

- 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 2014.11.10～12 神戸国際会議場
- 11) 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 2014.11.10～12 神戸国際会議場
- 12) 谷英樹、下島昌幸、福岡藍子、谷口怜、吉河智城、福士秀悦、森川茂、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 2014.11.10～12 神戸国際会議場
- 13) 高橋徹、亀井敏昭、前田健、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 2014.11.10～12 神戸国際会議場
- 14) 前田健、濱崎千菜美、久保翔太郎、遠藤泰之、寺田農、鍬田流星、高野愛、下田宙、森川茂 国内飼育犬から重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスに対する抗体の検出 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 2014.11.10～12 神戸国際会議場
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

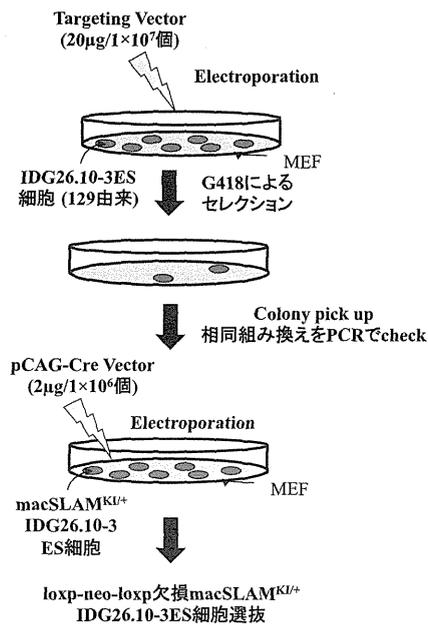
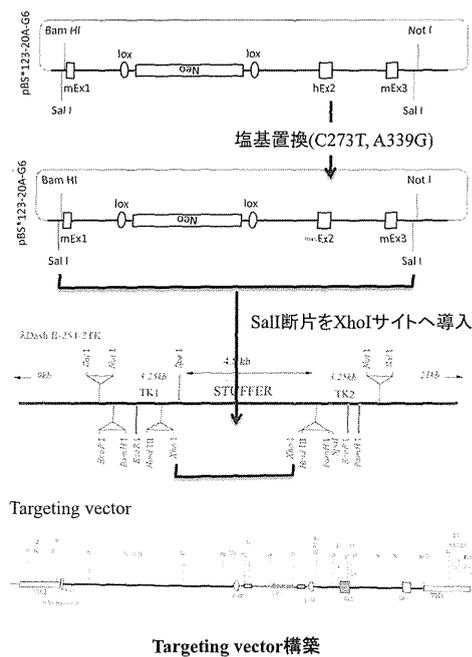
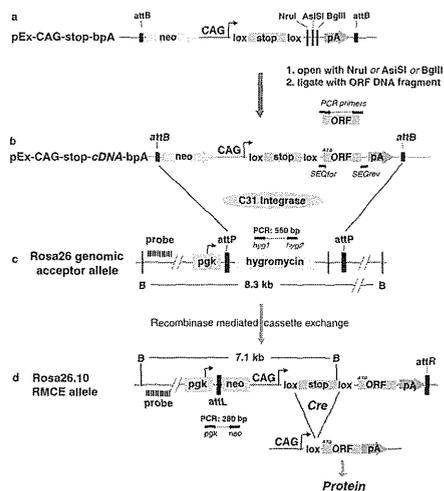


図1-1 macSLAM^{KI/+} ES細胞樹立



vector (a)にmacNectin4 cDNAを導入し、vector (b)を作製する。IDG26.10-3ES細胞のRosa26遺伝子座にはcのアレルが入っているため、vector (b)をmacSLAM^{KI/+}IDG26.10-3ES細胞にtransfectionする。

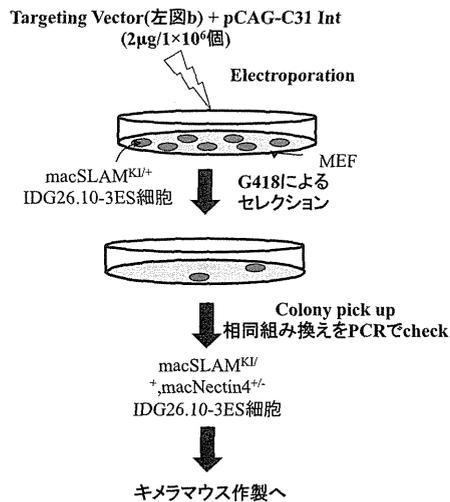


図2 macNectin4^{+/-} ES細胞の樹立

図3.FMoV-NP 発現 HeLa 細胞の樹立とペプチド抗体による IF 染色像

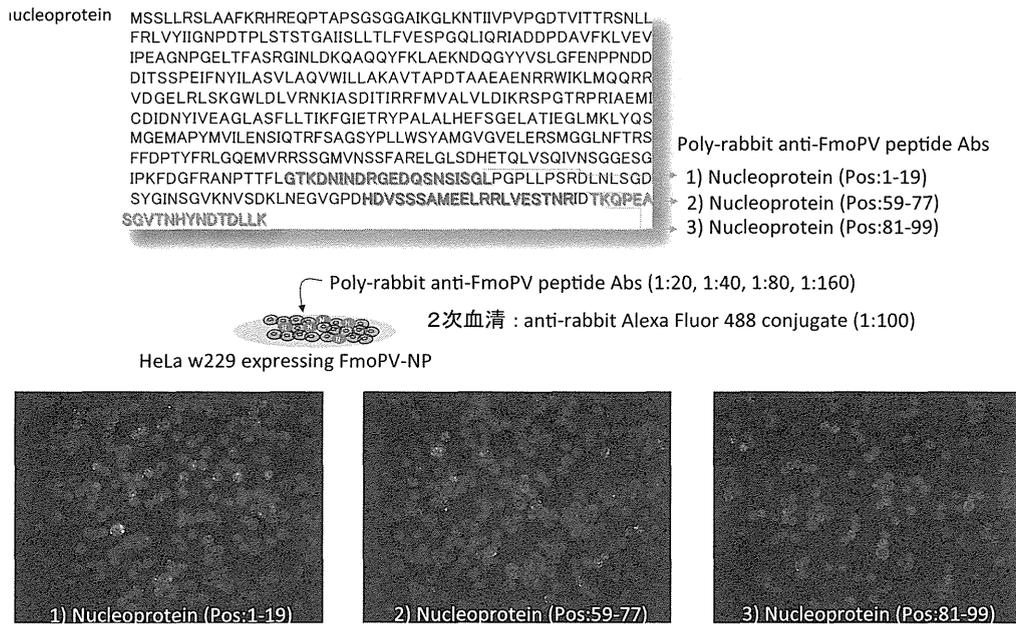


表1.国内のネコの FMoV 遺伝子、抗体陽性率と腎炎陽性率

モルビリウイルスと腎炎との関係

PCR陽性症例

No. of case	間質への炎症 細胞浸潤程度	その他	Ab
N003	軽度	-	-
N010	中度	+	-
N020	軽度	+	-
N050	重度	+	-
N055	中度	+	-
N065	-	-	-
N073	重度	-	-

腎炎 : 6/7 (85.7%)

腎炎 : 9/17 (53%)

PCR陰性症例

No. of case	間質への炎症 細胞浸潤程度	Ab
N004	-	-
N005	-	-
N006	重度	-
N008	重度	-
N009	-	-
N011	中度	-
N013	軽度	-
N014	石灰沈着	-
N018	-	-
N019	-	-
N022	中度	-
N023	-	-
N024	軽度	+
N027	石灰沈着	-
N028	重度	+
N033	中度(好酸球)	-
N034	軽度	-

図 4. FMoV の日本株と香港株の分子系統樹

Partial NP の遺伝子配列による FMoV の日本株と香港株の分子系統樹

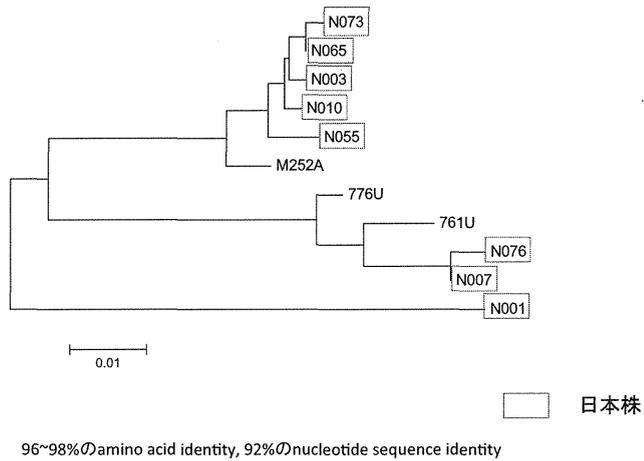
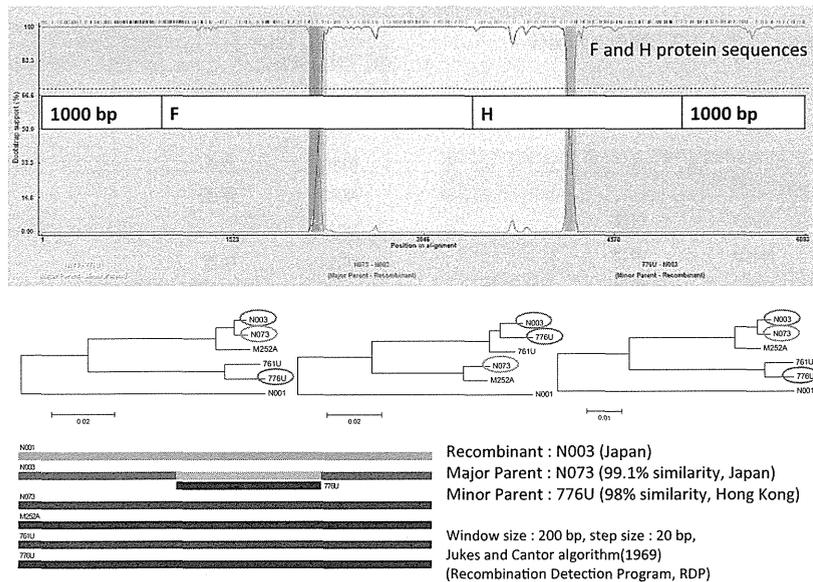


図 5. Possible recombination at F/H region between 2 different FMoVs



動物由来感染症の対応に関する研究

分担研究課題：食虫目、翼手目等のハンタウイルスの分子疫学情報の蓄積

研究分担者：新井 智(国立感染症研究所 感染症疫学センター)

研究要旨：ハンタウイルスの分子疫学情報の蓄積のため、モンゴル、ベトナム、ミャンマー、日本およびロシアのサンプルについて野生小型哺乳類を入手しハンタウイルス感染を検索した。その結果、モンゴルおよび日本のサンプルにそれぞれ 2 種類の異なるハンタウイルスの感染を確認した。これらのウイルスは、同一地域に異なるハンタウイルスが共存していることを示しており、ハンタウイルスの進化を考える上で極めて重要な情報である。また、新しいハンタウイルスを分離するツールとしてトガリネズミ形目、齧歯目、翼種目の初代培養細胞の分離を広く行い、日本の齧歯目およびトガリネズミ目から 9 種 33 株、ベトナムの翼種目から 15 種 32 株の初代細胞の分離に成功した。このうち、齧歯目 1 株、翼手目 10 株の細胞に CPE 様の像が観察され、何らかのウイルスが感染している可能性が示唆された。CPE 様の像が観察された細胞について電子顕微鏡および次世代シーケンシングを用いて解析したところ、ポリオーマウイルス、ヘルペスウイルス、アデノアソシエイトウイルスの感染が疑われる結果が得られた。今後、ハンタウイルスの分子疫学情報をさらに収集するとともに、分離した初代培養細胞を用いてハンタウイルス分離に利用可能な性状解析を進める予定である。

研究協力者：池山優、荒木和子、佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳(国立感染症研究所 感染症疫学センター)、川田伸一郎(国立科学博物館)、城ヶ原貴通(岡山理科大)、太田香織(東京都動物園協会)、水谷哲也(東京農工大学)、本川雅治(京都大学)、橋本知幸(日本環境衛生センター)、大館智志、南波興之、鈴木仁(北海道大学)、福井大(和歌山大学)、永田典代(国立感染症研究所 感染病理部)、森

川茂(国立感染症研究所 獣医科学部)

A. 目的：

これまで、小型野生動物を自然宿主とするウイルスによるアウトブレイクが複数報告されている。齧歯目を自然宿主とするハンタウイルスや、翼種目を自然宿主とするニパウイルスは記憶に新しい。近年では、2003 年に大きなアウトブレイクを引き起こ

した SARS コロナウイルスの自然宿主として翼種目の可能性が示唆されており、自然宿主での感染メカニズム解析のため、これら自然宿主の株化細胞が求められている。特にウイルス感染においては、自然宿主の培養細胞は、ウイルスを増殖させるだけでなく、診断用抗原の作成やワクチン開発に必要な不可欠なツールである。これまでハンタウイルスでは、げっ歯目が主な自然宿主と考えられてきたが、2007年以降トガリネズミ形目や翼種目に新しいハンタウイルス感染が報告され、これまで考えられてきた以上に多様な生物がハンタウイルスに感染している事実が明らかになってきた。そこでこれら野生小型哺乳類の未知のハンタウイルス感染を明らかにするとともに、分子疫学情報を解析することでワクチンなどの対策ツール開発の可能性を模索してきた。また、効率よくウイルスを分離するため、自然宿主である齧歯目、トガリネズミ形目、翼手目の肺や腎臓から初代細胞を分離し、ウイルスの分離に利用することを計画した。

B. 材料と方法：

これまでに入手することのできたモンゴル、ベトナム、ミャンマー、日本およびロシアのサンプルについてハンタウイルス共通領域にデザインしたプライマーを用いて新規ハンタウイルスの検索を行った。スクリーニング用プライマーには、S, M, L-segments のそれぞれに対してデザインし、できる限り多様なウイルスが検出できるよ

うにデザインした。また、生材料が入手できた場合には、肺および腎臓から可能な限り初代培養細胞を分離し、今後の未知のウイルスの分離用として利用を目指すと共に、これらの細胞から未知のウイルスが検出されるかどうか検索した。

初代細胞の分離には、齧歯目の *Myodes rex*、*Myodes rufocanus*、*Myodes rutilus*、*Apodemus argenteus*、*Apodemus speciosus*、トガリネズミ形目の *Crocidura dsinezumi*、*Sorex gracillimus*、*Sorex caecutiens*、*Sorex unguiculatus*、翼種目の *Cynopterus brachyotis*、*Hipposideros laravatus*、*Hipposideros pomona*、*Ia io*、*Kerivoula cf. papillosa*、*Megaerops niphanae*、*Myotis muricola*、*Myotis siligorensis*、*Phoniscus jagorii*、*Rhinolophus acuminatus*、*Rhinolophus luctus*、*Rhinolophus microglobosus*、*Rhinolophus pearsonii*、*Rhinolophus sinicus*、*Rhinolophus thomasi*、*Rhinolophus sp.*、*Tylonycteris pachypus*、*Tylonycteris sp.*の肺および腎臓を用いた。CPE の認められた初代細胞については培養上清を用いて電子顕微鏡による観察を行い、電子顕微鏡でウイルス様粒子が確認されたサンプルについて次世代シーケンスによる感染ウイルスの同定を行った。

C. 研究成果：

- 1) モンゴルのトガリネズミから Seewis virus(SWSV)および Khovsgol Lake virus (KHLV)、日本のトガリネズミから Sarufutsu virus(SRFV)および Shiretoko

virus (SHRV)を検出した(図 1)。

- 2) トガリネズミ形目 4 種目、齧歯目 5 種目、翼手目 15 種目の初代培養細胞の分離に成功した。
- 3) 初代培養細胞を分離した細胞のうち、齧歯目の 1 検体、翼種目の 10 検体に CPE が確認され、電子顕微鏡の観察からポリオーマ様ウイルス粒子(図 2A, 1B)とコロナウイルス様粒子(図 2A, 2B)が検出された。
- 4) 培養上性を用いて次世代シーケンサーを実施したところ、ポリオーマウイルス、ヘルペスウイルス、アデノアソシエイト様ウイルスに近似した配列が明らかになったが、コロナウイルス様の配列は検出されなかった。

D. 考察：

近年、多数の新しいハンタウイルスが検出されている。しかしながら、実際にウイルスが分離できている例は極めて少数で確認されているだけで 3 種類のウイルスしかない。一方解析手法は、マイクロアレイ、マルチプレックスリアルタイム PCR および次世代シーケンサーの網羅的解析手法を用いた検出法などが開発され未知の感染症の検出方法は飛躍的に向上してきている。しかしながらこれら新しい手法には多くの利点が認められているものの、全くの未知のウイルスの検出に対しては検出感が低いなどのウィークポイントも報告されている。今回我々は、4 種類のウイルスを検出

することに成功し、そのうちの 3 種類は新規ウイルスと予想される。ウイルス遺伝子の検出には成功したものの、ウイルスは分離できておらず効率よくウイルス分離する方法を開発する必要がある。そこで、トガリネズミ形目、齧歯目および翼種目の腎臓および肺からの初代細胞を分離し、未知の動物由来感染症の病原体分離ツールとしての利用を検討した。多様な生物種の細胞を保管、維持しておくことで、これら小型野生動物を宿主とする動物由来感染症が流行した場合に効率よく病原体を分離するツールとして利用することが可能となる。

今回、初代培養細胞の分離に成功した検体からウイルス様粒子の感染を確認し、初代培養細胞の分離に用いるような健康な野生動物であっても多くの病原体を保有している事実が改めて明らかになった。これら初代分離細胞のうち、少なくとも 11 株に CPE が確認され、電子顕微鏡および次世代シーケンサーを用いた解析でポリオーマウイルス、ヘルペスウイルス、アデノアソシエイト様ウイルスの検出に成功した。初代培養細胞は多くの病原体に対して感受性が高いことが報告されており、初代培養細胞の分離作業に伴い、予期せずに健康な野生動物が保有している不明病原体を分離、検出してしまう可能性が示された。今回の結果を踏まえ、事前に陽性動物を選別して目的とする陽性個体を特定してから分離作業を進めれば効率よく対象病原体を分離できる可能性があり、未知のウイルス分離に

有用であることが推測される。また、今回多くの新しいウイルスを分離できている可能性があり、更に解析を進めることでこれまで明らかになっていない新しい知見が得られる可能性が示唆された。

E. 結論

- 1) モンゴルのトガリネズミから Seewis virus(SWSV) および Khovsgol Lake virus (KHLV)、日本のトガリネズミから Sarufutsu virus(SRFV) および Shiretoko virus (SHRV)を検出した
- 2) トガリネズミ形目、齧歯目および翼手目の初代培養細胞の分離に成功した。
- 3) 分離できた初代培養細胞のうち、少なくとも 10 株に CPE が検出され、ポリオマウイルス、ヘルペスウイルス、アデノアソシエイト様ウイルスが検出された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1 論文発表

- 1) Novel Bat-borne Hantavirus, Vietnam. Arai, S., Nguyen, S. T., Boldgiv, B., Fukui, D., Araki, K., Dang, C. N., Ohdachi, S. D., Nguyen, N. X., Pham, T. D., Boldbaatar, B., Satoh, H., Yoshikawa, Y., Morikawa, S., Tanaka-Taya, K., Yanagihara, R., and Oishi, K. *Emerging Infectious Diseases*.

19(7):1159-1161. 2013.

- 2) Molecular phylogenetic analysis of *Orientia tsutsugamushi* based on the *groES* and *groEL* genes. Arai, S., Tabara, K., Yamamoto, N., Fujita, H., Itagaki, A., Kon, M., Satoh, H., Araki, K., Tanaka-Taya, K., Takada, N., Yoshikawa, Y., Ishihara, C., Okabe, N., Oishi, K. *Vector-borne and zoonotic diseases*. 13(11): 825-829. 2013.

2. 学会発表

- 1) Amga Virus, A Newfound Hantavirus Harbored by the Laxmann's shrew (*Sorex caecutiens*) in Russia and Japan. Satoru Arai, Hae Ji Kang, Satoshi D. Ohdachi, Joseph A. Cook, Keiko Tanaka-Taya, Shigeru Morikawa, Nobuhiko Okabe, Richard Yanagihara. IX International Conference on HFRS HPS & Hantaviruses. June 5-7, 2013 in Beijing, China.
- 2) Newfound Hantavirus in the Pomona Roundleaf Bat (*Hipposideros pomona*) in Vietnam. Satoru Arai, Son Truong Nguyen, Dai Fukui, Satoshi D. Ohdachi, Yasuhiro Yoshikawa, Shigeru Morikawa, Keiko Tanaka-Taya, Richard Yanagihara, Kazunori Oishi. IX International Conference on HFRS HPS & Hantaviruses. June 5-7, 2013 in Beijing, China.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

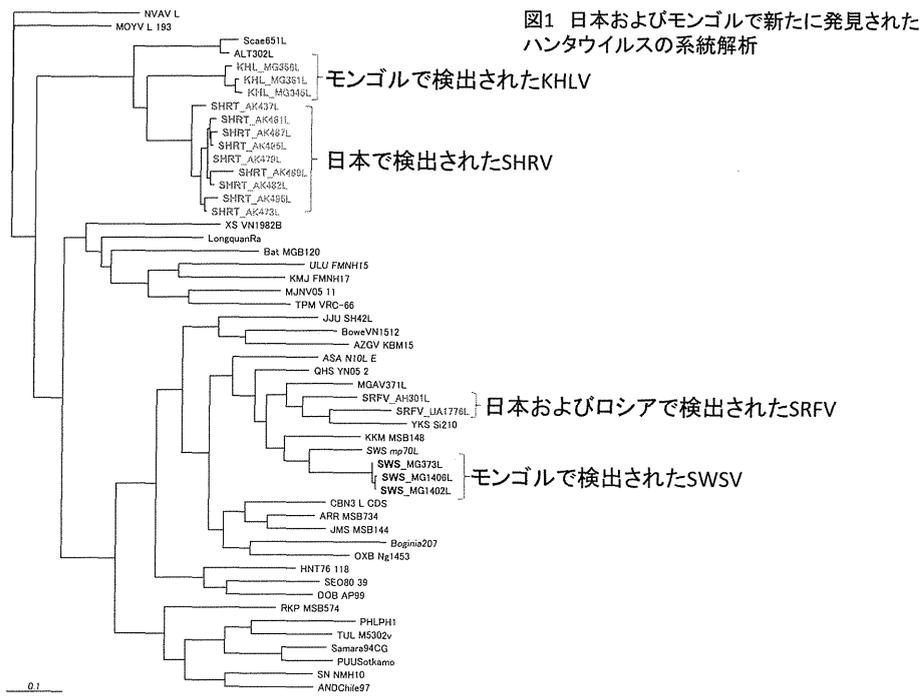


図2 培養細胞に認められたCPEと電子顕微鏡で確認されたポリオーマウイルス様粒子(B21L)

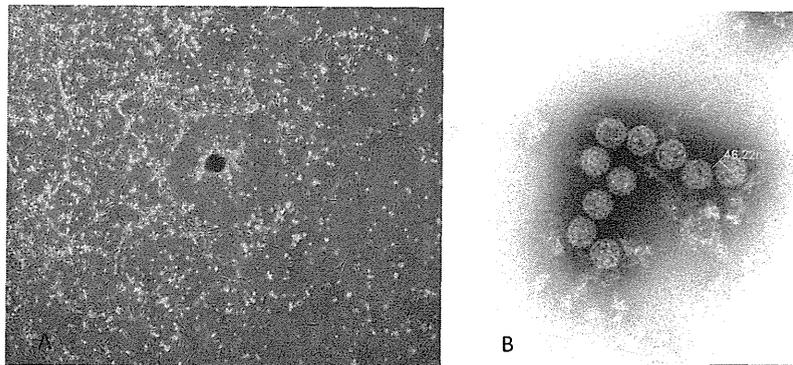
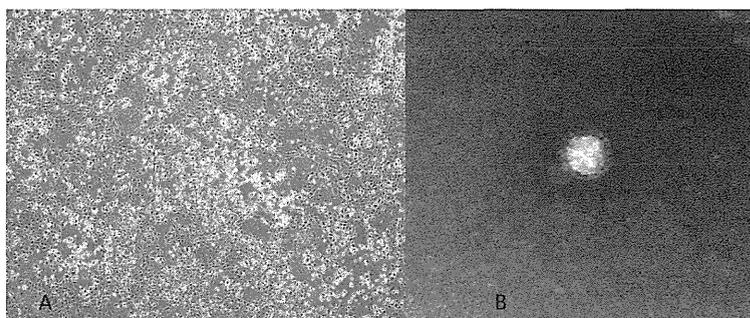


図3 培養細胞に認められたCPEと電子顕微鏡で検出されたコロナウイルス様粒子(B30L)



動物由来感染症の対応に関する研究

分担研究課題：狂犬病ウイルスの街上毒と固定毒の病原性の差を規定すると考えられる

G 蛋白等の細胞内局在を決定する蛋白部位の解明

研究分担者：井上 智 (国立感染症研究所・獣医科学部)

研究要旨：狂犬病ウイルス (RV) は神経組織に親和性が強い (-) 鎖の一本鎖 RNA ウイルスであり、感染すると数カ月の潜伏期後に致死性の脳炎を引き起こす。自然感染では潜伏期間中に RV に対する抗体は産生されずウイルスも検出できないが、野外株である街上毒を実験室内継代等で弱毒化させた固定毒は容易に中和抗体を誘導し、潜伏期間の短縮と一定化、免疫誘導能の増強といった特徴を示す。本研究では、RV の G 蛋白質糖鎖修飾が街上毒と固定毒で異なることに注目して Kyoto 株 (街上毒) と CVS-26 株 (固定毒) の G 蛋白質の細胞内発現とその局在を *in vitro* で比較解析したところ、MNA 細胞内に感染した Kyoto 株 (街上毒) と CVS-26 株 (固定毒) で見られた G 蛋白質局在の違いが G 蛋白質のみを MNA 細胞に発現させた場合でも見られたことから、固定毒に特徴的な細胞膜からの RV 出芽は固定毒化で獲得された RV の G 蛋白質 204 位への N 型糖鎖付加が大きく関与していることが明らかとなり、街上毒と固定毒の G 蛋白質を詳細に比較解析することによって固定毒の中和抗体誘導能や潜伏期間の短縮や一定化の機序を明らかにすることが可能になると期待された。

研究協力者：浜本紀子、宇田晶彦、野口章
加来義浩、奥谷晶子 (国立感染症研究所・
獣医科学部)、飛梅実 (同・感染病理部)、
朴天鎬 (北里大学・獣医病理学研究室)

A. 目的：

狂犬病ウイルス (RV) は神経組織に親和性が強い (-) 鎖の一本鎖 RNA ウイルスであり、感染すると数カ月の潜伏期後に致死

性の脳炎を引き起こす。自然感染では潜伏期間中に RV に対する抗体は産生されずウイルスも検出できないが、野外株である街上毒を実験室内継代等で弱毒化させた固定毒は容易に中和抗体を誘導し、潜伏期間の短縮と一定化、免疫誘導能の増強といった特徴を示す (図 1)。本研究の目的は、RV の G 蛋白質糖鎖修飾が街上毒と固定毒で異なる (図 2) ことに注目して Kyoto 株 (街

上毒) と CVS-26 株 (固定毒) の G 蛋白質の細胞内発現とその局在を *in vitro* で比較解析して街上毒が固定毒化によって獲得したと考えられる防御免疫の誘導機序等を明らかにすることである。

B. 材料と方法 :

ウイルス : 狂犬病ウイルス Kyoto 株 (街上毒) , CVS-26 株 (固定毒) を用いた。

細胞 : ウイルス感染にはマウスニューロblastoma 由来の MNA 細胞を用いた。蛋白質発現にはヒト胎児腎細胞由来の HEK293T 細胞および MNA 細胞を用いた。

間接蛍光抗体法 (IFA) : ウイルス感染細胞およびウイルス蛋白質発現細胞を 10% 中性緩衝ホルマリンで固定した。固定後に, 0.2% Triton-X100 による細胞膜透過処理を行うか否かで細胞質内および細胞膜上でのウイルス蛋白質の局在を調べた。G 蛋白質の検出には抗 G 蛋白質マウスモノクローナル抗体 7-1-9 を一次抗体に, FITC 標識抗マウス IgG ヤギ抗体を二次抗体に用いた。小胞体の染色には ER-ID Red assay kit (Enzo) を用いた。細胞内の G 蛋白質と小胞体の局在は共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

ウェスタンブロット (WB) : 細胞を 5% SDS で可溶化後, 蛋白質を SDS-PAGE (8% ポリアクリルアミドゲル) で分離し, PVDF メンブレンに電気泳動的に転写した。G 蛋白質は 7-1-9 抗体を一次抗体に, HRP 標識抗マウス IgG ヤギ抗体を二次抗体として反応させ, ECL Plus Western Blotting

Detection System (GE Health care) を用いて検出した。

感染実験: MNA 細胞にウイルス (multiplicity of infection; MOI=0.01) を接種し, Kyoto 株接種細胞では接種 5 日後に, CVS-26 株接種細胞では接種 3 日後にホルマリン固定して, IFA により G 蛋白質の局在を解析した。

G 蛋白質の発現 : Kyoto 株および CVS-26 株の G 蛋白質をコードする cDNA を組み込んだ発現プラスミドを MNA 細胞にトランスフェクトし, 2 日後に細胞を固定して IFA により G 蛋白質の局在を解析した。また, G 蛋白質発現プラスミドを HEK293T 細胞にトランスフェクトし, 2 日後に細胞を可溶化して WB を行った。

糖鎖付加阻害 : G 蛋白質発現プラスミドをトランスフェクトした HEK293T 細胞および MNA 細胞を, それぞれツニカマイシン ($1 \mu\text{g/ml}$) 存在下で培養し, G 蛋白質への糖鎖付加を阻害した。培養 2 日後に G 蛋白質の糖鎖付加は WB で解析し, 細胞内局在は IFA で解析した。

変異導入 G 蛋白質の発現 : G 蛋白質の N 型糖鎖付加部位のアミノ酸を置換する変異を導入した G 蛋白質発現プラスミドをそれぞれ HEK293T 細胞および MNA 細胞にトランスフェクトし, 変異導入 G 蛋白質を発現した。変異導入 G 蛋白質は, 変異導入部位及び置換アミノ酸に応じて以下の様に命名した。Kyoto-G(N37S), Kyoto-G(N319Q), CVS-26-G(N37S) , CVS-26-G(N204S) , CVS-26-G(N319Q) , CVS-26-G (N204S,

N319Q), CVS-26-G (N37S, N204S, N319Q) は 1 箇所から 3 箇所の糖鎖付加部位を欠失した G 蛋白質で、Kyoto-G(S204N)は糖鎖付加部位を追加した G 蛋白質である。G 蛋白質の糖鎖付加は WB で解析し、細胞内局在は IFA で解析した。

組み換え狂犬病ウイルス： CVS-26 株の G 遺伝子を Kyoto 株の G 遺伝子に入れ替えた組み換え狂犬病ウイルス rCVS-26(Kyoto-G)を、reverse genetics により作出した。

rCVS-26(Kyoto-G)感染細胞における G 蛋白質の局在：MNA 細胞に Kyoto 株、CVS-26 株および rCVS-26(Kyoto-G)を感染させて、G 蛋白質の局在を IFA により解析した。

C. 研究成果：

MNA 細胞に感染した CVS-26 株の G 蛋白質は細胞膜に局在し、Kyoto 株では細胞内小胞器官に局在していた (図 3)。この G 蛋白質の局在は CVS-26 株と Kyoto 株の組換え G 蛋白質を MNA 細胞で発現した場合にも同様に見られた (図 4)。また、Kyoto 株 G 蛋白質の N 型糖鎖付加変異体 (S204N) も細胞膜で G 蛋白質の局在が促進された (図 5)。CVS-26 株 G 蛋白質の N 型糖鎖欠失変異体 (N204S) では細胞内小胞器官と細胞膜の両方で G 蛋白質が見られた (図 6)。Kyoto 株 G 蛋白質の N 型糖鎖付加変異 (S204N) と CVS-26 株 G 蛋白質の N 型糖鎖欠失変異 (N204S) については tunicamycin 処理によって確認を行った (表 1、図 7)。

D. 考察：

MNA 細胞内に感染した Kyoto 株 (街上毒) と CVS-26 株 (固定毒) で見られた G 蛋白質局在の違いが G 蛋白質のみを MNA 細胞に発現させた場合でも見られたことから、固定毒に特徴的な細胞膜からの RV 出芽は固定毒化で獲得された RV の G 蛋白質 204 位への N 型糖鎖付加が大きく関与していると考えられた。今後、街上毒と固定毒の G 蛋白質を詳細に比較解析することによって固定毒の中和抗体誘導能や潜伏期間の短縮や一定化の機序を明らかにすることが可能になると期待された。

E. 結論

本研究では、RV の G 蛋白質糖鎖修飾が街上毒と固定毒で異なることに注目して Kyoto 株 (街上毒) と CVS-26 株 (固定毒) の G 蛋白質の細胞内発現とその局在を *in vitro* で比較解析したところ、MNA 細胞内に感染した Kyoto 株 (街上毒) と CVS-26 株 (固定毒) で見られた G 蛋白質局在の違いが G 蛋白質のみを MNA 細胞に発現させた場合でも見られたことから、固定毒に特徴的な細胞膜からの RV 出芽は固定毒化で獲得された RV の G 蛋白質 204 位への N 型糖鎖付加が大きく関与していることが明らかとなり、街上毒と固定毒の G 蛋白質を詳細に比較解析することによって固定毒の中和抗体誘導能や潜伏期間の短縮や一定化の機序を明らかにすることが可能になると期待

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

- 1) 小宮拓巳、山田健太郎、君付和範、井上 智、西園 晃、朴 天鎬。狂犬病ウイルス (1088-N4#14) に感染後耐過した ddY マウスの中樞神経系に関する病理学的研究。第 156 回日本獣医学会学術集会、2013 年 9 月 20 日-22 日、岐阜大学、岐阜県
- 2) 君付和範、小宮拓巳、井上 智、山田健太郎、西園 晃、朴 天鎬。狂犬病ウイルス (1088-NO) を後肢筋肉内に接種したヌードマウスの中樞神経系および末梢組織病変。第 156 回日本獣医学会学術集会、2013 年 9 月 20 日-22 日、岐阜大学、岐阜県
- 3) Nguyen Thi Kieu Anh, Nguyen Vinh Dong, Nguyen Tuyet Thu, Satoshi Inoue, Ngo Chau Giang, Nguyen Thi Hong Hanh, Nguyen Tran Hien. Genetic characterization of rabies virus circulated in Vietnam, 2007- 2012. 第 156 回日本獣医学会学術集会、2013 年 9 月 20 日-22 日、岐阜大学、岐阜県
- 4) 濱本紀子、飛梅実、加来義浩、宇田晶

彦、朴天鎬、野口章、森川茂、井上智。

狂犬病ウイルス固定毒 (CVS-26 株) で見られる G 蛋白質 204 番目の N 型糖鎖付加は固定毒に特徴的な細胞からの出芽に関与している。第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013 年 11 月 10 日-12 日、神戸国際会議場、神戸市、兵庫県

- 5) 飛梅 実、佐藤由子、長谷川秀樹、濱本紀子、井上 智、野口 章。街上毒狂犬病ウイルスの宿主動物内局在の解析。第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013 年 11 月 10 日-12 日、神戸国際会議場、神戸市、兵庫県

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1. 狂犬病

- すべての哺乳類に感染する人獣共通感染症。
- 主に感染動物から受けた咬傷を介して感染する。
- 発症すると重篤な神経症状を呈し、ほぼ100%死亡する。

病原ウイルス：狂犬病ウイルス

- **街上毒**：自然感染動物から分離されたウイルス株
- **固定毒**：実験室内で継代を繰り返して作出された株

	街上毒	固定毒
潜伏期	長く、不定	短く、一定
末梢感染性	強い	弱い
病原性	強い	弱～強
免疫誘導能	低い	高い

図2. 狂犬病ウイルスG蛋白質のN型糖鎖付加部位の違い

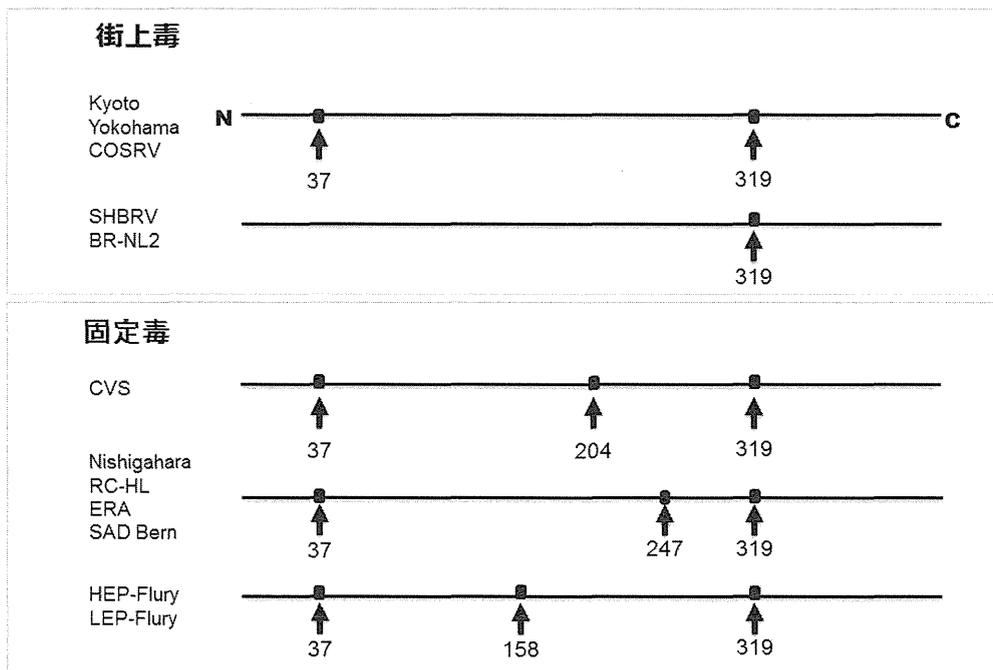
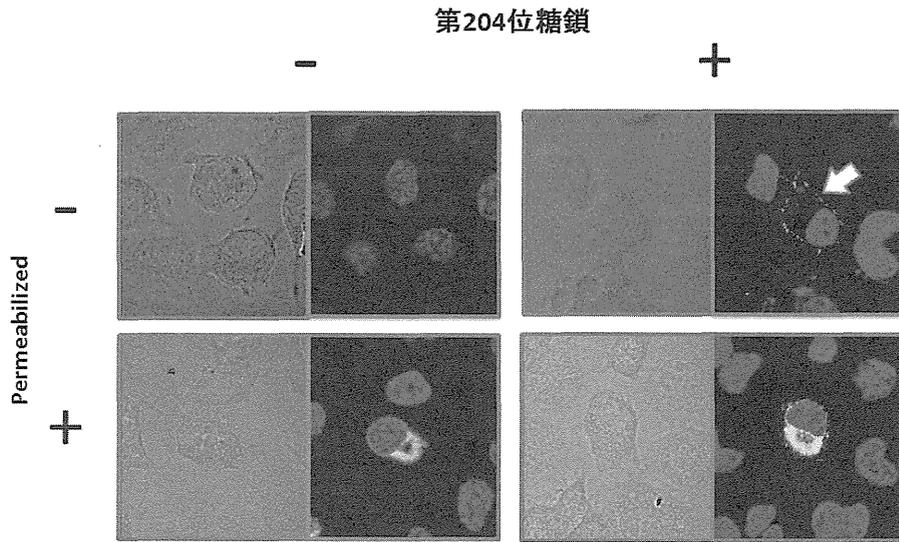


図5. Kyoto株のG蛋白質の第204位N型糖鎖の付加

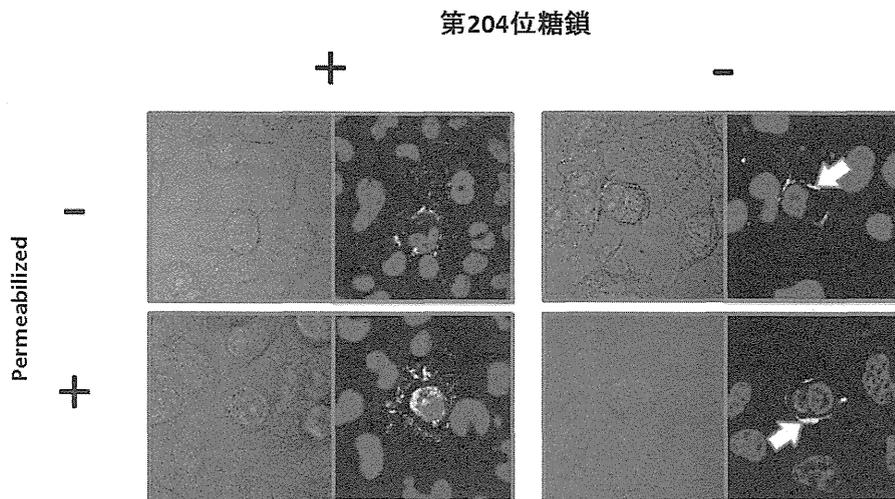
発現ベクター : pcDNA3.1/Zeo



+ : 0.2% Triton X-100 in PBS, - : PBS

図6. CVS-26株G蛋白質の第204位N型糖鎖の欠損

発現ベクター : pcDNA3.1/Zeo



+ : 0.2% Triton X-100 in PBS, - : PBS

図7. G蛋白質のN型糖鎖付加をtunicamycin処理で確認

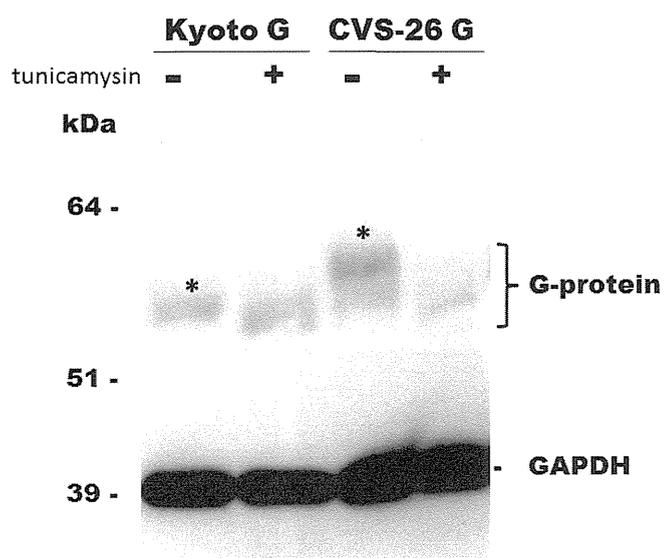


表1. Gタンパク質の糖鎖変異導入部位

G protein	37	204	319
Kyoto G	+	-	+
Kyoto G (S204N)	+	+	+
CVS-26 G	+	+	+
CVS-26 G (N204S)	+	-	+