

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）
バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法と標準化に関する研究
分担研究報告書

新興アレナウイルスに対応可能なウイルス抗原検出法の開発に関する研究

研究分担者 森川 茂 国立感染症研究所獣医科学部

研究要旨：ヒトに高い病原性を示すアレナウイルス（旧世界アレナウイルスのラッサウイルス、新世界アレナウイルスのフニンウイルスなど）はバイオテロに用いられる可能性のある病原体で BSL4 に分類されている。2008 年にアフリカ大陸で発生したラッサ熱様の出血熱の原因ウイルスは、新種のアレナウイルス(Lujo ウイルス)で、これまで同定されているアレナウイルスと遺伝的にも抗原性もかなり異なるウイルスであった。本ウイルスの宿主は未同定で、バイオテロ以外にも輸入動物を介して国内にウイルスが侵入する可能性もある。ザンビアでは、新種のアレナウイルス（Luna ウイルス）が分離され、相次いで新種のアレナウイルスが報告されている。このように未知のアレナウイルスが数多く存在すると思われる。本研究では、このような新種アレナウイルスなども検出可能な手法を開発するために、アレナウイルスの高度保存領域に対する抗体を作製した。この抗体は、種々のアレナウイルスの組換えタンパク質と感染性アレナウイルスに広く交差反応性を示した。本領域を抗体作製の標的とすることは、新種、新型のアレナウイルスをもれなく検出できる技術の確立につながると期待できる。

研究協力者：福士秀悦、吉河智城、谷英樹、
谷口怜、福岡藍子、下島昌幸、西條政幸（国立感染症研究所ウイルス第一部）

A 研究目的

ウイルス性出血熱の原因ウイルスのうちウイルス株間の遺伝子変異が極めて多いアレナウイルスでは、しばしばRT-PCRによる検出から漏れるウイルス株がある。RT-PCR法に用いられるprimersは、頻繁に修正されているが、それでも、現在まで新種、新型

のアレナウイルスを漏れなく検出可能なRT-PCR法は開発されていない。しかし、アレナウイルスの遺伝子変異は、同種のウイルス株間ではsynonymousな変異が多いため免疫学的には広く交差する。一方、旧世界アレナウイルスと新世界アレナウイルスでは免疫学的にも交差は認められない。また、2008年にアフリカ大陸で新興したラッサ熱様の出血熱の原因ウイルスLujoウイルスは、同じ旧世界アレナウイルスであるラッサウイルスとも遺伝的、血清学的にもかなり異

なる。このため、新興アレナウイルス発生時には、ウイルスの同定に時間がかかっている。このため、新興アレナウイルス発生時にヒトや宿主動物の疫学的解析ができず、根本的な対応ができていない。バイオテロに新興アレナウイルスが使用されると、原因が特定できない可能性が高い。また、近年相次いで旧世界アレナウイルスが分離されており、アレナウイルスの遺伝的多型性が再確認されている。未知のアレナウイルスが数多く存在すると考えられ、それらによる新興感染症発生時に迅速対応可能なウイルス検出技術を確立することは、公衆衛生上、バイオテロ対策上、重要である。本研究では、新興アレナウイルスも検出可能な手法を開発することを目的とする。平成23年度はアレナウイルス間で広く保存されているN蛋白質領域のペプチド抗体を作製し、各種アレナウイルスのリコンビナントNPを用いて、交差反応性を明らかにした。平成24年度は、作製した抗体により、新種のアレナウイルスである、ルジョウイルス、ルナウイルスが検出できるか検討した。平成25年度は海外の感染症研究機関との共同研究によりラッサウイルスに抗原性の近縁なモペイアウイルス(MOPV)、モバラウイルス(MOBV)および、フニンウイルスの弱毒生ワクチン株であるCandid#1を入手し、作製した抗体がウイルスそのもの(Authenticウイルス抗原)に反応するか検討した。また、免疫に用いる抗原の改良を行ない、すべて

のアレナウイルスを検出するための抗体作製について検討した。

B 研究方法

アレナウイルス NP の構造と mRNA cap-binding 領域の高度保存領域:

ラッサウイルスのNPの結晶構造が2010年12月に明らかにされた(Nature 468: 779-785, 2010)。構造相同性解析から、ラッサウイルスNPには、宿主細胞のmRNAのcap構造を認識する領域と3'-5'エキソヌクレアーゼ活性領域が同定され、アレナウイルス間で機能領域が高度に保存されていることも明らかとなった。これらの領域の中でエピトープになり得るペプチド領域を推定し、ラッサウイルスのNP構造ファイル3MWP.pdbの表層に存在するかをPyMolソフトにより解析した。

ペプチド合成と抗ペプチド血清の作製:

ラッサウイルスNPのアミノ酸298-311位と311-324位の2種のペプチドをSIGMA Aldrich社で合成した。同社に、MBS法(m-Maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimide ester)によりCys残基とキャリア蛋白KLHの架橋とフロイントコンプリートアジュバントを用いたウサギに免疫(6回)を依頼し、抗ペプチド抗体を作製した。

組換えバキュロウイルスを用いた各種アレナウイルスNP抗原の調製:

旧世界アレナウイルスのラッサウイルス(LASV)、ルジョウイルス(LUJV)、リンパ球

性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)に加え、2011年ザンビアにおいて分離されたルナウイルス(LUNV)の組換え NP をバキュロウイルス発現システムで調製した。新世界アレナウイルスの南米出血熱の原因ウイルスであるフニンウイルス(JUNV)、ガナリトウイルス(GTOV)、サビアウイルス(SABV)、マチュポウイルス(MACV)、チャパレウイルス(CHPV)の組換え NP も同様に調製した。陰性コントロール抗原として組換え蛋白質を発現しないバキュロウイルス(Δ P)を用いて組換え NP と同様の手法で調製した(図1)。これらの抗原を用いて ELISA を行ない、抗体との反応性を解析した。

Authentic ウイルス抗原の調製

抗 peptide 311-324 抗体が authentic ウイルス抗原に反応するかどうか検討するため、以下のアレナウイルスを入手し、ウイルス抗原を調製した。

モペイアウイルス(MOPV):モザンビーク(1977年)、およびジンバブエ(1981年)で、野ネズミの一種(*Mastomys*)から分離されたアレナウイルス。ヒト抗体陽性例が報告されているが、このウイルスによるヒトの感染症は報告が無く、ヒトへの病原性は無いと考えられている。BSL3。

モバラウイルス(MOBV): 1983年に中央アフリカ共和国で、野ネズミ(*Praomys*と*Mastomys*)から分離されたアレナウイルス。ラッサウイルスやモペイアウイルスと血清学的に交叉する。ウイルス学的性状もこれらのウイルスと類似する。BSL3。

Candid#1:弱毒化フニンウイルス(生ワクチン株)。フニンウイルスはBSL4に分類されるが、Candid#1はヒトに発病させるおそれがほとんどないとして、平成25年3月7日付で病原体管理規制の対象から除外。BSL2。

LCMV WE株: LCMVプロトタイプの一つ。BSL2。

MOPV、MOBV、Candid#1をVeroE6細胞に感染(MOI=0.01)させ、4日後(モペイアウイルス、モバラウイルス)あるいは、7日後(Candid#1)、感染細胞を1%NP40/PBSに懸濁し、上清を回収、ウイルス抗原とした。同様にLCMV(WE株)

をVero E6に感染(MOI=0.1)させ、3日後感染細胞を1%NP40/PBSに懸濁し、上清を回収、ウイルス抗原とした。

C 結果

アレナウイルス NP の mRNA cap-binding 領域の高度保存領域のエピトープの予測と構造上の位置の予測:

新旧アレナウイルスの NP 間で、cap-binding 領域の特に高度に保存されている領域のエピトープとなり得るペプチドを親水性、各種予測による二次構造等を勘案して選択した結果、cap-binding 領域のアミノ酸 298-311 位及びアミノ酸 311-324 位の 2 箇所がエピトープになり得ると考えられた(図2)。また、これらの 2 種のペプチドのラッサウイルス NP の立体構造上の位置を PyMol で解析すると、表層に存在すると考えられた(図3)。

ペプチド抗体と各種アレナウイルス NP との反応性

ラッサウイルス NP のアミノ酸 297-311 位および、311-324 位のペプチドをウサギに免疫して得られた血清を用いて、旧世界アレナウイルスの LUNV、LASV、LUJV、LCMV、新世界アレナウイルスの南米出血熱の原因ウイルスである JUNV、GTOV、SABV、MACV、CHPV のリコンビナント NP との反応性を ELISA で調べた(図 4)。抗 peptide 297-311 抗体は ELISA で反応が弱かった。一方、抗 peptide 311-324 抗体は、LCMV-NP 以外のアレナウイルス NP に強く反応し、新種の旧世界アレナウイルスであるルナウイルスにも強く反応した。peptide 311-324 のアミノ酸配列を比較すると

${}_{311}\text{CLSGDGPYIASRT}$ $_{324}$ の 322 位の S が LCMV だけ C であることから、322 位のアミノ酸が抗 peptide 311-324 抗体との反応に重要であると考えられた(図 2)。

Authentic ウイルス抗原との反応性

平成 23,24 年度の研究はウイルス抗原としてリコンビナント NP を用いて、抗体の反応性を検討してきた。平成 25 年度はラッサウイルスに抗原性の近縁な MOPV、MOBV および、フニンウイルス弱毒生ワクチン株 Candid#1 のウイルス抗原を調製し、peptide 311-324 抗体との反応性を ELISA で検討した。MOPV、MPBV に対する陽性コントロールはウサギ抗 Luna ウイルス NP 血清を用い、Candid#1、LCMV に対する陽性コントロールとしてそれぞれのウイルスのリコンビナ

ント NP で免疫したウサギ抗血清を用いた。peptide 311-324 抗体は、ウサギ抗血清を用いた場合よりも O.D.値は低いが、candid#1、MOPV、MOBV に反応した(図 5)。

次に、ウイルス抗原を用いてウエスタンブロットによる peptide 311-324 抗体の反応性を検討した(図 6)。ELISA と同様、candid#1、MOPV、MOBV に反応した。これらの結果はリコンビナント NP を用いた ELISA の結果と一致した。しかし、MOBV に対する反応は、Candid#1 および MOPV に比較して弱く、LCMV には全く反応しなかった。アミノ酸配列の比較から、MOBV と LCMV では本ペプチド領域のアミノ酸 322 位が Cys であることが抗体の反応性に影響していると考えられた。

アレナウイルスの GP-2 領域のペプチド

アレナウイルスの GP-2 にはすべてのアレナウイルスで保存されている領域がある(図 7)。この部分のペプチド CNYSKFWYLEHAK、を合成し、これに対するウサギ抗体を作製した。これを用いてアレナウイルス抗原を検出できるか検討した。ELISA、ウエスタンブロットともにこの抗体は MOPV に強く反応し、他のウイルスにはほとんど反応しなかった(図 8)。

D 考察

現在まで、新興アレナウイルスのリコンビナントタンパク質等を用いて血清診断、病原診断法が開発されているが、旧世界、

新世界アレナウイルスをともに広く検出可能な抗体は無い。

本研究では、高度にアレナウイルス間で保存された領域のペプチドの抗血清を作製し、各種アレナウイルスとの反応性を解析した。抗 peptide 311-324 抗体は、リコンビナント NP を抗原とした検討では、LCMV を除く全ての出血熱原因アレナウイルス及び、2011 年に発見された新種の旧世界アレナウイルスであるルナウイルスにも強く反応した。また、authentic ウイルス抗原を用いた検討でも、このペプチド抗体は旧世界アレナウイルスである MOPV, MOBV および、新世界アレナウイルスであるフニンウイルス Candid#1 に反応することが明らかになった。一方、GP-2 ペプチドに対する抗体は MOPV に反応したが、Candid#1、MOBV に反応しなかった。アレナウイルスを広く検出するためには、免疫に用いる GP-2 ペプチド配列の改良が必要である。LCMV に対する反応性に関して課題は残るが、NP の peptide 311-324 位を標的とした抗体は、ラッサウイルス、フニンウイルス等、バイオテロに使用される可能性があるアレナウイルスをもれなく検出できると期待できる。

今後、海外の BSL4 施設を有する感染症研究機関との共同研究により、ラッサウイルス、フニンウイルス等、アレナウイルスそのものを使った、抗体の反応性の検討を行う必要が有る。

E 結論

(1) アレナウイルスの NP に高度に保存される部位のペプチドに対する抗体 (抗 peptide 311-324 抗体) は LCMV-NP 以外のアレナウイルスのリコンビナント NP に強く反応し、新種のアレナウイルスであるルジョウイルス、ルナウイルスにも強く反応することが明らかになった。

(2) Authentic ウイルス抗原を用いた検討でも、抗 peptide 311-324 抗体旧世界アレナウイルスである MOPV, MOBV および、新世界アレナウイルスである Candid#1 に反応することが明らかになった。NP の本領域を標的とした抗体は、ラッサウイルス、フニンウイルス等、バイオテロに使用される可能性があるアレナウイルスをもれなく検出できると期待できる。

(3) LCMV を含むすべてのアレナウイルスに反応する抗体を作製するため、新たに GP-2 ペプチドに対する抗体を調製した。しかし Candid#1、MOBV に反応しなかったため、今後は免疫に用いる GP-2 ペプチド配列の改良が必要である。

F 健康危機情報

特になし

G 研究発表

1 論文発表

- 1) Sakai K, Yoshikawa T, Seki F, Fukushi S, Tahara M, Nagata N, Ami Y, Mizutani T, Kurane I, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Komase K, Morikawa S, Takeda M. Canine distemper virus associated with a lethal outbreak in monkeys can readily adapt

- to use human receptors. *J Virol.* 87(12):7170-7175. 2013.
- 2) Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M, Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M. The First Identification and Retrospective Study of Severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome in Japan. *J Infect Dis.* Dec 12. 2013.
 - 3) Arai S, Nguyen ST, Boldgiv B, Fukui D, Araki K, Dang CN, Ohdachi SD, Nguyen NX, Pham TD, Boldbaatar B, Satoh H, Yoshikawa Y, Morikawa S, Tanaka-Taya K, Yanagihara R, Oishi K. Novel Bat-borne Hantavirus, Vietnam. *Emerg Infect Dis.* 2013 Jul;19(7):1159-61.
 - 4) Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S. Lethal Canine Distemper Virus Outbreak in Cynomolgus Monkeys in Japan in 2008. *J Virol.* 2013, 87(2): 1105-1114
 - 5) Sayama Y, Demetria C, Saito M, Azul RR, Taniguchi S, Fukushi S, Yoshikawa T, Iizuka I, Mizutani T, Kurane I, Malbas FF Jr, Lupisan S, Catbagan DP, Animas SB, Morales RG, Lopez EL, Dazo KR, Cruz MS, Olveda R, Saijo M, Oshitani H, Morikawa S. A seroepidemiologic study of Reston ebolavirus in swine in the Philippines. *BMC Vet Res.* 18;8:82, 2012.
 - 6) Taniguchi S, Sayama Y, Nagata N, Ikegami T, Miranda ME, Watanabe S, Iizuka I, Fukushi S, Mizutani T, Ishii Y, Saijo M, Akashi H, Yoshikawa Y, Kyuwa S, Morikawa S. Analysis of the humoral immune responses among cynomolgus macaque naturally infected with Reston virus during the 1996 outbreak in the Philippines. *BMC Vet Res.* 11;8(1):189, 2012.
 - 7) Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Saijo M and Morikawa S. Serological Assays Based on Recombinant Viral Proteins for the Diagnosis of Arenavirus Hemorrhagic Fevers. *Viruses* 4. 2097-2114. 2012.
 - 8) Lihoradova O, Kalveram B, Indran SV, Lokugamage N, Juelich TL, Hill TE, Tseng CT, Gong B, Fukushi S, Morikawa S, Freiberg AN, Ikegami T. The Dominant-negative Inhibition of dsRNA-dependent Protein Kinase PKR Increases the Efficacy of Rift Valley Fever Virus MP-12 Vaccine. *J Virol.* 86,

- 7650-7661.2012.
- 9) 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. *J Virol Methods*. 180:68-74, 2012
- 10) Arai S, Gu SH, Baek LJ, Tabara K, Bennett SN, Oh HS, Takada N, Kang HJ, Tanaka-Taya K, Morikawa S, Okabe N, Yanagihara R, Song JW. Divergent ancestral lineages of newfound hantaviruses harbored by phylogenetically related crocidurine shrew species in Korea. *Virology*, 2012, in press
- 11) Tani H., Morikawa S, and Matsuura Y. Development and applications of VSV vectors based on cell tropism. *Frontiers in Microbiol.*, 2012, 2(272): 1-7.
- 12) Kennedy JS, Gurwith M, Dekker CL, Frey SE, Edwards KM, Kenner J, Lock M, Empig C, Morikawa S, Saijo M, Yokote H, Karem K, Damon I, Perlroth M, and Greenberg RN. Safety and Immunogenicity of LC16m8, an Attenuated Smallpox Vaccine in Vaccinia-Naive Adults. *J Infect Dis* 2011, 204(9):1395-402
- 13) Shirato K, Maeda K, Tsuda S, Suzuki K, Watanabe S, Shimoda H, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Kyuwa S, Endoh D, Matsuyama S, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Yoshikawa Y, Akashi H, Mizutani T. Detection of bat coronaviruses from *Miniopterus fuliginosus* in Japan. *Virus Genes*. 2012, ;44(1):40-4.
- 14) Taniguchi S, Watanabe S, Masangkay JS, Omatsu T, Ikegami T, Alviola P, Ueda N, Iha K, Fujii H, Ishii Y, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Kyuwa S, Akashi H, Yoshikawa Y, Shigeru Morikawa, S. Reston Ebola Virus Antibodies in Bats, the Philippines. *Emerg Infect Dis*, 2011 17(8):1559-60
- 15) Abe M, Ito N, Sakai K, Kaku Y, Oba M, Nishimura M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Sugiyama M, Mizutani T. A novel sapelovirus-like virus isolation from wild boar. *Virus Genes*. 2011, 43(2):243-8.
- ## 2 学会発表
- 1) 吉河智城、福士秀悦、谷英樹、宇田晶彦、谷口怜、福間藍子、前田健、高橋徹、森川茂、下島昌幸、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の確定診断に使用されるコンベンショナルPCRの評価、及びリアルタイム定量 PCR 戸の比較 第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013 年 11 月 10 日から 12 日、神戸
- 2) 福間藍子、福士秀悦、谷英樹、吉河智城、谷口怜、下島昌幸、森川茂、前田健、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の血清学的診断法の開発 第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013 年 11 月 10 日から 12 日、神戸
- 3) 長谷川秀樹、亀井敏昭、高橋徹、鈴木忠樹、片野晴隆、中島典子、福士秀悦、下島昌幸、前田健、水谷哲也、森川茂、西

- 西條政幸 日本国内で発生した重症熱性血小板減少症候群の1剖検例 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013年11月10日から12日、神戸
- 4) 西條政幸、高橋徹、前田健、水谷哲也、大松勉、吉河智城、谷英樹、福士秀悦、下島昌幸、福間藍子、緒方もも子、鈴木忠樹、中島典子、片野晴隆、永田典代、長谷川秀樹、山岸拓也、倉根一郎、森川茂 後方視的に重症熱性血小板減少症候群と診断された11名のウイルス学的・臨床的・疫学的研究 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013年11月10日から12日、神戸
- 5) 森川茂、木村昌伸、福士秀悦、福間藍子、加来義浩、朴ウンシル、谷英樹、吉河智城、井上智、今岡浩一、下島昌幸、西條政幸、前田健 SFTSウイルス抗体陽性動物の調査 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013年11月10日から12日、神戸
- 6) 谷口怜、福士秀悦、Masangkay Joseoh、渡辺俊平、大松勉、下田宙、前田健、福間藍子、吉河智城、谷英樹、下島昌幸、西條政幸、明石博臣、吉川泰弘、久和茂、森川茂 フィリピンのコウモリからの重症熱性血小板減少症候群ウイルスに反応する抗体の検出 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013年11月10日から12日、神戸
- 7) 宇田晶彦、福士秀悦、加来義浩、吉河智城、下島昌幸、新倉綾、井上智、安藤秀二、前田健、西條政幸、森川茂 マダニからのSFTSウイルス遺伝子の検出 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013年11月10日から12日、神戸
- 8) 下島昌幸、福士秀悦、谷英樹、吉河智城、福間藍子、谷口怜、前田健、高橋徹、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対するribavirinのin vitro増殖抑制効果 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013年11月10日から12日、神戸
- 9) 新倉綾、福士秀悦、森川茂、山田靖子 リフトバレー熱ウイルスL蛋白のポリメラーゼ機能におけるC末端領域の重要性 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013年11月10日から12日、神戸
- 10) 福士秀悦、谷英樹、吉河智城、谷口怜、福間藍子、緒方もも子、下島昌幸、森川茂、西條政幸 ナイジェリアにおけるリフトバレー熱の血清疫学 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013年11月10日から12日、神戸
- 11) 谷英樹、下島昌幸、福間藍子、谷口怜、吉河智城、福士秀悦、森川茂、前田健、高橋徹、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群ウイルスGPを外套したシュードタイプVSVの作製 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013年11月10日から12日、神戸
- 12) 高橋徹、前田健、亀井敏昭、水谷哲也、下島昌幸、福士秀悦、谷英樹、吉河智城、森川茂、長谷川秀樹、中島典子、鈴木忠樹、永田典代、片野晴隆、山岸拓也、大石和徳、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の日本における初症例 第61回日本ウイルス学会学術集会、2013

- 年 11 月 10 日から 12 日、神戸
- 13) Hideki Tani, Koichiro Iha, Shuetsu Fukushi, Satoshi Taniguchi, Tomoki Yoshikawa, Masayuki Saijo, and Shigeru Morikawa. Analysis of cell entry of New and Old World arenaviruses using pseudotyped viruses bearing their envelope proteins. XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria, Rio de Janeiro, Brazil. September 23-27,2012.
 - 14) Kie Yamamoto, Koichiro Iha, Christine Bruce, Stuart D. Dowall, Satoshi Taniguchi, Shuetsu Fukushi, Hideki Tani, Tomoki Yoshikawa, Yoshiyuki Ishii, Shigeru Kyuwa, Roger Hewson, Masayuki Saijo, and Shigeru Morikaw. Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of viral hemorrhagic fevers caused by arenaviruse. XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria, Rio de Janeiro, Brazil. September 23-27,2012.
 - 15) 谷英樹、伊波興一朗、谷口怜、吉河智城、福士秀悦、西條政幸、森川茂 シュードタイプ VSV を用いたルジヨウウイルスの細胞侵入機構の解析 第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13 日から 15 日、大阪
 - 16) 酒井宏治、關文緒、網康至、田原舞乃、中津祐一郎、大槻紀之、福原秀雄、福士秀悦、吉河智城、西條政幸、森川茂、前仲勝実、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠 カニクイザルで致死感染症を起こしたジステンバーウイルスのサルレセプターの効率的な利用 ; ジステンバーウイルスはヒトへの脅威となり得るか? 第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13 日から 15 日、大阪
 - 17) 谷口怜、佐山祐輔、永田典代、飯塚愛恵、谷英樹、吉河智城、福士秀悦、西條政幸、久和茂、森川茂 レストンエボラウイルス自然感染カニクイザルにおける免疫応答の解析 第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13 日から 15 日、大阪
 - 18) 福士秀悦、新倉 綾、谷 英樹、吉河智城、伊波興一朗、谷口 怜、緒方もも子、西條政幸、森川 茂 日本のマダニ類における新種のブニヤウイルス (SFTSV) 保有調査と SFTSV 血清学的診断法の開発 第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13 日から 15 日、大阪
 - 19) Shigeru Morikawa, Yusuke Sayama, Satoshi Taniguchi, Shuetsu Fukushi, Ichiro Kurane, and Masayuki Saijo. Serological survey of Reston ebolavirus infection in the Philippines. 45th Joint Working Conference on Immunology and Viral Disease, Stanford USA, 2011 June 20-22
 - 20) 岡本宗裕、小野文子、藤本浩二、高野淳一朗、濱野正敬、森川茂、永田典代、水谷哲也、酒井宏治、堀井俊宏、中屋隆明、中村昇太、宮沢孝幸、松井淳 ニホンザル血小板減少症の原因ウイルスの同定 第 152 回日本獣医学会学術集会、2011 年

- 9月19日から21日、大阪
- 21) 酒井宏治、永田典代、水谷哲也、網康至、吉河(岩田)奈織子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、竹田誠、森川茂 カニクイザルから分離した新しいサルアデノウイルスの性状解析 第152回日本獣医学会学術集会、2011年9月19日から21日、大阪
- 22) Noriyo Nagata, Naoko Iwata, Hideki Hasegawa, Yuko Sato, Shigeru Morikawa, Tetsutaro Sata Interferon gamma protects adult balb/c mice from lethal respiratory illness after mouse-adapted SARS-CoV infection. International union of microbiological societies 2011 congress, Sapporo 11-16 Sept 2011
- 23) Masayuki Saijo, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Noriyo Nagata, Naoko Yoshikawa (Iwata), Hideki Hasegawa, Shuetsu Fukushi, Tetsuya Mizutani, Tetsutaro Sata, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa. 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. International union of microbiological societies 2011 congress, Sapporo 11-16 Sept 2011
- 24) Chang-Kweng Lim, Yasuo Ami, Yoshiki Fujii, Meng Ling Moi, Kazutaka Kitaura, Akira Kotaki, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo, Ryuji Suzuki, Ichiro Kurane, Tomohiko Takasaki. Pathogenesis of epidemic chikungunya virus in nonhuman primates. International union of microbiological societies 2011 congress, Sapporo 11-16 Sept 2011
- 25) Koichiro Iha, Mina Nakauchi-Hori, Satoshi Taniguchi, Shuetsu Fukushi, Tetsuya Mizutani, Momoko Ogata, Shigeru Kyuwa, Masayuki Saijo, Victor Romanowski, Delia A Enria, Shigeru Morikawa. Establishment of serological diagnosis of Argentine hemorrhagic fever using recombinant antigens. International union of microbiological societies 2011 congress, Sapporo 11-16 Sept 2011
- 26) Kouji Sakai, Yohei Nishio, Noriyo Nagata, Yasushi Ami, Katsuhiko Komase, Masayuki Shimojima, Ken Maeda, Makoto Takeda, Masayuki Saijo, Shigeru Morikawa. Characterization of canine distemper virus isolated from cynomolgus monkeys during 2008 epizootic in Japan. International union of microbiological societies 2011 congress, Sapporo 11-16 Sept 2011
- 27) Yusuke Sayama¹, Shuetsu Fukushi, Mariko Saito, Satoshi Taniguchi, Itoe Iizuka, Tetsuya Mizutani, Ichiro Kurane, Masayuki Saijo, Hitoshi Oshitani, Shigeru Morikawa. A serological survey of Reston ebolavirus infection in swine during epizootic in 2008 in the Philippines. International union of microbiological societies 2011 congress, Sapporo 11-16

Sept 2011

- 28) Satoru Arai, Se Hun Gu, Luck Ju Baek, Kenji Tabara, Hong-Shik Oh, Nobuhiro Takada, Hae Ji Kang, Keiko Tanaka-Taya, Shigeru Morikawa, Nobuhiko Okabe, Richard Yanagihara, Jin-Won Song. Expanded evolutionary insights from Jeju virus, a newfound hantavirus harbored by the Asian lesser white-toothed shrew (*Crocidura shantungensis*). International union of microbiological societies 2011 congress, Sapporo 11-16 Sept 2011
- 29) Tetsuya Mizutani, Masako Abe, Naoto Ito, Kouji Sakai, Yoshihiro Kaku, Mami Oba, Momoko Ogata, Ichiro Kurane, Masayuki Saijo, Shigeru Morikawa, Makoto Sugiyama. An isolated virus homologous to porcine sapelovirus from wild boar. International union of microbiological societies 2011 congress, Sapporo 11-16 Sept 2011
- 30) Satoshi Taniguchi, Shumpei Watanabe, Koichiro Iha, Shuetsu Fukushi, Tetsuya Mizutani, Masayuki Saijo, Ichiro Kurane, Shigeru Kyuwa, Hiroomi Akashi, Yasuhiro Yoshikawa, Shigeru Morikawa. The detection of Reston ebolavirus antibodies in wild bats in the Philippines. International union of microbiological societies 2011 congress, Sapporo 11-16 Sept 2011

H 知的財産権の出願・登録状況

現在出願予定はない。

図1 組換えバキュロウイルスを用いた各種アレナウイルス NP 抗原の調製

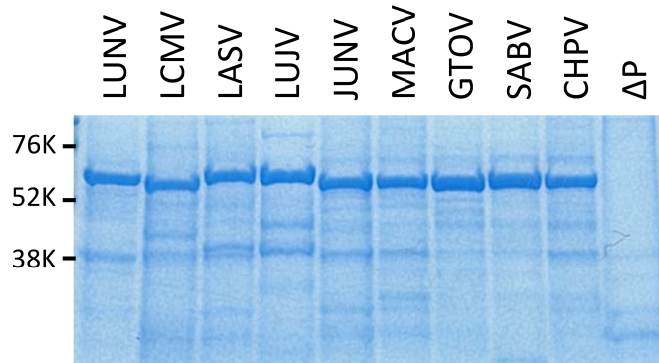


図2 アレナウイルスの高度保存領域と合成ペプチド

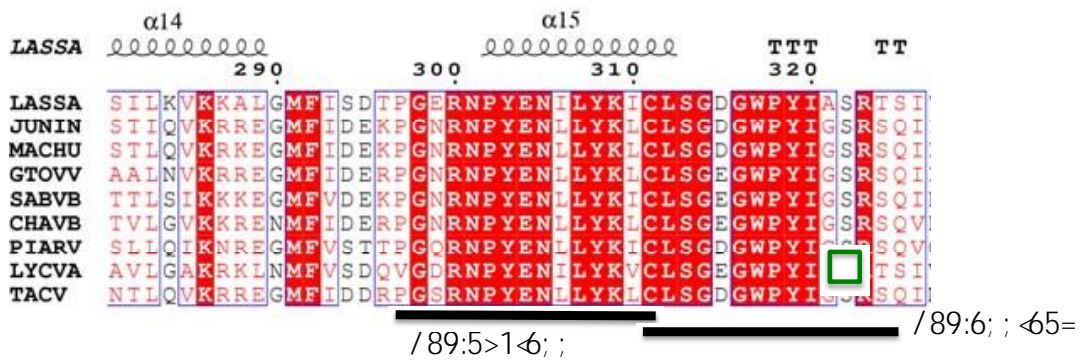
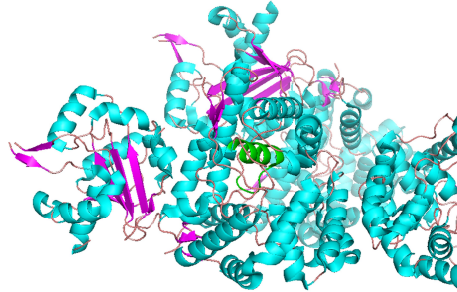
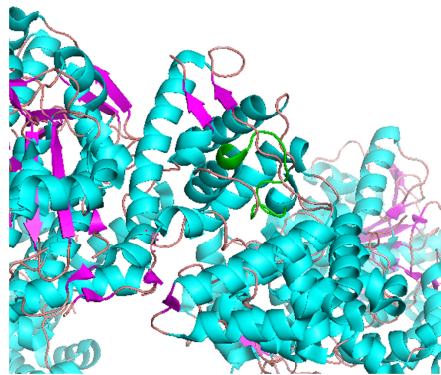


図 3-1 ラッサウイルス NP の 297PGERNPYENILYKIC₃₁₁ ペプチドの位置 (緑色)



(PyMol View of Lassa NP structure; 3MWP.pdb)

図 3-2 ラッサウイルス NP の 311CLSGDGWPYIASRT₃₂₄ ペプチドの位置 (緑色)



(PyMol View of Lassa NP structure; 3MWP.pdb)

図 4 アレナウイルス高度保存領域ペプチド抗体による ELISA

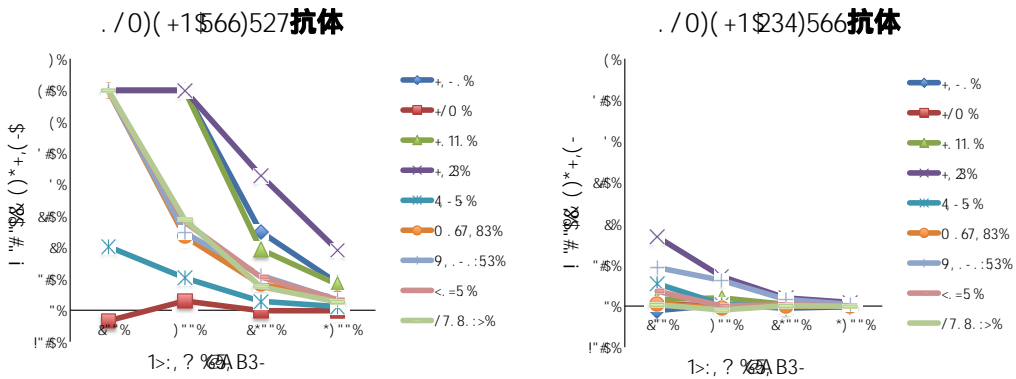


図5 ELISAによるペプチド抗体の authentic ウイルス抗原との反応

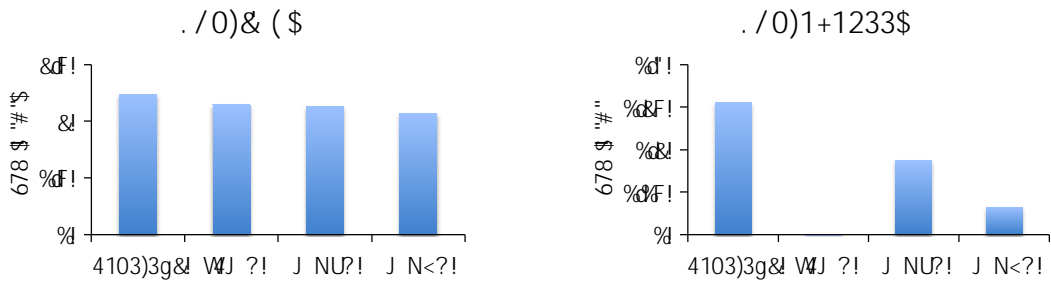


図6 ウェスタンブロッティングによるペプチド抗体の authentic ウイルス抗原との反応

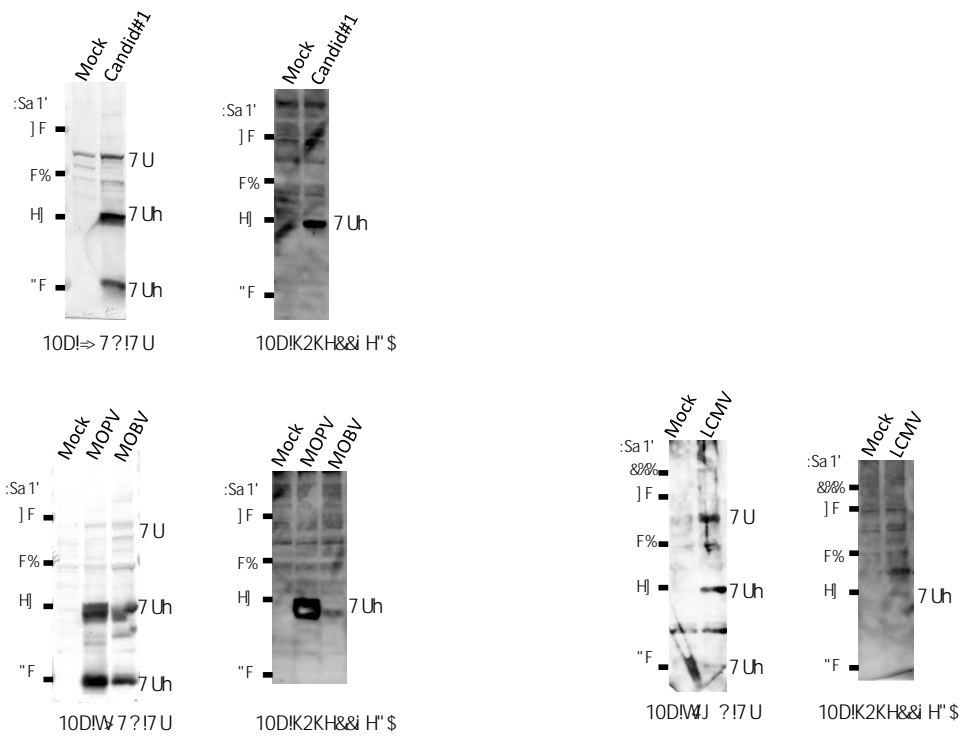


図7 アレナウイルスの GP-2 で保存されている領域

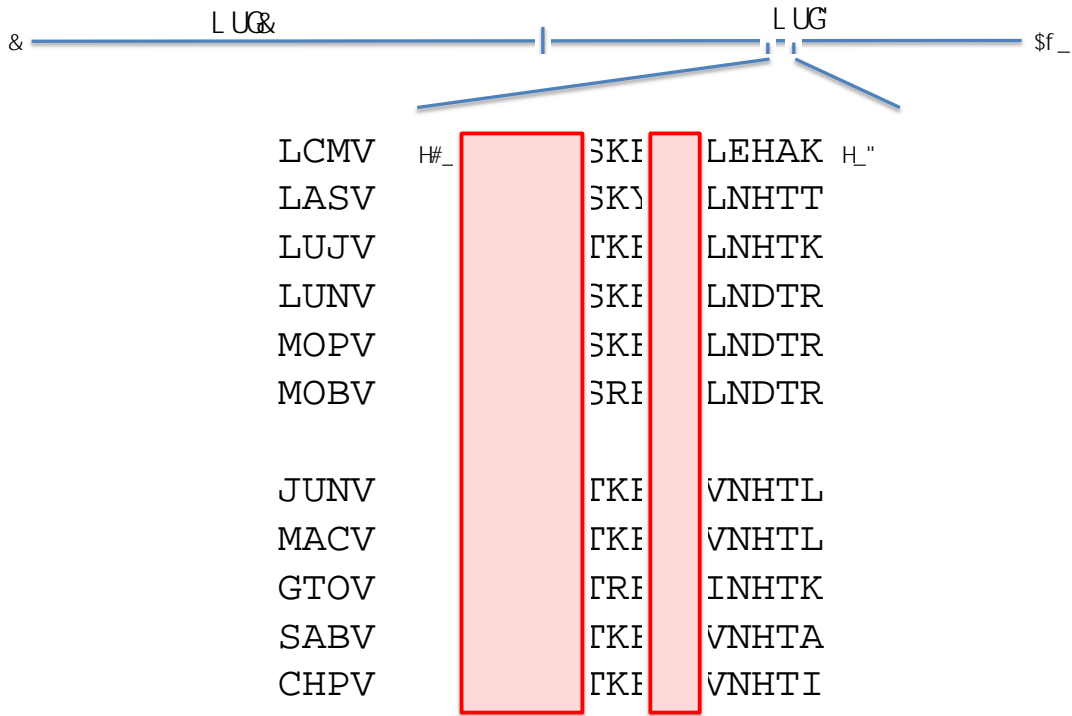


図8 アレナウイルスの GP-2 ペプチド抗体を用いた ELISA (左図) および ウェスタンブロッティング (右図)

