非 FcγR 発現細胞にて検出されたが、FcγR 発現細胞では 1 つのウイルス血清型のみに対する中和抗体が検出された。非 FcγR 発現細胞によって測定された中和抗体活性は感染増強活性が考慮されない状態で測定されていることから、デングウイルスの体内ターゲットである FcγR を有する細胞に対する抗体の機能が反映されていない可能性が考えられる。

A. 研究目的

デング熱・デング出血熱は、近年世界の熱帯・亜熱帯地域に拡大しており、公衆衛生上大きな問題となっている。デングウイルスは 4 つの血清型が存在する。感染したウイルスの血清型に対する防御免疫は終生持続するが、他の血清型に対する防御免疫能は不完全なものである。初感染時に誘導された非中和交差抗体が再感染時に他の血清型の感染

ウイルスを増強させることが致死性の高いデング出血熱の発症機序の一要因とされている。感染時に誘導された抗体は 2 つの相反生物活性を有し、「感染増強活性」は症状を悪化させる一要因となる。一方、「中和活性」は感染防御につながるかとされている。ワクチンがいまだに実用化されていない背景には、① デングウイルスに対する防御免疫が解明されていないこと、② ワクチンの接種によって誘導

された抗体が感染増強作用を保有し、症状を悪化させる可能性があることがあげられる。抗体のデングウイルスに対する中和活性は、通常、非 FcγR 発現細胞によって測定されている。しかし、従来の方法は非 FcγR 発現細胞において中和活性が検出することが可能であっても、デングウイルスの体内における標的細胞である monocyte/macrophage など FcγR 発現細胞に対する感染増強活性を同時に検出することが不可能である。本研究では、いままで確立し FcγR 発現 BHK 細胞が中和能を有するデング患者血清における感染増強活能の検出・測定に使用可能かを検討した。

B. 研究方法

患者血清: マレーシアのペラ州在住の 80 人から 80 検体の血清を採取した。ペラ州は、マレーシアの北部にあり、デングウイルス以外にも他のフラビウイルス（日本脳炎ウイルス等）の流行が報告されている。

ウイルスと細胞培養: デングウイルス中和試験および ADE 試験においては DENV-1(NIID01-44 株), DENV-2(TLC30 株), DENV-3 (CH53649 株), DENV-4(TVP360 株)を用いた。ウイルス中和試験および感染増強(ADE)試験にはヒト Fcγ 受容体 (FcγRIIA,CD32a)発現 BHK-21 細胞および BHK-21 細胞を用いた。

中和価試験および感染増強アッセイ: デングウイルスの中和試験は FcγR 発現 BHK 細胞および非 FcγR 発現 BHK を用いた 50%プラーク減少法ならびに感染増強(ADE)アッセイにて検討した。マレーシアの住民 80 人から採取した血清を非動化し、10 倍希釈後 2 倍階段希

釈(1:10-1:2560)を行った。希釈した血清とウイルスを混合後、37°C、1 時間反応を行った。各ウイルス-反応液を FcγR 発現 BHK 細胞および非 FcγR 発現 BHK に接種し、37°C、1 時間吸着後、1.0%メチルセルロースを加え、37°C で 5 日間培養した。ホルマリンによる固定 1 時間後、メチレンブルーを用いて細胞を 1 時間染色し、ウイルス中和抗体価およびウイルス力価を算出した。デングウイルス遺伝子は RT-PCR 法にて検出した。

C. 研究結果

マレーシアの住民から採取した 80 検体を検討した。25 (25/80)検体においてはデングウイルス遺伝子が検出され、そのうち 18 (18/25) 検体では同時にデングウイルス IgG 抗体および中和抗体も検出された。うち 7(7/18)検体から DENV1 遺伝子が検出され、11(11/18)検体から DENV3 遺伝子が検出された。このことから、18 人は再感染のデングウイルス感染であることが示唆された。55 (55/80) 検体においては、ウイルス遺伝子が検出されなかった。FcγR 発現細胞を用いた ADE アッセイ法により 1:10 希釈した血清の 75% (60/80)は中和活性とともに感染増強抗体を有することが示された。再感染患者 18 人のうち 11(11/18)検体は、感染されたウイルス血清型に対する中和能 (PRNT \geq 10)が非 FcγR 発現細胞にて検出されたが FcγR 発現細胞では検出されなかった。非 FcγR 発現細胞を用いたところ、18 検体中 7 検体においては DENV2 のみに対する中和能が検出され、11 検体においては複数の血清に対する中和能を有していた。13 検体(13/18) においては DENV2 のみに対する中和能が FcγR 発現細胞にて検出された。2 検体(2/18)においては DENV1 に対する中和抗体が FcγR 発現細

胞にて検出された。興味深いことに、10 検体 (10/18)は、感染されたウイルス血清型に対する中和抗体を非 FcγR 発現細胞にて検出したが、FcγR 発現細胞では中和能が検出されなかった。

DENV1 患者血清における感染増強活性を検討したところ、DENV1=0.7-5.6, DENV2=<0.1-2.1, DENV3=0.9-4.9, DENV4=1.1-7.0. DENV3 患者における感染増強活性は、DENV1=<0.1-5.5, DENV2= <0.1-2.3, DENV3=0.6-6.7, DENV4=0.9-7.1. 以上の結果により、再感染患者血清における抗体は、感染したウイルスの血清型に対する感染増強活性を有することが示唆された。

D. 考察

本研究では、抗デングウイルス抗体における非 FcγR 発現細胞によって測定された中和抗体価と FcγR 発現細胞によって検出された ADE 活性との関連を検討した。デングウイルス流行地であるマレーシアのペラ州の住民から採取された血清においては検体の 75% (60/80)が中和活性および ADE 活性を有する。非 FcγR 発現細胞による測定された中和抗体価は FcγR 発現細胞より高価である。再感染患者 8 検体においては、非 FcγR 発現細胞によって検出された中和抗体が複数のウイルス血清型に対する中和能を有する。しかし、FcγR 発現細胞を用いたところ、DENV2 型のみに対する中和能(1:10->1:1280)が検出され、血清型間の交叉中和活性 (cross-reactive neutralizing activity)による中和能が検出されなかった。このことによって、感染増強活性は、中和活性を低下させる可能性があることが示唆された。

再感染の患者 11 人において感染したウイルス型に対する中和活性が非 FcγR 発現細胞

にて検出された(PRNT50=1:10-1:80)。しかし、FcγR 発現細胞を用いたところ、中和抗体が検出されなかった。この結果により、FcγR 発現細胞のみに感染性を有する抗体-ウイルス複合体が感染時に存在することが示唆された。

E. 結論

初感染によって誘導された中和抗体は感染された同血清型に対する中和能が終生持続する。デング熱流行地の住民血清における中和・感染増強活性を検討したところ、FcγR 発現細胞のみにて検出された感染増強活性が非 FcγR 発現細胞にて検出された中和活性を低減させることが明らかとなった。非 FcγR 発現細胞にて検出された中和活性を有しないまたは中和活性の低い抗体においては、感染増強活性が検出された。これまでに確立した FcγR 発現細胞を用いて、感染増強活性および中和活性を同時に測定しうる新規中和試験法を確立した。以上の結果により、非 FcγR 発現細胞によって測定された中和抗体活性は感染増強活性が考慮されない状態で検討されたことから、生体における抗体の機能を反映していない可能性があることが示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. [Moi ML](#), [Lim CK](#), [Chua KB](#), [Takasaki T](#), [Kurane I](#). Dengue virus infection-enhancing activity in serum samples with neutralizing activity as determined by using FcγR-expressing cells. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *in press*, 2012.

2. Ujiie M, Moi ML, Kobayashi T, Takeshita N, Kato Y, Takasaki T, Kanagawa S. Dengue virus type-3 infection in a traveler returning from Benin to Japan. *Journal of Travel Medicine*, *in press*, 2012.
3. Takasaki T, Kotaki A, Tajima S, Omatsu T, Harada F, Lim CK, Moi ML, Ito M, Ikeda M, Kurane I. Demographic features of imported dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Japan from 2006 to 2009. *Dengue Bulletin*, *in press*, 2012.
4. モイメンリン, 高崎智彦. 感染症迅 速診断キットの有用性と限界:デング熱. *小児科*, 2012.
5. Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Detection of higher levels of dengue viremia using FcγR-expressing BHK-21 cells than FcγR negative cells in secondary infection but not in primary infection. *Journal of Infectious Diseases*, 203(10):1405-14, 2011.
6. Moi ML, Lim CK, Tajima S, Kotaki A, Saijo M, Takasaki T, Kurane I. Dengue virus isolation relying on antibody-dependent enhancement mechanism using FcγR-expressing BHK cells and a monoclonal antibody with infection-enhancing capacity. *Journal of Clinical Virology* 52(3):225-30, 2011.
7. Ujiie M, Moi ML, Takeda N. Dengue maculopathy in a traveler. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 85(6):965-6, 2011.
8. Omatsu T, Moi ML, Hirayama T, Takasaki T, Nakamura S, Tajima S, Ito M, Yoshida T, Saito A, Katakai Y, Akari H, Kurane I. Common marmoset (*Callithrix jacchus*) as a primate model of dengue virus infection: development of high levels of viremia and demonstration of protective immunity. *Journal of General Virology*. 92:2272-80, 2011.
9. モイメンリン, 高崎智彦, 岩越一, 坂本光男, 小林謙一郎, 氏家無限. アフリカからのデング熱輸入症例. *Infectious Agents Surveillance Report*, 32 (6), 164 – 165, 2011.
10. モイメンリン. クロアチアにおけるデング熱の流行. *Infectious Agents Surveillance Report*, 32 (6), 165 – 167, 2011.
11. モイメンリン, 高崎智彦. デング熱・デング出血熱. *小児感染症学*. 508 – 511, 2011.
12. Moi ML, Takasaki T, Kotaki A, Tajima S, Lim CK, Sakamoto M, Iwagoe H, Kobayashi K, Kurane I. Importation of dengue virus type 3 to Japan from Tanzania and Cote d'Ivoire. *Emerging Infectious Diseases*. 16(11):1770-2, 2010.

2. 学会発表

1) 国際学会

1. Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Detection of higher levels of dengue viremia using FcγR-expressing BHK-21 cells than FcγR negative cells in serum samples from patients with secondary infection but not in those with primary infection. IV International Congress on Virology, Sapporo, Japan, 2011年8月

2. Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Antibody-dependent enhancement of dengue virus infection: revisit of antibody response and viremia in dengue patients using FcγR-expressing BHK cells. 45th Joint Working Conference on Immunology and Viral Diseases, US-Japan Cooperative Medical Science Program, California, USA, 2011年6月

2) 国内学会

なし

H. 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

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業）

研究分担者報告書

クリミア・コンゴ出血熱（CCHF）ウイルス中国分離株のL-遺伝子の全塩基配列の決定

研究分担者 西條政幸 国立感染症研究所ウイルス第一部長
研究協力者 山口（木下）一美 国立感染症研究所ウイルス第一部協力研究員
研究協力者 林昌宏 国立感染症研究所ウイルス第一部第三室長

研究要旨：クリミア・コンゴ出血熱（Crimean-Congo hemorrhagic fever, CCHF）は、CCHFウイルス（CCHFV）により引き起されるウイルス性出血熱で、ダニ媒介性ウイルス感染症のひとつである。CCHFVは、核蛋白をコードするS-遺伝子、膜蛋白をコードするM-遺伝子、RNAポリメラーゼをコードするL-遺伝子の3つの分節RNAを有する。CCHFの致死率は5～40%と高い。ヒトへの感染経路は、感染ダニによる刺咬やウイルス血症を伴う家畜動物との直接的接触である。本研究では、CCHF流行地のひとつである中国新疆ウイグル自治区で分離されたCCHFVの7株のL-遺伝子の全塩基配列を決定した。これまで中国分離株のS-遺伝子およびM-遺伝子の全塩基配列が決定されていたので、中国株7株のそれぞれのS-遺伝子、M-遺伝子、L-遺伝子の全塩基配列が決定された。この成績は、中国におけるCCHFVの進化、診断システム開発、分子疫学等の解析の一助をなる。また、中国以外の地域で分離されたCCHFVの中で、全遺伝子の塩基配列が決定されているCCHFVが存在する。今後、この情報を専門家間で共有することで、CCHFVに関する疫学的・基礎的研究が進むことが期待される。

A. 研究目的

クリミア・コンゴ出血熱（Crimean-Congo hemorrhagic fever, CCHF）は、ブニヤウイルス科ナイロウイルス属に分類される陰性鎖一本鎖RNAウイルスであるCCHFVによる比較的致死率が高い感染症である。*Hyalomma* 属ダニや *Ixodes* 属のダニに維持されており、ヒトはCCHFV感染ダニに咬まれたり、ウイルス血症を伴う哺乳動物（ヒツジ等）と接触し

たりして感染する。その臨床症状は、発熱、多臓器不全、出血傾向、等である。CCHFの致死率は5～40%と高く、我が国の感染症法では1類感染症に指定されている。

本研究では、1967年から1984年の間に中国新疆ウイグル自治区のCCHF患者、ダニ、および、小動物（long eared jerboa, オオミミトビネズミ）から分離されたCCHFVのL-遺伝子の全塩基配列を決定した。

B. 研究方法

- 1) CCHFV 中国分離株. 中国分離株 7 株の株名等の特徴を表 1 にまとめた. 各株をそれぞれ乳のみマウスの脳内に接種し, 脳乳剤を作製した. 次いでそれをサンプルとして, ランダムプライマーを用いてリバーストランスクリプションにより cDNA を作製した. 尚, この作業は中国 CDC との共同研究でなされた.
- 2) CCHFV 中国分離株の L-遺伝子塩基配列の決定. これまで報告されている CCHFV の L-遺伝子の塩基配列をもとに, プライマーを適当に設計し, 各 CCHFV サンプルから得られた cDNA をテンプレートとしてダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した. 3' -側および 5' -側の塩基は RACE 法によりその塩基配列を決定した.

(倫理面からの配慮について)

特記事項なし.

C. 研究結果

- 1) CCHFV 中国分離株 7 株の L-遺伝子は 12156 塩基からなり, コードされている RNA ポリメラーゼは, 3946 個のアミノ酸からなっている (図 1). アミノ酸配列には, 高い相同性が認められる.

D. 考察

CCHFV 中国分離株の 7 株の L-遺伝子の全塩基配列を決定した. この成績は, 世界における CCHFV の分子疫学的解析, CCHFV の進化の

解析, 診断法の開発等に役立つものと考えられる.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Fukushi, S., Nakauchi, M., Mizutani, T., Saijo, M., Kurane, I., Morikawa, S.: Antigen-capture ELISA for the detection of Rift Valley fever virus nucleoprotein using new monoclonal antibodies *Journal of Virological Methods* (in press)

2) Taniguchi, S., Watanabe, S., Masangkay, J.S., Omatsu, T., Ikegami, T., Alviola, P., Ueda, N., Iha, K., Fujii, H., Ishii, Y., Mizutani, T., Fukushi, S., Saijo, M., Kurane, I., Kyuwa, S., Akashi, H., Yoshikawa, Y., Morikawa, S.: Reston ebolavirus antibodies in Bats, the Philippines. *Emerging Infectious Diseases* 17:1559-1560, 2011

3) 西條政幸: バイオテロリズムに用いられる可能性のある病原体と国立感染症研究所における対応: 出血熱ウイルスと痘瘡ワクチン. *日本犯罪学会雑誌* 77:63-66, 2011

2. 学会発表

- 1) Saijo, M., Ami, Y., Suzaki, Y., Nagata, N., Yoshikawa-(Iwata), N., Hasegawa, H., Fukushi, S., Mizutani, T., Sata, T., Kurane, I., Morikawa, S.: Immune responses against EEV and IMV in non-human primates infected with monkeypox virus or vaccinated with a highly attenuated smallpox vaccine LC16m8 and protection from lethal monkeypox. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan (2011.09)
- 2) Lim, C.K., Ami, Y., Fujii, Y., Moi, M.L., Kitaura, K., Kotaki, A., Morikawa, S., Saijo, M., Suzuki, R., Kurane, I., Takasaki, T.: Pathogenesis of epidemic chikungunya virus in nonhuman primates. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan (2011.09)
- 3) Sayama, Y, Fukushi, S, Saito, M, Taniguchi, S., Iizuka, I., Mizutani, T., Kurane, I., Saijo, M.: A serological survey of *reston ebolavirus* infection in swine during epizootic in 2008 in the Philippines. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan (2011.09)
- 4) Taniguchi, S., Watanabe, S., Iha, K., Fukushi, S., Mizutani, T., Saijo, M., Kurane, I., Kyuwa, S., Akashi, H., Yoshikawa, Y., Morikawa, S.: The detection of reston ebolavirus antibodies in wild bats in the Philippines. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan (2011.09)
- H. 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

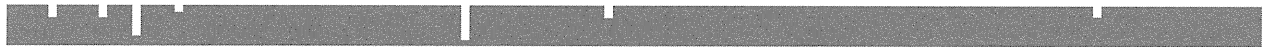
表 1. 本研究で使用された CCHFV 中国分離株

分離株	分離された年	分離された地域	分離元
66019	1966	Bachu	患者
7001	1970	Bachu	患者
75024	1975	Aksu	患者
7803	1978	Bachu	患者
79121	1979	Bachu	オオミミトビネズ ミ
8402	1984	Bachu	ダニ
88016	1988	Bachu	患者

strain2aa_7803 MFFLRNLDTQVIAGQYVTPRFNISDYFEIVRQPGDGNCFYHSIAELTMPNKTDSYHNKIKHLEVAARKYQEBPEAKLIGLSLEDYLKRLMSDNEWGSTLEASMLAKEMGVITIIWVAASDEVAGIKFGDGVFTAVNLLHSGQT 150
 strain6aa_75024 MFFLRNLDTQVIAGQYVTPRFNISDYFEIVRQPGDGNCFYHSIAELTMPNKTDSYHNKIKHLEVAARKYQEBPEAKLIGLSLEDYLKRLMSDNEWGSTLEASMLAKEMGVITIIWVAASDEVAGIKFGDGVFTAVNLLHSGQT 150
 strain5aa_66019 MFFLRNLDTQVIAGQYVTPRFNISDYFEIVRQPGDGNCFYHSIAELTMPNKTDSYHNKIKHLEVAARKYQEBPEAKLIGLSLEDYLKRLMSDNEWGSTLEASMLAKEMGVITIIWVAASDEVAGIKFGDGVFTAVNLLHSGQT 150
 strain3aa_88166 MFFLRNLDTQVIAGQYVTPRFNISDYFEIVRQPGDGNCFYHSIAELTMPNKTDSYHNKIKHLEVAARKYQEBPEAKLIGLSLEDYLKRLMSDNEWGSTLEASMLAKEMGVITIIWVAASDEVAGIKFGDGVFTAVNLLHSGQT 150
 strain4aa_8402 MFFLRNLDTQVIAGQYVTPRFNISDYFEIVRQPGDGNCFYHSIAELTMPNKTDSYHNKIKHLEVAARKYQEBPEAKLIGLSLEDYLKRLMSDNEWGSTLEASMLAKEMGVITIIWVAASDEVAGIKFGDGVFTAVNLLHSGQT 150
 strain1aa_7001 MFFLRNLDTQVIAGQYVTPRFNISDYFEIVRQPGDGNCFYHSIAELTMPNKTDSYHNKIKHLEVAARKYQEBPEAKLIGLSLEDYLKRLMSDNEWGSTLEASMLAKEMGVITIIWVAASDEVAGIKFGDGVFTAVNLLHSGQT 150
 strain7aa_79121 MFFLRNLDTQVIAGQYVTPRFNISDYFEIVRQPGDGNCFYHSIAELTMPNKTDSYHNKIKHLEVAARKYQEBPEAKLIGLSLEDYLKRLMSDNEWGSTLEASMLAKEMGVITIIWVAASDEVAGIKFGDGVFTAVNLLHSGQT 150
 1.....10.....20.....30.....40.....50.....60.....70.....80.....90.....100.....110.....120.....130.....140.....150



strain2aa_7803 HFDALRILPQFEADTRGTLSLVKVIADVQLFSSSSDRLQDYEDLALALTAEEFYRRSSLDVLTLSKQQAHLRQASQSKLVNKSQNPFRVGRVLDLQVFNCKLVEISADTLILRPSKRIEIVMSLRQLGHKLLTRDKQIKQEF 300
 strain6aa_75024 HFDALRILPQFEADTRGTLSLVKVIADVQLFSSSSDRLQDYEDLALALTAEEFYRRSSLDVLTLSKQQAHLRQASQSKLVNKSQNPFRVGRVLDLQVFNCKLVEISADTLILRPSKRIEIVMSLRQLGHKLLTRDKQIKQEF 300
 strain5aa_66019 HFDALRILPQFEADTRGTLSLVKVIADVQLFSSSSDRLQDYEDLALALTAEEFYRRSSLDVLTLSKQQAHLRQASQSKLVNKSQNPFRVGRVLDLQVFNCKLVEISADTLILRPSKRIEIVMSLRQLGHKLLTRDKQIKQEF 300
 strain3aa_88166 HFDALRMLPQFEADTRGTLSLVKVIADVQLFSSSSDRLQDYEDLALALTAEEFYRRSSLDVLTLSKQQAHLRQASQSKLVNKSQNPFRVGRVLDLQVFNCKLVEISADTLILRPSKRIEIVMSLRQLGHKLLTRDKQIKQEF 300
 strain4aa_8402 HFDALRMLPQFEADTRGTLSLVKVIADVQLFSSSSDRLQDYEDLALALTAEEFYRRSSLDVLTLSKQQAHLRQASQSKLVNKSQNPFRVGRVLDLQVFNCKLVEISADTLILRPSKRIEIVMSLRQLGHKLLTRDKQIKQEF 300
 strain1aa_7001 HFDALRILPQFEADTRGTLSLVKVIADVQLFSSSSDRLQDYEDLALALTAEEFYRRSSLDVLTLSKQQAHLRQASQSKLVNKSQNPFRVGRVLDLQVFNCKLVEISADTLILRPSKRIEIVMSLRQLGHKLLTRDKQIKQEF 300
 strain7aa_79121 HFDALRILPQFEADTRGTLSLVKVIADVQLFSSSSDRLQDYEDLALALTAEEFYRRSSLDVLTLSKQQAHLRQASQSKLVNKSQNPFRVGRVLDLQVFNCKLVEISADTLILRPSKRIEIVMSLRQLGHKLLTRDKQIKQEF 300
160.....170.....180.....190.....200.....210.....220.....230.....240.....250.....260.....270.....280.....290.....300



strain2aa_7803 SRMKLVTKDLDLHLDVGGLLRAAFPFGTGERHMQLLHSEMILDICTVSLGVMLETLFGNNKNNKKKFTNCLLSTALSGKKVYKVLGNLGNELLYKAPRKALATVCGALFGKQINLQNGFRITISPVSLALRNLDLDFCLISVQDYNMG 450
 strain6aa_75024 SRMKLVTKDLDLHLDVGGLLRAAFPFGTGERHMQLLHSEMILDICTVSLGVMLETLFGNNKNNKKKFTNCLLSTALSGKKVYKVLGNLGNELLYKAPRKALATVCGALFGKQINLQNGFRITISPVSLALRNLDLDFCLISVQDYNMG 450
 strain5aa_66019 SRMKLVTKDLDLHLDVGGLLRAAFPFGTGERHMQLLHSEMILDICTVSLGVMLETLFGNNKNNKKKFTNCLLSTALSGKKVYKVLGNLGNELLYKAPRKALATVCGALFGKQINLQNGFRITISPVSLALRNLDLDFCLISVQDYNMG 450
 strain3aa_88166 SRMKLVTKDLDLHLDVGGLLRAAFPFGTGERHMQLLHSEMILDICTVSLGVMLETLFGNNKNNKKKFTNCLLSTALSGKKVYKVLGNLGNELLYKAPRKALATVCGALFGKQINLQNGFRITISPVSLALRNLDLDFCLISVQDYNMG 450
 strain4aa_8402 SRMKLVTKDLDLHLDVGGLLRAAFPFGTGERHMQLLHSEMILDICTVSLGVMLETLFGNNKNNKKKFTNCLLSTALSGKKVYKVLGNLGNELLYKAPRKALATVCGALFGKQINLQNGFRITISPVSLALRNLDLDFCLISVQDYNMG 450
 strain1aa_7001 SRMKLVTKDLDLHLDVGGLLRAAFPFGTGERHMQLLHSEMILDICTVSLGVMLETLFGNNKNNKKKFTNCLLSTALSGKKVYKVLGNLGNELLYKAPRKALATVCGALFGKQINLQNGFRITISPVSLALRNLDLDFCLISVQDYNMG 450
 strain7aa_79121 SRMKLVTKDLDLHLDVGGLLRAAFPFGTGERHMQLLHSEMILDICTVSLGVMLETLFGNNKNNKKKFTNCLLSTALSGKKVYKVLGNLGNELLYKAPRKALATVCGALFGKQINLQNGFRITISPVSLALRNLDLDFCLISVQDYNMG 450
310.....320.....330.....340.....350.....360.....370.....380.....390.....400.....410.....420.....430.....440.....450



strain2aa_7803 IENMSKLDNTVEFNHREIADLNQTSRLITLRKEKDTDLLKQWPEGNLTRRSRNVANAEFFVISEFFKDKIMKPISTSGRAMSAGKIGNVLSYAHNLYSKSSLNMTSEDIQSOLLIEIKRLYALQEDSEVEPIAII CDGIEGNMKQ 600
 strain6aa_75024 IENMSKLDNTVEFNHREIADLNQTSRLITLRKEKDTDLLKQWPEGNLTRRSRNVANAEFFVISEFFKDKIMKPISTSGRAMSAGKIGNVLSYAHNLYSKSSLNMTSEDIQSOLLIEIKRLYALQEDSEVEPIAII CDGIEGNMKQ 600
 strain5aa_66019 IENMSKLDNTVEFNHREIADLNQTSRLITLRKEKDTDLLKQWPEGNLTRRSRNVANAEFFVISEFFKDKIMKPISTSGRAMSAGKIGNVLSYAHNLYSKSSLNMTSEDIQSOLLIEIKRLYALQEDSEVEPIAII CDGIEGNMKQ 600
 strain3aa_88166 IENMSKLDNTVEFNHREIADLNQTSRLITLRKEKDTDLLKQWPEGNLTRRSRNVANAEFFVISEFFKDKIMKPISTSGRAMSAGKIGNVLSYAHNLYSKSSLNMTSEDIQSOLLIEIKRLYALQEDSEVEPIAII CDGIEGNMKQ 600
 strain4aa_8402 IENMSKLDNTVEFNHREIADLNQTSRLITLRKEKDTDLLKQWPEGNLTRRSRNVANAEFFVISEFFKDKIMKPISTSGRAMSAGKIGNVLSYAHNLYSKSSLNMTSEDIQSOLLIEIKRLYALQEDSEVEPIAII CDGIEGNMKQ 600
 strain1aa_7001 IENMSKLDNTVEFNHREIADLNQTSRLITLRKEKDTDLLKQWPEGNLTRRSRNVANAEFFVISEFFKDKIMKPISTSGRAMSAGKIGNVLSYAHNLYSKSSLNMTSEDIQSOLLIEIKRLYALQEDSEVEPIAII CDGIEGNMKQ 600
 strain7aa_79121 IENMSKLDNTVEFNHREIADLNQTSRLITLRKEKDTDLLKQWPEGNLTRRSRNVANAEFFVISEFFKDKIMKPISTSGRAMSAGKIGNVLSYAHNLYSKSSLNMTSEDIQSOLLIEIKRLYALQEDSEVEPIAII CDGIEGNMKQ 600
460.....470.....480.....490.....500.....510.....520.....530.....540.....550.....560.....570.....580.....590.....600



strain2aa_7803 LEAILPPDCARECEVLFDDIRNSPHSTAWKHALRKGTAHYGLFANFYGWQYIPEDIKPSLMILOTLFDPKFEFLDRTQLHPEFRDLTPDFSLQKRVHFRKQIPSVENVOISIDALPESEVAVVTERKMFPLPEPLSEVHSIE 750
 strain6aa_75024 LEAILPPDCARECEVLFDDIRNSPHSTAWKHALRKGTAHYGLFANFYGWQYIPEDIKPSLMILOTLFDPKFEFLDRTQLHPEFRDLTPDFSLQKRVHFRKQIPSVENVOISIDALPESEVAVVTERKMFPLPEPLSEVHSIE 750
 strain5aa_66019 LEAILPPDCARECEVLFDDIRNSPHSTAWKHALRKGTAHYGLFANFYGWQYIPEDIKPSLMILOTLFDPKFEFLDRTQLHPEFRDLTPDFSLQKRVHFRKQIPSVENVOISIDALPESEVAVVTERKMFPLPEPLSEVHSIE 750
 strain3aa_88166 LEAILPPDCARECEVLFDDIRNSPHSTAWKHALRKGTAHYGLFANFYGWQYIPEDIKPSLMILOTLFDPKFEFLDRTQLHPEFRDLTPDFSLQKRVHFRKQIPSVENVOISIDALPESEVAVVTERKMFPLPEPLSEVHSIE 750
 strain4aa_8402 LEAILPPDCARECEVLFDDIRNSPHSTAWKHALRKGTAHYGLFANFYGWQYIPEDIKPSLMILOTLFDPKFEFLDRTQLHPEFRDLTPDFSLQKRVHFRKQIPSVENVOISIDALPESEVAVVTERKMFPLPEPLSEVHSIE 750
 strain1aa_7001 LEAILPPDCARECEVLFDDIRNSPHSTAWKHALRKGTAHYGLFANFYGWQYIPEDIKPSLMILOTLFDPKFEFLDRTQLHPEFRDLTPDFSLQKRVHFRKQIPSVENVOISIDALPESEVAVVTERKMFPLPEPLSEVHSIE 750
 strain7aa_79121 LEAILPPDCARECEVLFDDIRNSPHSTAWKHALRKGTAHYGLFANFYGWQYIPEDIKPSLMILOTLFDPKFEFLDRTQLHPEFRDLTPDFSLQKRVHFRKQIPSVENVOISIDALPESEVAVVTERKMFPLPEPLSEVHSIE 750
610.....620.....630.....640.....650.....660.....670.....680.....690.....700.....710.....720.....730.....740.....750



strain2aa_7803 *****
strain6aa_75024 LVYGLIKDNLNLLANSQQQNKQLQMLRFGLMAGLSRLVCPNELGKGFSTSCRRIEDNARLQLQTSIYCSVRVDEDNIKHKKQRDLCEVVTIPCFVTVGTFVNSDRQLIFDIYNVHIYKMKDNDFEGCISVLEETAERHMLWELDLMNSL 1650
strain5aa_66019 LVYGLIKDNLNLLANSQQQNKQLQMLRFGLMAGLSRLVCPNELGKGFSTSCRRIEDNARLQLQTSIYCSVRVDEDNIKHKKQRDLCEVVTIPCFVTVGTFVNSDRQLIFDIYNVHIYKMKDNDFEGCISVLEETAERHMLWELDLMNSL 1650
strain3aa_88166 LVYGLIKDNLNLLANSQQQNKQLQMLRFGLMAGLSRLVCPNELGKGFSTSCRRIEDNARLQLQTSIYCSVRVDEDNIKHKKQRDLCEVVTIPCFVTVGTFVNSDRQLIFDIYNVHIYKMKDNDFEGCISVLEETAERHMLWELDLMNSL 1650
strain4aa_8402 LVYGLIKDNLNLLANSQQQNKQLQMLRFGLMAGLSRLVCPNELGKGFSTSCRRIEDNARLQLQTSIYCSVRVDEDNIKHKKQRDLCEVVTIPCFVTVGTFVNSDRQLIFDIYNVHIYKMKDNDFEGCISVLEETAERHMLWELDLMNSL 1650
strain1aa_7001 LVYGLIKDNLNLLANSQQQNKQLQMLRFGLMAGLSRLVCPNELGKGFSTSCRRIEDNARLQLQTSIYCSVRVDEDNIKHKKQRDLCEVVTIPCFVTVGTFVNSDRQLIFDIYNVHIYKMKDNDFEGCISVLEETAERHMLWELDLMNSL 1650
strain7aa_79121 LVYGLIKDNLNLLANSQQQNKQLQMLRFGLMAGLSRLVCPNELGKGFSTSCRRIEDNARLQLQTSIYCSVRVDEDNIKHKKQRDLCEVVTIPCFVTVGTFVNSDRQLIFDIYNVHIYKMKDNDFEGCISVLEETAERHMLWELDLMNSL 1650
.....1510.....1520.....1530.....1540.....1550.....1560.....1570.....1580.....1590.....1600.....1610.....1620.....1630.....1640.....1650

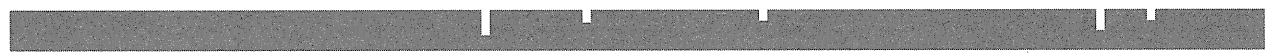
strain2aa_7803 *****
strain6aa_75024 CDEKRDRTARLLGCPNVRKAANKGKLLKLSSDTSDTQSVASEVSDRRSYSSSKSRIRSFGRYNSQKPFELRSGLEVFNDPNDYQQAITDTCQFSEYTPNKESILKDLQIIRKKNPSTMTGSEFELIQAVSEFGMSKFPFENI 1800
strain5aa_66019 CDEKRDRTARLLGCPNVRKAANKGKLLKLSSDTSDTQSVASEVSDRRSYSSSKSRIRSFGRYNSQKPFELRSGLEVFNDPNDYQQAITDTCQFSEYTPNKESILKDLQIIRKKNPSTMTGSEFELIQAVSEFGMSKFPFENI 1800
strain3aa_88166 CDEKRDRTARLLGCPNVRKAANKGKLLKLSSDTSDTQSVASEVSDRRSYSSSKSRIRSFGRYNSQKPFELRSGLEVFNDPNDYQQAITDTCQFSEYTPNKESILKDLQIIRKKNPSTMTGSEFELIQAVSEFGMSKFPFENI 1800
strain4aa_8402 CDEKRDRTARLLGCPNVRKAANKGKLLKLSSDTSDTQSVASEVSDRRSYSSSKSRIRSFGRYNSQKPFELRSGLEVFNDPNDYQQAITDTCQFSEYTPNKESILKDLQIIRKKNPSTMTGSEFELIQAVSEFGMSKFPFENI 1800
strain1aa_7001 CDEKRDRTARLLGCPNVRKAANKGKLLKLSSDTSDTQSVASEVSDRRSYSSSKSRIRSFGRYNSQKPFELRSGLEVFNDPNDYQQAITDTCQFSEYTPNKESILKDLQIIRKKNPSTMTGSEFELIQAVSEFGMSKFPFENI 1800
strain7aa_79121 CDEKRDRTARLLGCPNVRKAANKGKLLKLSSDTSDTQSVASEVSDRRSYSSSKSRIRSFGRYNSQKPFELRSGLEVFNDPNDYQQAITDTCQFSEYTPNKESILKDLQIIRKKNPSTMTGSEFELIQAVSEFGMSKFPFENI 1800
.....1660.....1670.....1680.....1690.....1700.....1710.....1720.....1730.....1740.....1750.....1760.....1770.....1780.....1790.....1800

strain2aa_7803 *****
strain6aa_75024 DRARRDPKNWVSISEVTEITSIVAPKTHMLKDCFKIILGTENKRIKVMRGLKRLKLGAISTNIEIGKRDCLBLLSTVGLTDQQRNIVNGIFEPKSLSFYHWKELVKKNIDEVLLTEDGNLIFGWLKTISSVRSGLKRLKFMNIIH 1950
strain5aa_66019 DRARRDPKNWVSISEVTEITSIVAPKTHMLKDCFKIILGTENKRIKVMRGLKRLKLGAISTNIEIGKRDCLBLLSTVGLTDQQRNIVNGIFEPKSLSFYHWKELVKKNIDEVLLTEDGNLIFGWLKTISSVRSGLKRLKFMNIIH 1950
strain3aa_88166 DRARRDPKNWVSISEVTEITSIVAPKTHMLKDCFKIILGTENKRIKVMRGLKRLKLGAISTNIEIGKRDCLBLLSTVGLTDQQRNIVNGIFEPKSLSFYHWKELVKKNIDEVLLTEDGNLIFGWLKTISSVRSGLKRLKFMNIIH 1950
strain4aa_8402 DRARRDPKNWVSISEVTEITSIVAPKTHMLKDCFKIILGTENKRIKVMRGLKRLKLGAISTNIEIGKRDCLBLLSTVGLTDQQRNIVNGIFEPKSLSFYHWKELVKKNIDEVLLTEDGNLIFGWLKTISSVRSGLKRLKFMNIIH 1950
strain1aa_7001 DRARRDPKNWVSISEVTEITSIVAPKTHMLKDCFKIILGTENKRIKVMRGLKRLKLGAISTNIEIGKRDCLBLLSTVGLTDQQRNIVNGIFEPKSLSFYHWKELVKKNIDEVLLTEDGNLIFGWLKTISSVRSGLKRLKFMNIIH 1950
strain7aa_79121 DRARRDPKNWVSISEVTEITSIVAPKTHMLKDCFKIILGTENKRIKVMRGLKRLKLGAISTNIEIGKRDCLBLLSTVGLTDQQRNIVNGIFEPKSLSFYHWKELVKKNIDEVLLTEDGNLIFGWLKTISSVRSGLKRLKFMNIIH 1950
.....1810.....1820.....1830.....1840.....1850.....1860.....1870.....1880.....1890.....1900.....1910.....1920.....1930.....1940.....1950

strain2aa_7803 *****
strain6aa_75024 SFELMPENCLFSSEEFNELIKLKLKLLNEQDEQLKQDQLLSSWIKMTACKDFASINDRVQKFIYHLSSELDNIRIQLHLSLKLKQEHPSVSTKEEVLKRLKRNFLKQHNLEIMEVNLFFAALSAPWCLHYKALESYLVHPEI 2100
strain5aa_66019 SFELMPENCLFSSEEFNELIKLKLKLLNEQDEQLKQDQLLSSWIKMTACKDFASINDRVQKFIYHLSSELDNIRIQLHLSLKLKQEHPSVSTKEEVLKRLKRNFLKQHNLEIMEVNLFFAALSAPWCLHYKALESYLVHPEI 2100
strain3aa_88166 SFELMPENCLFSSEEFNELIKLKLKLLNEQDEQLKQDQLLSSWIKMTACKDFASINDRVQKFIYHLSSELDNIRIQLHLSLKLKQEHPSVSTKEEVLKRLKRNFLKQHNLEIMEVNLFFAALSAPWCLHYKALESYLVHPEI 2100
strain4aa_8402 SFELMPENCLFSSEEFNELIKLKLKLLNEQDEQLKQDQLLSSWIKMTACKDFASINDRVQKFIYHLSSELDNIRIQLHLSLKLKQEHPSVSTKEEVLKRLKRNFLKQHNLEIMEVNLFFAALSAPWCLHYKALESYLVHPEI 2100
strain1aa_7001 SFELMPENCLFSSEEFNELIKLKLKLLNEQDEQLKQDQLLSSWIKMTACKDFASINDRVQKFIYHLSSELDNIRIQLHLSLKLKQEHPSVSTKEEVLKRLKRNFLKQHNLEIMEVNLFFAALSAPWCLHYKALESYLVHPEI 2100
strain7aa_79121 SFELMPENCLFSSEEFNELIKLKLKLLNEQDEQLKQDQLLSSWIKMTACKDFASINDRVQKFIYHLSSELDNIRIQLHLSLKLKQEHPSVSTKEEVLKRLKRNFLKQHNLEIMEVNLFFAALSAPWCLHYKALESYLVHPEI 2100
.....1960.....1970.....1980.....1990.....2000.....2010.....2020.....2030.....2040.....2050.....2060.....2070.....2080.....2090.....2100

strain2aa_7803 *****
strain6aa_75024 LDGCSKEDCKLLELDLSVSKLVCLFRDDEELTNSSSLKLGFLVYKAVLFTSNCGEPPSLSLNDGGDLDBLHKTDEKLLHQKIVFAKIGLSGNSYDFIWTQMIANSNFVCKRLTGRSTGERLPRSVRSKVIYEMVKLVGRTGMAI 2250
strain5aa_66019 LDGCSKEDCKLLELDLSVSKLVCLFRDDEELTNSSSLKLGFLVYKAVLFTSNCGEPPSLSLNDGGDLDBLHKTDEKLLHQKIVFAKIGLSGNSYDFIWTQMIANSNFVCKRLTGRSTGERLPRSVRSKVIYEMVKLVGRTGMAI 2250
strain3aa_88166 LDGCSKEDCKLLELDLSVSKLVCLFRDDEELTNSSSLKLGFLVYKAVLFTSNCGEPPSLSLNDGGDLDBLHKTDEKLLHQKIVFAKIGLSGNSYDFIWTQMIANSNFVCKRLTGRSTGERLPRSVRSKVIYEMVKLVGRTGMAI 2250
strain4aa_8402 LDGCSKEDCKLLELDLSVSKLVCLFRDDEELTNSSSLKLGFLVYKAVLFTSNCGEPPSLSLNDGGDLDBLHKTDEKLLHQKIVFAKIGLSGNSYDFIWTQMIANSNFVCKRLTGRSTGERLPRSVRSKVIYEMVKLVGRTGMAI 2250
strain1aa_7001 LDGCSKEDCKLLELDLSVSKLVCLFRDDEELTNSSSLKLGFLVYKAVLFTSNCGEPPSLSLNDGGDLDBLHKTDEKLLHQKIVFAKIGLSGNSYDFIWTQMIANSNFVCKRLTGRSTGERLPRSVRSKVIYEMVKLVGRTGMAI 2250
strain7aa_79121 LDGCSKEDCKLLELDLSVSKLVCLFRDDEELTNSSSLKLGFLVYKAVLFTSNCGEPPSLSLNDGGDLDBLHKTDEKLLHQKIVFAKIGLSGNSYDFIWTQMIANSNFVCKRLTGRSTGERLPRSVRSKVIYEMVKLVGRTGMAI 2250
.....2110.....2120.....2130.....2140.....2150.....2160.....2170.....2180.....2190.....2200.....2210.....2220.....2230.....2240.....2250

strain2aa_7803 LQQAFAPQALNVEHRFYAVLAPKAGLGGARDLLVQETGTRVMHATTEMFSSRLNLTTSDDGLNPHLKEALLNVGLDGLNRRNLGKPISEGSNLVNFYKVICISGDNFKWGFHCCSFFSGMMQVLRVDFWCSFKLTFIKNLGRQ 2400
strain6aa_75024 LQQAFAPQALNVEHRFYAVLAPKAGLGGARDLLVQETGTRVMHATTEMFSSRLNLTTSDDGLNPHLKEALLNVGLDGLNRRNLGKPISEGSNLVNFYKVICISGDNFKWGFHCCSFFSGMMQVLRVDFWCSFKLTFIKNLGRQ 2400
strain5aa_66019 LQQAFAPQALNVEHRFYAVLAPKAGLGGARDLLVQETGTRVMHATTEMFSSRLNLTTSDDGLNPHLKEALLNVGLDGLNRRNLGKPISEGSNLVNFYKVICISGDNFKWGFHCCSFFSGMMQVLRVDFWCSFKLTFIKNLGRQ 2400
strain3aa_88166 LQQAFAPQALNVEHRFYAVLAPKAGLGGARDLLVQETGTRVMHATTEMFSSRLNLTTSDDGLNPHLKEALLNVGLDGLNRRNLGKPISEGSNLVNFYKVICISGDNFKWGFHCCSFFSGMMQVLRVDFWCSFKLTFIKNLGRQ 2400
strain4aa_8402 LQQAFAPQALNVEHRFYAVLAPKAGLGGARDLLVQETGTRVMHATTEMFSSRLNLTTSDDGLNPHLKEALLNVGLDGLNRRNLGKPISEGSNLVNFYKVICISGDNFKWGFHCCSFFSGMMQVLRVDFWCSFKLTFIKNLGRQ 2400
strain1aa_7001 LQQAFAPQALNVEHRFYAVLAPKAGLGGARDLLVQETGTRVMHATTEMFSSRLNLTTSDDGLNPHLKEALLNVGLDGLNRRNLGKPISEGSNLVNFYKVICISGDNFKWGFHCCSFFSGMMQVLRVDFWCSFKLTFIKNLGRQ 2400
strain7aa_79121 LQQAFAPQALNVEHRFYAVLAPKAGLGGARDLLVQETGTRVMHATTEMFSSRLNLTTSDDGLNPHLKEALLNVGLDGLNRRNLGKPISEGSNLVNFYKVICISGDNFKWGFHCCSFFSGMMQVLRVDFWCSFKLTFIKNLGRQ 2400
.....2260.....2270.....2280.....2290.....2300.....2310.....2320.....2330.....2340.....2350.....2360.....2370.....2380.....2390.....2400



strain2aa_7803 VEIPAGSIRKILNVLRYKLCSEKGGVEQHSSEDLRKLVDNLDSDWGDNDTVKFLVITVYISKGLMALNSYNHMGQGIHHATSSVLSLAAVLFEELTIFLYLKRSLPQTTHVHAGSSDDYAKCIVVGTILSKELYSOYDETFWKHACRLKN 2550
strain6aa_75024 VEIPAGSIRKILNVLRYKLCSEKGGVEQHSSEDLRKLVDNLDSDWGDNDTVKFLVITVYISKGLMALNSYNHMGQGIHHATSSVLSLAAVLFEELTIFLYLKRSLPQTTHVHAGSSDDYAKCIVVGTILSKELYSOYDETFWKHACRLKN 2550
strain5aa_66019 VEIPAGSIRKILNVLRYKLCSEKGGVEQHSSEDLRKLVDNLDSDWGDNDTVKFLVITVYISKGLMALNSYNHMGQGIHHATSSVLSLAAVLFEELTIFLYLKRSLPQTTHVHAGSSDDYAKCIVVGTILSKELYSOYDETFWKHACRLKN 2550
strain3aa_88166 VEIPAGSIRKILNVLRYKLCSEKGGVEQHSSEDLRKLVDNLDSDWGDNDTVKFLVITVYISKGLMALNSYNHMGQGIHHATSSVLSLAAVLFEELTIFLYLKRSLPQTTHVHAGSSDDYAKCIVVGTILSKELYSOYDETFWKHACRLKN 2550
strain4aa_8402 VEIPAGSIRKILNVLRYKLCSEKGGVEQHSSEDLRKLVDNLDSDWGDNDTVKFLVITVYISKGLMALNSYNHMGQGIHHATSSVLSLAAVLFEELTIFLYLKRSLPQTTHVHAGSSDDYAKCIVVGTILSKELYSOYDETFWKHACRLKN 2550
strain1aa_7001 VEIPAGSIRKILNVLRYKLCSEKGGVEQHSSEDLRKLVDNLDSDWGDNDTVKFLVITVYISKGLMALNSYNHMGQGIHHATSSVLSLAAVLFEELTIFLYLKRSLPQTTHVHAGSSDDYAKCIVVGTILSKELYSOYDETFWKHACRLKN 2550
strain7aa_79121 VEIPAGSIRKILNVLRYKLCSEKGGVEQHSSEDLRKLVDNLDSDWGDNDTVKFLVITVYISKGLMALNSYNHMGQGIHHATSSVLSLAAVLFEELTIFLYLKRSLPQTTHVHAGSSDDYAKCIVVGTILSKELYSOYDETFWKHACRLKN 2550
.....2410.....2420.....2430.....2440.....2450.....2460.....2470.....2480.....2490.....2500.....2510.....2520.....2530.....2540.....2550



strain2aa_7803 FFAAVQCCQKDSAKILVSDCFLEFYSEFMMGYRVTFAVIRKFMFTGLINSVSTSPQSLMQACQVSSQAMYNVPLVNTAFTLLRQIIFFNHVEDFIRRYGILTLGLTSPFGRLEFVPTYSGLVSSAVALDEAVIARAQTLHMNSVS 2700
strain6aa_75024 FFAAVQCCQKDSAKILVSDCFLEFYSEFMMGYRVTFAVIRKFMFTGLINSVSTSPQSLMQACQVSSQAMYNVPLVNTAFTLLRQIIFFNHVEDFIRRYGILTLGLTSPFGRLEFVPTYSGLVSSAVALDEAVIARAQTLHMNSVS 2700
strain5aa_66019 FFAAVQCCQKDSAKILVSDCFLEFYSEFMMGYRVTFAVIRKFMFTGLINSVSTSPQSLMQACQVSSQAMYNVPLVNTAFTLLRQIIFFNHVEDFIRRYGILTLGLTSPFGRLEFVPTYSGLVSSAVALDEAVIARAQTLHMNSVS 2700
strain3aa_88166 FFAAVQCCQKDSAKILVSDCFLEFYSEFMMGYRVTFAVIRKFMFTGLINSVSTSPQSLMQACQVSSQAMYNVPLVNTAFTLLRQIIFFNHVEDFIRRYGILTLGLTSPFGRLEFVPTYSGLVSSAVALDEAVIARAQTLHMNSVS 2700
strain4aa_8402 FFAAVQCCQKDSAKILVSDCFLEFYSEFMMGYRVTFAVIRKFMFTGLINSVSTSPQSLMQACQVSSQAMYNVPLVNTAFTLLRQIIFFNHVEDFIRRYGILTLGLTSPFGRLEFVPTYSGLVSSAVALDEAVIARAQTLHMNSVS 2700
strain1aa_7001 FFAAVQCCQKDSAKILVSDCFLEFYSEFMMGYRVTFAVIRKFMFTGLINSVSTSPQSLMQACQVSSQAMYNVPLVNTAFTLLRQIIFFNHVEDFIRRYGILTLGLTSPFGRLEFVPTYSGLVSSAVALDEAVIARAQTLHMNSVS 2700
strain7aa_79121 FFAAVQCCQKDSAKILVSDCFLEFYSEFMMGYRVTFAVIRKFMFTGLINSVSTSPQSLMQACQVSSQAMYNVPLVNTAFTLLRQIIFFNHVEDFIRRYGILTLGLTSPFGRLEFVPTYSGLVSSAVALDEAVIARAQTLHMNSVS 2700
.....2560.....2570.....2580.....2590.....2600.....2610.....2620.....2630.....2640.....2650.....2660.....2670.....2680.....2690.....2700



strain2aa_7803 IQSSSLTFLDSLGRSRTSSTVEDSSVSDDTVASHDSGSSSSSFFELNRLPSETELOFIKALNSLKTQACEVIQNRITGLYCNSEGPLDRHNVYSSRMADSCDWLRDGRKRNLELANRISQVLGVLIAGYRSFGGCTEKQVKA 2850
strain6aa_75024 IQSSSLTFLDSLGRSRTSSTVEDSSVSDDTVASHDSGSSSSSFFELNRLPSETELOFIKALNSLKTQACEVIQNRITGLYCNSEGPLDRHNVYSSRMADSCDWLRDGRKRNLELANRISQVLGVLIAGYRSFGGCTEKQVKA 2850
strain5aa_66019 IQSSSLTFLDSLGRSRTSSTVEDSSVSDDTVASHDSGSSSSSFFELNRLPSETELOFIKALNSLKTQACEVIQNRITGLYCNSEGPLDRHNVYSSRMADSCDWLRDGRKRNLELANRISQVLGVLIAGYRSFGGCTEKQVKA 2850
strain3aa_88166 IQSSSLTFLDSLGRSRTSSTVEDSSVSDDTVASHDSGSSSSSFFELNRLPSETELOFIKALNSLKTQACEVIQNRITGLYCNSEGPLDRHNVYSSRMADSCDWLRDGRKRNLELANRISQVLGVLIAGYRSFGGCTEKQVKA 2850
strain4aa_8402 IQSSSLTFLDSLGRSRTSSTVEDSSVSDDTVASHDSGSSSSSFFELNRLPSETELOFIKALNSLKTQACEVIQNRITGLYCNSEGPLDRHNVYSSRMADSCDWLRDGRKRNLELANRISQVLGVLIAGYRSFGGCTEKQVKA 2850
strain1aa_7001 IQSSSLTFLDSLGRSRTSSTVEDSSVSDDTVASHDSGSSSSSFFELNRLPSETELOFIKALNSLKTQACEVIQNRITGLYCNSEGPLDRHNVYSSRMADSCDWLRDGRKRNLELANRISQVLGVLIAGYRSFGGCTEKQVKA 2850
strain7aa_79121 IQSSSLTFLDSLGRSRTSSTVEDSSVSDDTVASHDSGSSSSSFFELNRLPSETELOFIKALNSLKTQACEVIQNRITGLYCNSEGPLDRHNVYSSRMADSCDWLRDGRKRNLELANRISQVLGVLIAGYRSFGGCTEKQVKA 2850
.....2710.....2720.....2730.....2740.....2750.....2760.....2770.....2780.....2790.....2800.....2810.....2820.....2830.....2840.....2850



strain2aa_7803 SLNRDDNKIIEDEPMIQIPEKLRRLERLGVSRMEVDLMPISIPDDTLAGVAKKILSLNVSTEYSABVSRKQPTLARNVHLGLAGGKELSLPIYTFMKSFFFKDNVFLSLDRWSTKHSNTYRDSCKGQLGRIITPKYTHWLD 3000
strain6aa_75024 SLNRDDNKIIEDEPMIQIPEKLRRLERLGVSRMEVDLMPISIPDDTLAGVAKKILSLNVSTEYSABVSRKQPTLARNVHLGLAGGKELSLPIYTFMKSFFFKDNVFLSLDRWSTKHSNTYRDSCKGQLGRIITPKYTHWLD 3000
strain5aa_66019 SLNRDDNKIIEDEPMIQIPEKLRRLERLGVSRMEVDLMPISIPDDTLAGVAKKILSLNVSTEYSABVSRKQPTLARNVHLGLAGGKELSLPIYTFMKSFFFKDNVFLSLDRWSTKHSNTYRDSCKGQLGRIITPKYTHWLD 3000
strain3aa_88166 SLNRDDNKIIEDEPMIQIPEKLRRLERLGVSRMEVDLMPISIPDDTLAGVAKKILSLNVSTEYSABVSRKQPTLARNVHLGLAGGKELSLPIYTFMKSFFFKDNVFLSLDRWSTKHSNTYRDSCKGQLGRIITPKYTHWLD 3000
strain4aa_8402 SLNRDDNKIIEDEPMIQIPEKLRRLERLGVSRMEVDLMPISIPDDTLAGVAKKILSLNVSTEYSABVSRKQPTLARNVHLGLAGGKELSLPIYTFMKSFFFKDNVFLSLDRWSTKHSNTYRDSCKGQLGRIITPKYTHWLD 3000
strain1aa_7001 SLNRDDNKIIEDEPMIQIPEKLRRLERLGVSRMEVDLMPISIPDDTLAGVAKKILSLNVSTEYSABVSRKQPTLARNVHLGLAGGKELSLPIYTFMKSFFFKDNVFLSLDRWSTKHSNTYRDSCKGQLGRIITPKYTHWLD 3000
strain7aa_79121 SLNRDDNKIIEDEPMIQIPEKLRRLERLGVSRMEVDLMPISIPDDTLAGVAKKILSLNVSTEYSABVSRKQPTLARNVHLGLAGGKELSLPIYTFMKSFFFKDNVFLSLDRWSTKHSNTYRDSCKGQLGRIITPKYTHWLD 3000
.....2860.....2870.....2880.....2890.....2900.....2910.....2920.....2930.....2940.....2950.....2960.....2970.....2980.....2990.....3000



