

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I. その他

3-1) 持続感染細胞クローンを用いた多様な異常型プリオンの検出・評価系の確立

本研究の一部は一般社団法人日本血液製剤機構との共同研究として実施した。本研究に用いた vCJD 株は米国赤十字社 Dr. Larisa Cervenakova より分与された。また、RK13mo1 株は UMR INRA/ENVIT 1225 Interactions Hôtes- Agents Pathogènes Pathologie du bétail の Dr. Didier ViletteE より分与された。

3-2) 異常型プリオンの in vivo 検出系の評価に関する研究

本研究の細胞培養に関する一部の研究は一般社団法人日本血液製剤機構との共同研究として実施した。本研究に用いた細胞株 (MV63 及び bSP-SC_148) は米国赤十字社 Dr. Larisa Cervenakova より分与された。

表 1 免疫抑制状態にある患者で特定の症状が報告されているウイルス

ウイルス名	略称	副作用症状
アデノウイルス	ADV	アデノウイルス感染
RS ウイルス	RSV	RS ウイルス感染
パルボウイルス B19 型	B19	伝染性紅斑, 赤芽球癆
ヒトパピローマウイルス	HPV	子宮頸部癌
A 型肝炎ウイルス	HAV	A 型肝炎
B 型肝炎ウイルス	HBV	B 型肝炎
C 型肝炎ウイルス	HCV	C 型肝炎
E 型肝炎ウイルス	HEV	E 型肝炎
インフルエンザウイルス	FLU	インフルエンザ
サイトメガロウイルス	CMV	サイトメガロウイルス感染
単純ヘルペスウイルス	HSV	ヘルペスウイルス感染, カポジ水痘様発疹
水痘帯状疱疹ウイルス	VZV	水痘, 帯状疱疹
エプスタインバーウイルス	EBV	エプスタインバーウイルス感染
ヒトヘルペスウイルス 6 型	HH6	ヘルペスウイルス 6 感染, 突発性発疹
ヒトヘルペスウイルス 8 型	HH8	ヘルペスウイルス 8 感染, カポジ肉腫
JC ウイルス	JCV	JC ウイルス感染, 進行性多巣性白質脳症
BK ウイルス	BKV	BK ウイルス感染, ポリオーマウイルス関連腎症
ヒトロタウイルス	HRV	ロタウイルス胃腸炎
ヒト免疫不全ウイルス	HIV	HIV 感染, 免疫不全

表2 胎児や母体に特定の症状が現れるウイルス

ウイルス名	報告者・年	概要
風疹ウイルス	Pandolfi, 2009 IDWR, 2013	欧州における2001年から2003年までの先天性風疹症候群の報告数は47件だった。 日本における先天性風疹症候群の累積報告数は、2012年で5件、2013年で31件だった。
HPV	Takakuwa, 2006 Singhal, 2009 Park, 2012	日本で妊娠女性1183人を調査した結果、全体の感染率は12.5%であった。そのうち、25歳未満の女性における感染率は22.6%で、25歳以上の女性における感染率(11.3%)よりも有意に高かった。 出生時に発生することが報告されている病気は喉頭乳頭腫症のみで、100,000出生あたり、1-4件の割合で発症する。 韓国で妊娠女性291人を調査した結果、母体の感染率は18.9%、新生児の感染率は3.4%で、垂直伝播率は18.2%であった。
B19	Miller, 1998 Enders, 2004 Yaegashi, 2001 Sarfraz, 2009 Lassen, 2012	英国でB19に感染した妊娠女性527人を調査した結果、そのうちの15%で胎児死亡を経験しており、コントロール(5%)よりも高かった。なお、母体の感染はIgGまたはIgMで確認している。 ドイツでB19感染が血清学的に確認された妊娠女性1018人を調査した結果、妊娠初期に感染した女性の11.0%で胎児死亡を経験しており、コントロール(5.4%)よりも高かった。 日本で胎児水腫168例について調査した結果、原因不明の61例中13例がIgM抗体陽性であり、伝染性紅斑流行期には原因不明例の31%を占めていて、非流行期(5%)よりも有意に高かった。 ノルウェーで35940人の妊娠女性を調査した結果、胎児死亡を経験した女性281人中2人(0.7%)とランダムに選択されたコントロールの女性957人中9人(0.9%)がIgM抗体陽性であり、粗オッズ比は0.8(95% CI; 0.2-3.5)で、母体におけるB19感染は胎児死亡と関連しなかった。 デンマークで2918件の妊娠登録と8429件の出生登録を用いて調査した結果、妊娠初期のIgM陽性は71%の胎児死亡上昇と関連した。オッズ比は1.71(95% CI; 1.02-2.86)。ただし、B19が原因と考えられるのは総胎児死亡の0.1%のみで、流行期間中は1%程度になると考えられた。

HBV	Singhal, 2009	母体が妊娠初期に感染した場合は抗体が産生されるため、垂直伝播率は 10% 以下だが、妊娠後期に感染した場合は 80-90% になる。
HEV	Kumar, 2004 Boccia, 2006	インドで 62 人の黄疸症状を持つ妊娠女性を調査した結果、45.2%が HEV に感染していた。HEV 陽性の妊娠女性における死亡率は 26.9%。垂直伝播率は 33.3%であった。 スーダンで 253 人の HEV 患者を調査した結果、61 人が妊娠女性で、そのうち 19 人 (31.1%) が死亡していた。また、1133 人の妊娠女性を調査した結果、220 人が黄疸症状を示していて、そのうち 18 人 (8.2%) が死亡していた。
CMV	Yow, 1988 Colugnati, 2007 Singhal, 2009	米国で 4578 人の妊娠女性を調査した結果、52%が抗体陽性であった。2.2%が妊娠時に初感染を経験し、垂直伝播率は 24%であった。出生時無症候性小児 16 人のうち、3 人に聴力損失、1 人に発達遅延が認められた。 米国で 11859 人の血清検査を用いて解析した結果、1 年あたり 27000 人の初感染が生じると推測された。 出生時に 0.2-2.2% が感染している。症候性の新生児における死亡率は 30%になり、生き残った場合でも 70-90%は聴力損失・精神遅滞・視力障害等の神経障害を有する。
HSV	Brown, 1991 MMWR, 2006 Singhal, 2009	米国で 15923 人の無症候性の妊娠女性を調査した結果、56 人 (0.35%) から HSV が単離された。そのうち 18 人は初感染で垂直伝播率は 33%であった。 母体が妊娠初期に感染した場合は抗体が産生されるため、垂直伝播率は 1% 以下だが、妊娠後期に感染した場合は 30-50% になる。 妊娠女性のほうが非妊娠女性よりも再発率が高く、とくに妊娠末期においては感染歴のある女性の 25%で再発する。
VZV	Rajan, 2001 Pandolfi, 2009	初感染の妊婦は水痘肺炎のリスクが高く、未治療だと死亡率は 40%以上になる。 欧州における 10-12 歳までの感染率は 90%以上である。英国における 15-44 歳の未経産女性における感染は 10 万人当たり 262 件、妊娠中の感染は 10 件、先天性感染は 0.06 件、新生児感染は 0.16 件と見積もられている。
HTLV	Singhal, 2009	妊婦への感染は痙性麻痺や脊髄症の原因となる。
HIV	Singhal, 2009	インドにおける感染率は 0.36%であるため、97000 人の感染妊娠女性から 30000 人の感染児が生まれると考えられている (垂直伝播率 25-30%)。

表3 ウイルス受容体分子と、それらを利用することが知られているウイルス

Receptor	Virus	Ref
CXCR4 (C-X-C chemokine receptor type 4)	HIV	5, 10
XPr1	Xenotropic and polytropic murine leukemia virus	1
scavenger receptor class A member 2, macrophage receptor MARCO, macrophage receptor with collagenous structure)	Adenovirus (C)	3
Langerin (CD207, C-type lectin domain family 4 member K)	HIV	2
JAM (Junction adhesion molecule)	Reovirus	10
	Orthorheovirus	1
Flvcr	Feline leukemia virus C	1
$\alpha 2\beta 1$ (Vla-2, CD49b)	Echovirus 1 and 8	1
$\alpha 2\beta 1, \alpha 4\beta 1$	Human rotavirus	1
$\alpha 2\beta 1, \alpha V\beta 3$	Echovirus	2
$\alpha 3\beta 1, \alpha 2\beta 1$	Human herpesvirus 8	1
	KSV (HHV10)	2
$\alpha M\beta 2$	Adenovirus type 2 (subgroup C)	1
αV integrins	Adenovirus type 9 (subgroup C)	1
	Adenovirus 2	10
$\alpha V\beta 3$ (vitronectin receptor)	Foot and mouth disease virus (FMDV)	2
	Coxsackievirus A9	1
	Echovirus 22	1
$\beta 3$ integrins	Hantavirus	1
integrins	Rotavirus	10
Chondroitin sulfate proteoglycans	Vaccinia virus	2
	Circovirus	2
	HSV1 and 3	2
GM1	SV40 polyomavirus	10
Histo-blood group antigens	Norovirus	10
Heparan sulfate proteoglycans	Vaccinia virus	2
	Adenovirus	2
	Norovirus	2
	Circovirus	2
	Dengue virus	2
	HCV	2

	CMV	2
	HSV1 and 2	2
	KSV (HHV9)	2
	RSV	2
	Rhinovirus89	2
	Foot and mouth disease virus (FMDV)	2
	HIV	2
	HTLV	2
Lactoseries tetrasaccharide c	John Cunningham polyomavirus	10
sialic acid	Adenovirus	2
	Rhinovirus87	2
	Rotavirus	10
	Influenza A	10
α 2,3 sialic acid	Sendai virus	2
	Influenza A virus (avian)	2
α 2,6 or α 2,3 sialic acid	Rotavirus	2
α 2,6 sialic acid	Influenza A virus (human)	2

表 4 同定されたウイルス受容体タンパク質と代表的なペプチド. 各条件で MS/MS による同定が可能な程度に検出されたものを y で, 検出されなかったか, または量が不十分だったものを n で示す.

Entry	Accession	position	Sequence	MH+ [Da]	z m/z	RT [min]	detection		
							crude	Tris	guanidine
intercellular adhesion molecule 1 [Cricetulus griseus]	350539683	290-300 210-222	cVLELADQILK QLWTFDLPVTEPK	1302.70 1573.83	2 651.86 2 787.42	124.26 123.14	n n	y y	y y
low-density lipoprotein receptor [Cricetulus griseus]	350540068	335-352 429-441	IGYEcLcPNGFQLVDQHR NVVALDTEVANNR	2207.99 1414.73	3 736.67 2 707.87	106.59 64.95	n n	n y	y y
Shared peptide among MHC1 Hm1-C2, Hm1-C4, and Hm1-C5		244-280	EEEEQTQDMELVETRPSGDGTFQK	2783.23	3 928.42	74.64	n	y	y
MHC class I antigen Hm1-C4 [Cricetulus griseus]	345842479	156-169 79-89	TWTAADTAAQITQR EGPEYWEEETR	1533.77 1424.60	2 767.39 2 712.80	77.79 68.21	n n	y y	y y
MHC class I antigen Hm1-C5 [Cricetulus griseus]	345842477	268-280 79-89	WAAVVVPSGEEQK EGPEYWEGQTR	1399.73 1351.60	2 700.37 2 676.30	71.39 61.68	n n	n y	y y
PREDICTED:									
neural cell adhesion molecule 1 [Cricetulus griseus]	354472688	60-70	FFLcQVAGEAK	1270.62	2 635.81	97.56	n	y	y
PREDICTED:									
nucleolin [Cricetulus griseus]	354502803	449-470	NLSFNITEDELKEVFEDALEIR	2624.32	3 875.44	177.63	n	y	y
40S ribosomal protein SA [Cricetulus griseus]	345842370	129-155 64-80	ADHQPLTEASYVNLPTIALcNTDSPLR AIVAIENPADVSVISSR	2997.49 1740.96	3 999.83 2 870.99	109.89 82.50	y y	y y	n n
PREDICTED: dystroglycan [Cricetulus griseus]	354476371	795-823 518-533	GVPIIFADELDDSKPPSSSMLLQEEK IPSDTFYDNEDTTTQDK	3152.62 1861.80	3 1051.54 2 931.40	128.69 64.72	n n	n n	y y
PREDICTED: chondroitin sulfate proteoglycan 4 [Cricetulus griseus]	354471469	234-247 715-734 1759-1771	SQQAPLAFQAGDQR QGAGGVEGTEWWETLAFHQR GQLLVSEEPLHAR	1516.75 2259.07 1448.79	2 758.88 3 753.69 2 724.90	62.02 120.02 69.25	n n n	y y y	y y y
PREDICTED: sulfated glycoprotein 1 [Cricetulus griseus]	354494438	171-185	EAVDSYLPVILDMIK	1705.92	2 853.46	161.51	n	y	y

表 5 調製した細胞及び培養液上清画分と PrP の検出

Source	Sample	PrP by WB
bSP-SC_148 (PrP ^C production cells)	1 Cell extract	+
	2 Culture sup	Not detected
	3 Ultra centrifuged sup (u/c-p)	Not detected
	4 Ultra centrifuged ppt (u/c-s)	Not detected
	5 TCA treated u/c-s (u/c-s TCA)	+
MV63 (PrP ^{Res} production cells)	1 Cell extract	+
	2 Culture sup	Not detected
	3 u/c-p	+
	4 u/c-s	Not detected
	5 u/c-s TCA	+
Medium (Mock treat)	1 Cell extract (proper)	Not detected
	2 Culture sup (proper)	Not detected
	3 u/c-p (proper)	Not detected
	4 u/c-s (proper)	Not detected
	5 u/c-s TCA (proper)	Not detected

表 6 mo-vCJD の持続感染細胞 MV63 より調製した細胞抽出画分 (cell extract), 培養液の超遠心沈殿画分 (u/c-p), 超遠心上清画分の TCA 沈殿 (u/c-s-TCA) を感染させた動物の所見

	動物 番号	観察期間 (dpi)	HE 染色 所見	免疫染色 所見	脳検体 WB PrP ^{Res} 検出
Cell extract	1-1	202	+	+	+
	1-2	202	+	+	+
	1-3	175	+	+	+
	1-4	181	+	+	+
	1-5	202	+	+	+
	1-6	181	+	+	+
	1-7	195	+	+	+
	1-8	195	+	+	+
	1-9	180	+	+	+
	1-10	195	+	+	+
u/c-p	2-1	202	+	+	+
	2-2	202	+	+	+
	2-3	202	+	+	+
	2-4	202	+	+	+
	2-5	202	+	+	+
	2-6	202	+	+	+
	2-7	202	+	+	+
	2-8	202	+	+	+
	2-9	202	+	+	+
	10	202	+	+	+
u/c-s-TCA	3-1	202	-	-	-
	3-2	202	-	-	-
	3-3	124	-	-	-
	3-4	202	-	-	-
	3-5	202	-	-	-
	3-6	202	-	-	-
	3-7	124	-	-	-
	3-8	202	-	-	-
	3-9	153	-	-	-
	3-10	153	-	-	-
	3-11	202	-	-	-

表7 MSCにスパイクした *M. hyorhinitis* の MycoTOOL PCR による検出

<i>M. hyorhinitis</i>	Carrier DNA	MSC (cells/mL)						
		5×10 ⁶	5×10 ⁵	2×10 ⁵	5×10 ⁴	5×10 ³	5×10 ²	0
100 cfu/ml	-	4/4*	8/8	4/4	2/4	0/4	0/4	1/4
	+	nd	nd	nd	8/8	8/8	8/8	4/4
10 cfu/ml	-	2/4	7/8	2/4	0/4	0/4	0/4	1/4
	+	nd	4/4	4/4	8/8	7/8	6/8	4/4

*: 検出数/試験数 ; nd: not determined

表8 バリデーション用マイコプラズマ参照菌株の濃度とゲノムコピー数

Strain	Origin	Host	Post preservation titer (CFU/mL)		Genome copies/CFU ratio
			mean	SE	
<i>Acholeplasma laidlawii</i> NBRC 14400	Sewage	Bovine	2.87E+0 8	6.67E+0 6	18.92
<i>Mycoplasma fermentans</i> NBRC14854	Ulcerative balanitis	Human	7.97E+0 6	2.79E+0 6	67.38
<i>Mycoplasma hyorhinitis</i> NBRC14858	Nasal cavity of pig	Swine	2.19E+0 8	3.68E+0 7	10.23
<i>Mycoplasma orale</i> NBRC14477	Human-oro-pharynx of child	Human	1.18E+0 8	1.02E+0 7	22.20
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> NBRC14401	Human-atypical pneumoniae	Human	2.42E+0 7	6.86E+0 6	57.85
<i>Mycoplasma salivarium</i> NBRC14478	Saliva	Human	6.93E+0 7	4.11E+07	30.30
<i>Mycoplasma arginini</i> ATCC23838	Mouse brain experimentally infected with scrapies	Bovine, Caprine	5.30E+0 8	2.29E+0 7	8.11

表 9 MSC にスパイクしたマイコプラズマ参照株の MycoTOOL PCR による検出
(2×10^5 cells/mL, Carrier DNA+)

Strain	100cfu/ml	10cfu/ml	1cfu/ml
<i>A. laidlawii</i>	4/4*	4/4	0/4
<i>M. fermentans</i>	4/4	4/4	1/4
<i>M. hyorhinae</i>	4/4	4/4	2/4
<i>M. orale</i>	4/4	4/4	2/4
<i>M. pneumoniae</i>	4/4	4/4	4/4
<i>M. salivarium</i>	4/4	4/4	2/4
<i>M. arginini</i>	4/4	4/4	0/4

*: 検出数/試験数

表 10 CHO 細胞にスパイクしたマイコプラズマ参照株の MycoTOOL PCR による検出
(5×10^6 cells/mL)

Strain	100cfu/ml	10cfu/ml	1cfu/ml
<i>A. laidlawii</i>	2/2*	6/6	0/6
<i>M. fermentans</i>	2/2	2/2	2/2
<i>M. hyorhinae</i>	2/2	6/6	0/6
<i>M. orale</i>	2/2	6/6	2/6
<i>M. pneumoniae</i>	2/2	6/6	2/6
<i>M. salivarium</i>	2/2	6/6	2/6
<i>M. arginini</i>	2/2	6/6	1/6

*: 検出数/試験数

表11 新手法の一覧

分類と名称	検出対象	原理・特徴	検出・測定装置
1) 直接検出法			
蛍光顕微鏡法	菌体	微生物をフィルター上に捕集し、蛍光染色後、蛍光顕微鏡下で検出・計数する。	蛍光顕微鏡
レーザースキャニングサイトメトリー	菌体	微生物をフィルター上に捕集し、蛍光染色後、レーザースキャニングでフィルター全面をスキャンし、シグナルを検出する。精度が高い。	レーザースキャニングサイトメーター
フローサイトメトリー	菌体	蛍光染色した微生物を浮遊状態にし、高速でフローセル内を流しながらシグナルを検出する。迅速な解析が可能。	フローサイトメーター
On-chipフローサイトメトリー	菌体	フローサイトメトリーはマイクロ流路を刻んだデバイス（マイクロ流路デバイス）上で行う。前処理や染色を1枚のデバイス上で行うことも可能。	蛍光検出器
蛍光ファージアッセイ	菌体	蛍光標識したファージを細菌に感染させ、特定属種細菌を検出する。	蛍光顕微鏡等
2) 間接的測定法			
マイクロコロニー法	菌体	コロニー形成初期のマイクロコロニーを検出・計数する。	蛍光顕微鏡等
抗原検出法	抗原	微生物が持つ抗原に特異的な抗体を反応させ、発色反応や蛍光をもとに検出する。一部の微生物に対してキットが販売されている。	免疫クロマトグラフィー、マイクロプレートリーダー等
ファージアッセイ法	ファージの感染	検出対象とする細菌に特異的なファージを感染させ、溶菌により生じたプラークや菌体成分を検出する。	カンテン平板培地等
脂肪酸分析法	脂肪酸	微生物の種類によって脂肪酸組成が異なることを利用し、同定する。	ガスクロマトグラフィー等
フーリエ変換赤外分光法	菌体	菌体に赤外線を照射し、その赤外吸収スペクトルパターンから同定する。	フーリエ変換型赤外分光光度計
質量分析法	菌体成分	抽出した菌体成分の組成を質量分析により分析し、その組成から同定する。	質量分析計
核酸増殖法	核酸	対象とする微生物のDNAやRNAをPCR法、RT-PCR法やNASBA法、MAT法等で増幅し、検出する。定量的PCRを用いれば定量も可能である。	電気泳動装置、マイクロチップ電気泳動装置
フィンガープリント法	DNA	微生物から抽出したDNAを制限酵素で切断し、そのパターンをもとに同定する。	電気泳動装置、キャピラリー電気泳動装置、マイクロチップ電気泳動装置
3) 増殖評価法			
インピーダンス法	増殖能	微生物が増殖の際に培地成分を利用して産生する代謝産物の増加により生じる電気抵抗や電気伝導度の変化を検出する。	電気計測器
ガス測定法	増殖能	微生物の増殖に伴う二酸化炭素の産生や酸素の消費等のガス量の変化を検出する。	ガス測定器
生物発光法	ATP	微生物細胞内のATPを酵素反応による発光現象もとに検出する。	発光測定器
マイクロカロリメトリー	熱	微生物が産生する微弱な熱を測定する。	マイクロカロリメーター

那須正夫, 山口進康: 微生物迅速検出法「表20.1 新手法の一覧」(佐々木次雄, 棚元憲一, 川村邦夫編集「新GMP微生物試験法」, p.489-506, じほう, 2013.) を改変

表12 日局16参考情報に記載された代替法の一覧

分類と名称	検出対象	原理・特徴	検出・測定装置
1) 直接検出法			
蛍光染色による細菌数の迅速測定法	菌体	死菌を含めた全細菌は核酸染色剤で、生菌はエステラーゼなどを指標とした活性でそれぞれ染色し、蛍光を検出して菌数を計数する。	蛍光顕微鏡又はこれに準ずる蛍光観察装置
マイコプラズマ否定試験 B. 指標細胞を用いたDNA染色法	菌体	指標細胞に付着した菌体を核酸染色剤で染色し、蛍光を検出して菌数を計数する。	蛍光顕微鏡又はこれに準ずる蛍光観察装置
2) 間接的測定法			
遺伝子解析による微生物の迅速同定法	核酸	細菌の16SrRNA遺伝子又は真菌の18S-5.8SrRNA遺伝子間のスペーサー領域(ITS1)の塩基配列を解析し、データベースと照合して微生物を同定する。	DNA自動解析装置、DNA増幅装置
マイコプラズマ否定試験 C. ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)による検出法	核酸	16S-23SrRNA遺伝子間のスペーサー領域等の塩基配列に特異的なプライマーを用いて酵素的に増幅し、増幅産物を種々の方法により検出する。	DNA増幅装置、アガロース電気泳動装置

表13 細胞治療製品の総製品量と検体の採取量の考え方(BP)

総製品量	検体量
総量 \geq 10 mL	総量の1%
1 mL \leq 総量 $<$ 10 mL	100 μ L
総量 $<$ 1 mL	適用しない

表 14 国内で市販されている主なエンドトキシン測定試薬

ゲル化法 (試験管法)	比濁法 (キネティック法)	比色法	
		エンドポイント法	キネティック法
パイロテル (0.06EU/mL, ca.130min)	パイロテル-T (試験管法/プレート法)	PYROCHROME (プレート法) エンドスペシー ES-50M (プレート 法) エンドスペシー ES-50M (試験管法) トキシカラー LS-50M (プレート 法)	PYROCHROME (プレート法) エンドスペシー ES-50M (プレート 法) エンドスペシー ES-50M (試験管法) トキシカラー LS-50M (プレート 法)
PYROGENT (0.06EU/mL, ca.130min)	PYROGENT-5000 (プレート法) (0.01 ~ 100EU)	QCL-1000 (試験管法/プレート 法) (0.1 ~ 1EU)	Kinetic-QCL (プレート法) (0.005 ~ 50EU)
リムルス ES-II (0.015 EU/mL) PYROSTAR ES-F (0.03 EU/mL) リムルス HS-J/F J/F (0.03 EU/mL) リムルス HS-T リムルス HS-J/F, J (0.03 EU/mL)	リムルス ES-II (試験管法) (0.015EU/ml) PYROSTAR ES-F (試験管法) (0.03EU/ml) リムルス HS-T (試験管法) (0.015EU/ml) リムルス HS-J/F, J (試験管法) (0.03EU/ml) リムルス ES-III (試験管法) (0.015EU/ml)		リムルスカラー (試験管法/プレート 法) Endchrome-K (試験管法/プレート 法)

1. ここであげたプレート法は全て複数の検体を同時に測定するものであり、個別化医療製品のように患者一人ひとりの測定を行うには適していない
2. 試験管法は単一検体を測定することの出来る場合と複数検体を同時に測定する試薬キットに分類される

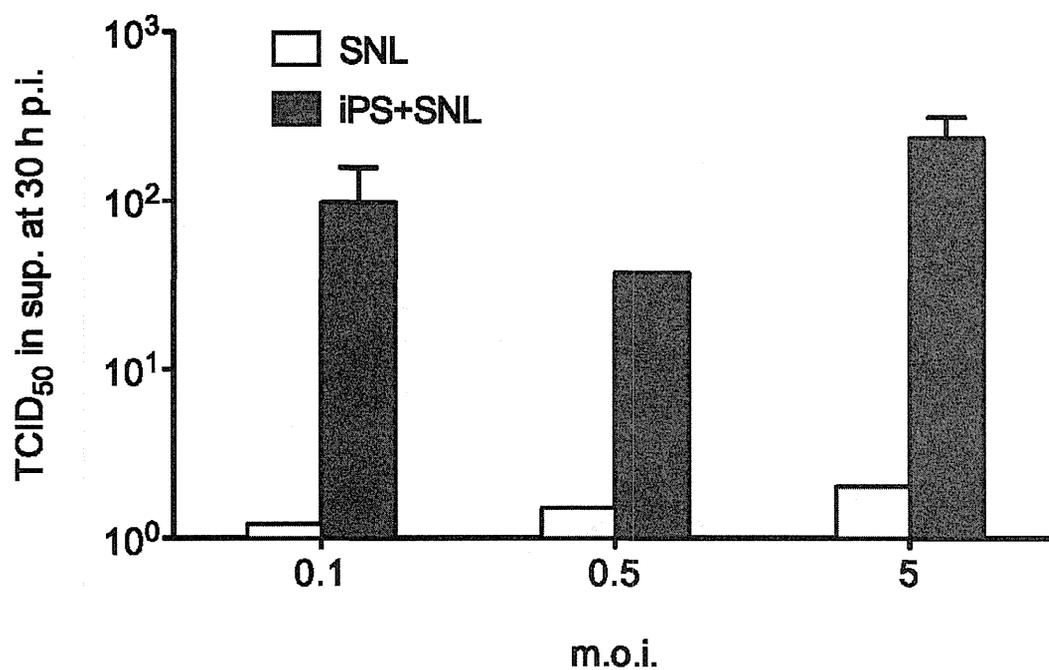


図1 iPS細胞に m.o.i.を変えてネコカリシウイルス (FCV) を感染 (2 h) させた後、培養. 30 時間後に上清のウイルス感染性を調べた. SNL 細胞のみでは、感染性が殆ど認められず、iPS 細胞存在下で FCV の産生が認められた.

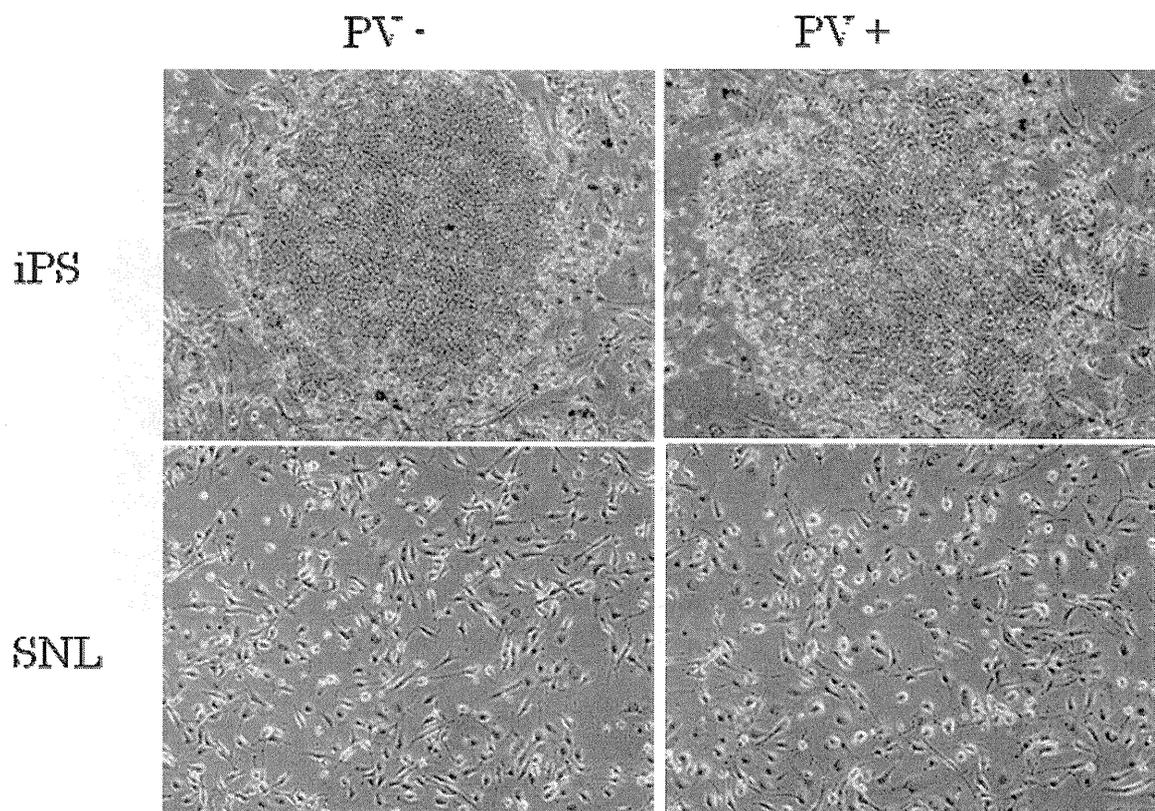


図2 ポリオウイルス感染後48時間後のiPS細胞。ポリオウイルス感染により細胞集団の縁から細胞が死滅し始めていることがわかる。SNL細胞はポリオウイルスに感染せず死滅しない。

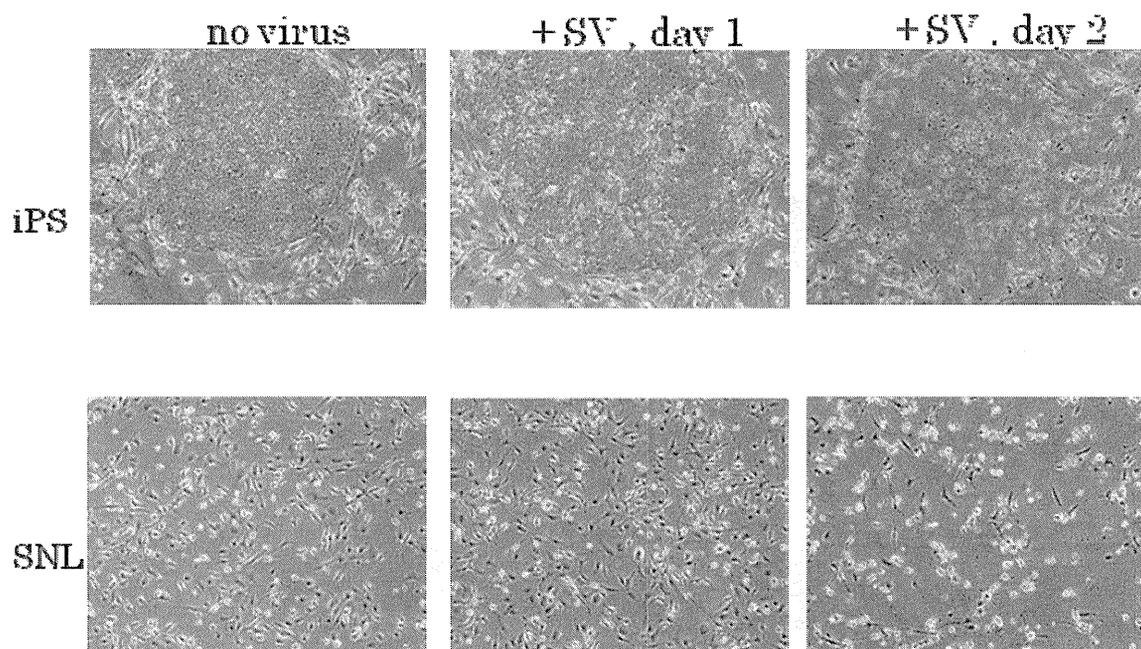


図3 シンドビスウイルス感染後 iPS 細胞. ウイルス感染により day 2 でほぼすべての iPS 細胞は細胞変性効果により死滅した. 同様に SNL 細胞もシンドビスウイルスにより死滅した.

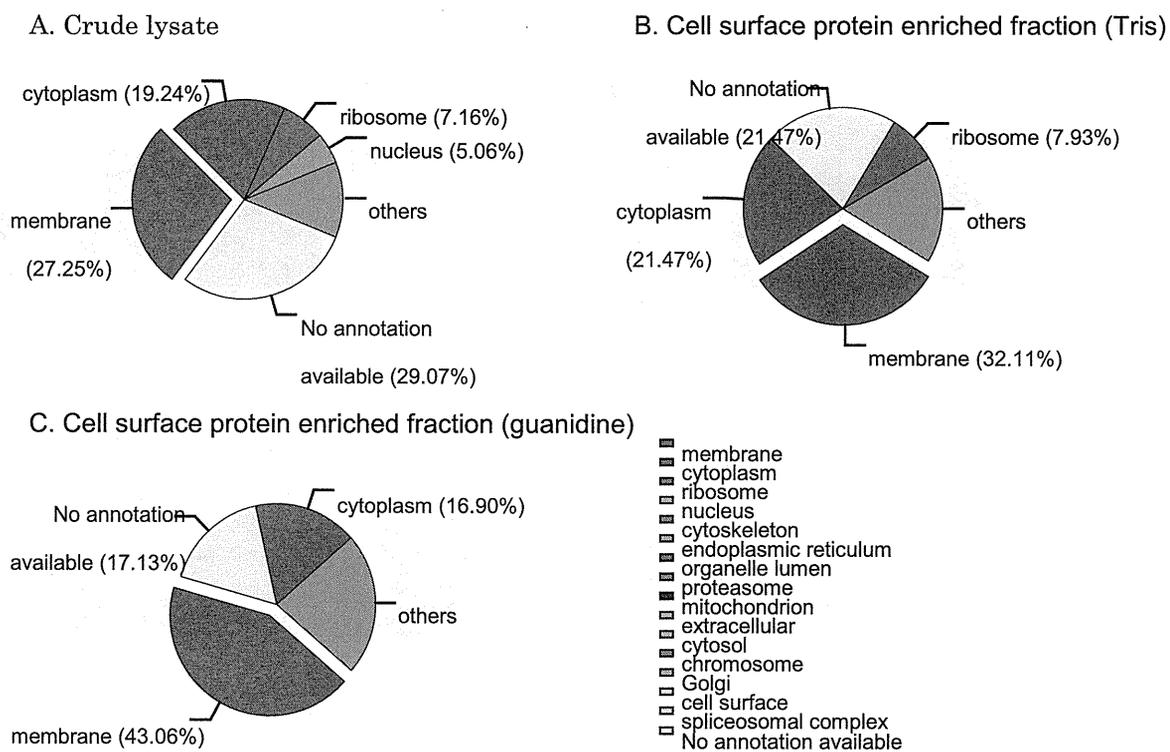
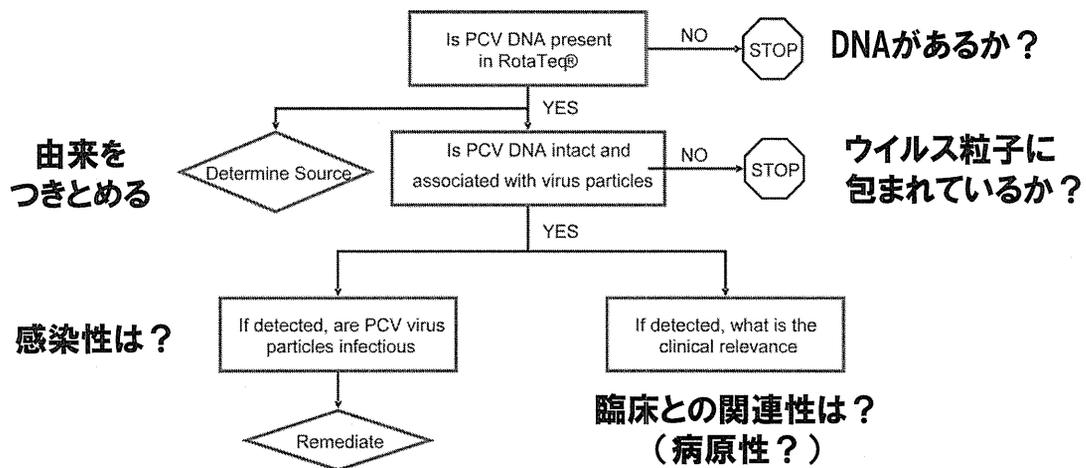


図 4 Sequest 検索ヒットタンパク質の細胞内分布



- ▶ qPCRでのPCV DNAフラグメントの検出
- ▶ ある程度の長さのフラグメントが検出された場合は、Porcine kidney (PK-15) cellを利用した*in vitro*感染性試験を実施

図5 RotaTeq®におけるPCV評価のディシジョンツリー

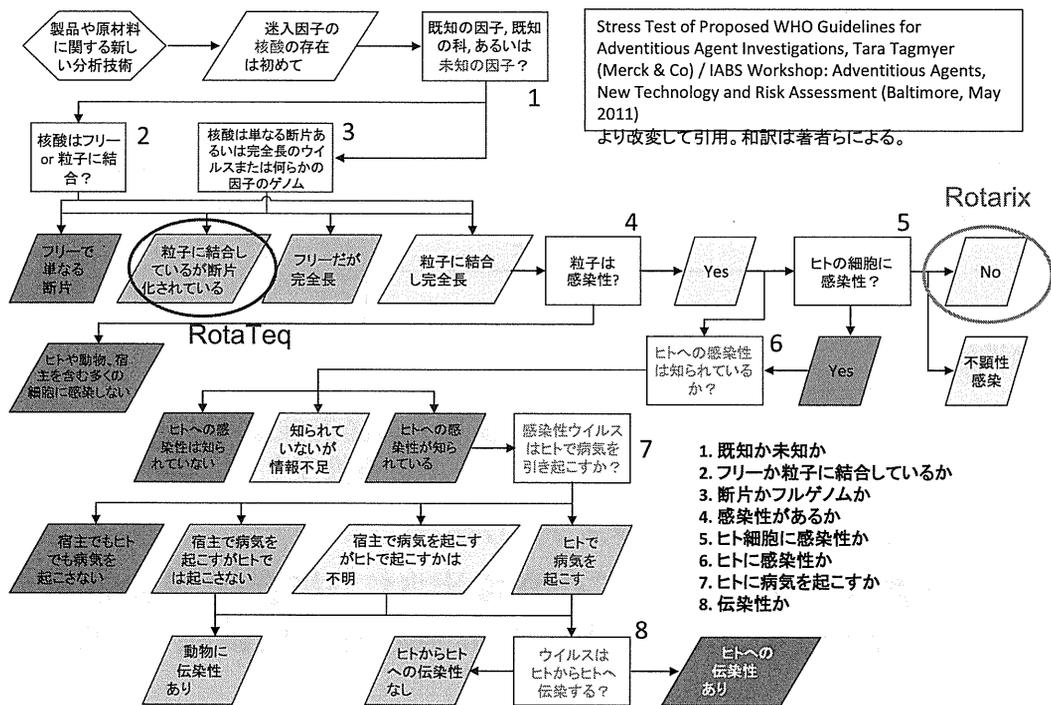


図6 RotaTeq[®]及びRotarix[®]のPCV迷入事例をディシジョンツリーに当てはめた場合のリスク評価

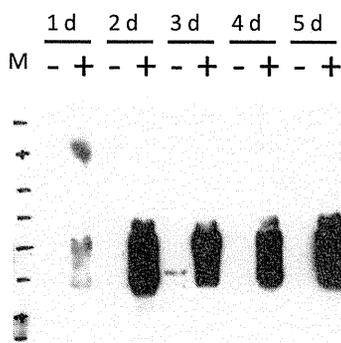


図7 Dox 添加(「+」で表示)後のRK13mo1培養細胞から1日・5日後の細胞溶解液中のPrP量をWBにより検出した。Doxによる発現誘導なしのコントロールを「-」で示す。

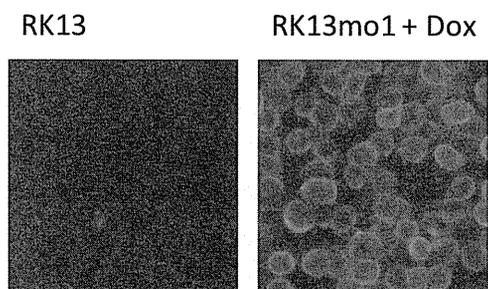


図8 Dox 添加7日後のRK13(親株 = マウスPrP 遺伝子なし)及びRK13mo1細胞を固定・透過処理なしで6D11抗体と蛍光二次抗体で染色した。発現誘導したマウスPrPは細胞表面に発現していることが確認された。