

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）

「病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの
構築に関する研究」

平成 26 年度研究分担報告書

ロタウイルスの RNA-PAGE 泳動パターンによる流行株分類法の検討

研究分担者 藤井克樹・片山和彦 国立感染症研究所 ウイルス第二部

研究要旨

ロタウイルス（RV）は二本鎖 RNA で構成される 11 本の遺伝子分節をゲノムとして有する。RV 感染患者の便検体から抽出した RNA をポリアクリルアミドゲルで電気泳動（RNA-PAGE）すると、その分子量や二次構造の違いにより各分節を分離・検出することが可能である。この泳動パターンは遺伝子型や株によって異なるため、検体間のウイルスの類似性を推定する事も可能である。我々の保有する検体を用いて、RNA-PAGE のバンドパターンとそれらの遺伝子型との関連性について検討を行ったところ、VP2、VP3、VP6、VP7、NSP1、NSP2、NSP3、NSP5 の各遺伝子分節において遺伝子型とバンドパターンに明確な関連性が認められた。この結果から、RNA-PAGE によるパターン分類法を利用して、RV 流行株を広範かつ簡便に調査するシステムを構築できる可能性が示唆された。最終年度は、マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA を用いた泳動パターンフィッティング解析によって算出される相関係数を用いた株分類法の開発を行った。

A. 研究目的

ロタウイルス (RV) は乳幼児の重症胃腸炎の最大の原因であり、我が国における年間の患者数は 70-80 万人、入院数は 7-8 万人におよぶと推定されている。時に腎炎や腸重積、脳炎・脳症などの重篤な合併症を引き起こすこともあり、年間数人から 10 人前後の患者が、RV が原因で命を落としている。また、RV は教育施設や老人施設などで集団感染を引き起こす事も多く、食中毒の原因として検出される事例も散見されており、公衆衛生上も問題視されている。

RV はコア、内殻、外殻の三層構造を有するウイルスであり、そのゲノムは 11 分節からなる二本鎖 RNA (double-stranded RNA : dsRNA) で構成されている。RV のゲノムは非常に多様性が高く、11 本の遺伝子分節それぞれに多数の遺伝子型が存在している。実際にヒトの間で流行している RV 株も地域や時期によって大きく異なる事があり、非常に多彩な様相を呈している。ウイルス株の遺伝子型を記載する場合には、11 分節の遺伝子型を VP7 - VP4 - VP6 - VP1 - VP2 - VP3 - NSP1 - NSP2 - NSP3 - NSP4 - NSP5 (Gx - P[x] - Ix - Rx - Cx - Mx - Ax - Nx - Tx - Ex - Hx) の順に羅列する方法が取られているが、それぞれの株の遺伝子型を全て決定するには多大な労力と時間を要する。従って、RV の流行株を詳細に幅広く把握するのは容易ではない。

地研などの検査室では、RV の検出法としては ELISA 法や RT-PCR 法およびシーケンス解析を行うことが通例となっているが、RV 研究者の間では、ポリアクリルアミドゲル電気泳

動 (RNA-PAGE) によりウイルスゲノムを直接検出できる事がよく知られている。RV 感染患者の便 1g には 10 の 10 乗~12 乗もの大量のウイルス粒子が存在している為、便検体から抽出した RNA について RNA-PAGE を行うと 11 本の遺伝子分節に由来するバンドを容易に検出できる。しかも、そのバンドパターンは遺伝子型の違い或いは僅かな塩基配列の違いにより泳動度が異なって現れる。昨年度は、RNA-PAGE とマイクロチップ電気泳動装置 MultiNA の比較検討を行い、相対移動度をパラメーターとした株判別の可能性を示した。この性質を利用し、本年度は、マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA による RNA-PAGE の相対移動度の蓄積に注力して検討を実施した。全塩基配列を解析済みの様々な遺伝子型の RV を用いて、マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA にてバンドパターンを蓄積した。しかし、パターン蓄積量の増加に伴い、バンドの相対移動度では分別不能な株も出現した。そこで、検体のバンドパターンをパターンデータベースと照合して、バンドパターンの相関値を算出し、それを用いた株判別法の開発を目指した。

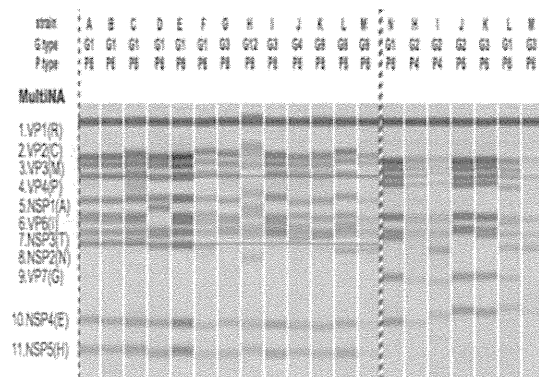
B. 研究方法

本実験には、共同研究者より提供されたユニークな RNA-PAGE パターンを示したロタウイルス陽性便検体を用いた。便検体から 10% PBS 懸濁液を調製し、TRIzol® LS Reagent (Life technologies) および Direct-zol RNA MiniPrep Kit (ZYMO Research) を使用してウイルス RNA の抽出を行った。マイクロチップ

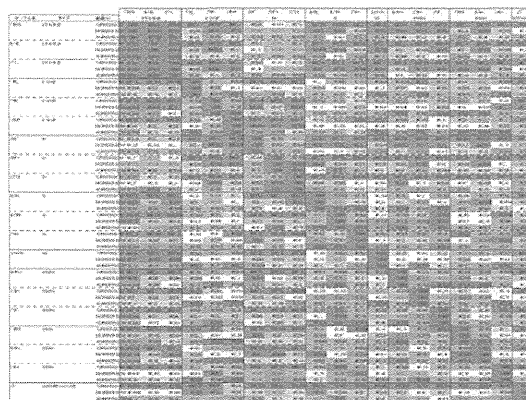
電気泳動装置 MultiNA における泳動は、DNA500 ポリマーキットを用いて行った。得られたバンドパターンは、相対移動度だけでは無く、画像と electrophoregram (泳動波形とピーク位置が示されたグラフ) の蓄積を行った。すべての検体について、次世代シーケンスシステムを用いたウイルスゲノムの塩基配列解析を行い、遺伝子型を決定してパターンライブラリーに蓄積した。

C. 研究結果および考察

RV のゲノムはサイズの大きいものから順に VP1 (3300 bp)、VP2 (2700 bp)、VP3 (2600 bp)、VP4 (2350 bp)、NSP1 (1550 bp)、VP6 (1350 bp)、NSP3 (1070 bp)、VP7 (1062 bp)、NSP2 (1059 bp)、NSP4 (740 bp)、NSP5 (665 or 820 bp) の順番で MultiNA によるパターンとして検出された (サイズは株により異なるため、およその値で示した)。MultiNA では、VP1 (3300 bp)、VP2 (2700 bp)、VP3 (2600 bp)、VP4 (2350 bp) は上部に近接したバンド群として、NSP1 (1550 bp)、VP6 (1350 bp)、NSP3 (1070 bp)、VP7 (1062 bp)、NSP2 (1059 bp) は中部に近接したバンド群として、NSP4 (740 bp)、NSP5 (665 or 820 bp) は下部に互いに独立した 2 本のバンドとして検出された (図 1)。そこで、この特長を生かし、上部、中部、下部の 3 箇所に分けて、相対移動度だけでは無く、画像と electrophoregram (泳動波形とピーク位置が示されたグラフ) の蓄積を行った。



MultiNA による相対移動度は、時にアッセイ間差が株間差を上回る場合が有り、RV 株の中には相対移動度で分別できない株を経験した。そこで、画像と electrophoregram (泳動波形とピーク位置が示されたグラフ) の蓄積データを基盤として、上部、中部、下部の electrophoregram を互いにフィッティングさせることで、その相関係数を算出した。



上記表には、一致度が高い法から低い方に赤色から青色へのグラデーションでカラーリングを施した。左上部から右下部にかけての対角線上に暖色系 (特に赤の頻度が高い) ことが分かる。つまり、同じサンプルは、アッセイ間変動が多少存在しても高い相関係数を示した。逆に、異なる株は寒色系 (青色) の頻度が高くなる。このようにして、electrophoregram を互いにフィッティングを行い、相関係数を指標にすることで、株分け

が可能であると思われた。人の目で確認する場合、煩雑に見えるが、コンピューター上で
の計算速度は極めて速く、本方法により、地理的に離れたラボ間でのデータ比較が容易になり、今後展開されるロタウイルスの流行株把握に対して極めて有用なツールとなり得る。

E. 結論

MultiNA は、アッセイ間変動、チップ間変動、施設間変動がわずかしかなかったが、相対移動度で分別できないウイルス株も存在していた。Electrophoregram のフィッティングと、相関係数を指標にする株分別法は、その弱点を克服可能であった。現在、この方法に基づく自動判定プログラムのスクリプト開発を行っている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 (英文)

- (1) Fujii Y, Nakagomi T, Nishimura N, Noguchi A, Miura S, Ito H, Doan Y.H, Takahashi T, Ozaki T, Katayama K, Nakagomi O. Spread and predominance in Japan of novel G1P[8] double-reassortant rotavirus strains possessing a DS-1-like genotype constellation typical of G2P[4] strains. *Infect Genet Evol.* Vol. 28:426-33. doi: 10.1016/j.meegid.2014.08.001. Epub Aug 8, 2014.
- (2) Mizukoshi F, Kuroda M, Tsukagoshi H, Sekizuka T, Funatogawa K, Morita Y, Noda M, Katayama K, Kimura H. A food-borne outbreak of gastroenteritis due to genotype G1P[8] rotavirus among adolescents in Japan. *Microbiol Immunol.* doi: 10.1111/1348-0421.12176. 58(9): 536-9. Sep, 2014.
- (3) Nagai M, Aoki H, Sakoda Y, Kozasa T, Tominaga-Teshima K, Mine J, Abe Y, Tamura T, Kobayashi T, Nishine K, Tateishi K, Suzuki Y, Fukuhara M, Ohmori K, Todaka R, Katayama K, Mizutani T, Nakamura S, Kida H, Shirai J. Molecular, biological, and antigenic characterization of a Border disease virus isolated from a pig during classical swine fever surveillance in Japan. *J Vet Diagn Invest.* 26(4): 547-552. [Epub ahead of print] Jul 15, 2014.
- (4) Dennis FE, Fujii Y, Haga K, Damanka S, Lartey B, Agbemabiese CA, Ohta N, Armah GE, Katayama K. Identification of novel Ghanaian G8P[6] human-bovine reassortant rotavirus strain by next generation sequencing. *PLoS One.* 2014 Jun 27; 9(6):e100699. doi:

- 10.1371/journal.pone.0100699.
eCollection 2014.
- (5) Masuda T, Nagai M, Yamasato H, Tsuchiaka S, Okazaki S, Katayama Y, Oba M, Nishiura N, Sassa Y, Omatsu T, Furuya T, Koyama S, Shirai J, Taniguchi K, Fujii Y, Todaka R, Katayama K, Mizutani T. Identification of novel bovine group A rotavirus G15P[14] strain from epizootic diarrhea of adult cows by de novo sequencing using a next-generation sequencer. *Vet Microbiol.* 2014 Jun 25; 171(1-2):66-73. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.03.009. Epub Mar 18, 2014.
- (6) Katayama K, Murakami K, Sharp TM, Guix S, Oka T, Takai-Todaka R, Nakanishi A, Crawford SE, Atmar RL, Estes MK. Plasmid-based human norovirus reverse genetics system produces reporter-tagged progeny virus containing infectious genomic RNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Sep 23; 111 (38) ; E4043-52, Epub Sep 5, 2014 .
- (7) Komoto S, Pongsuwanna Y, Ide T, Wakuda M, Guntapong R, Dennis FE, Haga K, Fujii Y, Katayama K, Taniguti K. Whole genomic analysis of porcine G10P[5] rotavirus strain P343 provides evidence for bovine-to-porcine interspecies transmission. *Veterinary Microbiology* 174, 577-583, 2014.
- (邦文)
- (1) 片山和彦 ロタウイルス概要 IASR ロタウイルス特集号 vol.35 No.3 Mar. 2014.
- (2) 片山和彦 ノーウォークウイルス (ノロウイルス) の遺伝子型2014年版 IASR ノロウイルス特集号 vol.35 No.7 July 2014.
- (3) 片山和彦 ノロウイルス感染症とその対策 救命救急 vol.17 No.1 12-15, 2014.
- (4) 片山和彦 質疑応答臨床一般 夏場にノロウイルスによる胃腸炎や食中毒が発生する可能性 日本医事新報 No.4723, 59-60, 2014.
- (5) 片山和彦 特集 ノロウイルス感染症 ノロウイルスとは 調剤と情報 vol.20 No.12, 10-12, 2014
- (6) 片山和彦 特集 ノロウイルス感染症 ノロウイルスの感染拡大を防ぐには 調剤と情報 vol.20 No.12, 14-19, 2014
- (7) 片山和彦 備えて立ち向かう感染性胃腸炎 ノロウイルス・ロタウイルス ノロウイルス感染症とは-ウイルスの特徴・流行変遷・臨床病態 感染症対策ICTジャーナル vol.9 No.4 2014.

- (8) 片山和彦 少年写真新聞社 中学保健ニュース ノロウイルスの感染予防 Dec. 18, 2014.
- (9) 片山和彦 少年写真新聞社 高校保健ニュース ノロウイルスの感染予防 Dec. 18, 2014.
- (10) 片山和彦 ウイルス性胃腸炎 SRL社 宝函 vol. 35, No. 4, p23-34、2015.
- (11) 片山和彦 Luncheon Seminar Report No.1 ノロウイルス -感染制御を目指した研究の歩みと最新の成果- デンカ生研、p1-4、リーフレット、2015/02/24
- (12) 片山和彦 ヒトに感染するノロウイルスの感染様式の研究 黎明 vol23, pi-ii, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

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）
「病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究」
平成 26 年度研究分担報告書

ノロウイルスタンパク質の構造解析

研究分担者 朴 三用 横浜市立大学
研究分担者 朴 英斌 国立感染症研究所ウイルス第二部第一室

本研究は、発現タンパク質のデザイン、結晶化、X線構造解析など全てのステップにおいてX線による構造解析の高度な技術・知識を有する横浜市立大学の朴三用教授の指導の下に実施された。本報告書は、連名とする。

研究要旨

本研究で構築を目指す GatVirusWeb は、構造生物学的とウイルスタンパク質の機能解析と分子疫学を融合させ、から単なる直鎖状の配列ばかりでなく、立体構造のデータ、タンパク質の機能も加味した分子疫学ツールの構築を目指す。ノロウイルスにおいて、ORF1 にコードされる RNA dependent RNA polymerase (RdRp) の X 線結晶構造解析を行うため、大腸菌で RdRp を発現し結晶化を試みたところ、ヒトノロウイルス (HuNoV) GII.3 U201 株の RdRp、マウスノロウイルス (MNV) S7 株の RdRp の結晶化に成功し、立体構造を解明した。構築に成功した構造と、データベース上に報告されている他の遺伝子型に由来する構造を比較したところ全ての RdRp はクローズドコンフィグレーションであった。昨年度より継続して試みていた RdRp 以外の VP2, VPg を protease, GFP 等、結晶構造が解析され、熱力学的に安定した構造を持つタンパク質と組み合わせた融合タンパク質として発現させ、可溶化並びに、結晶化する試みは失敗した。現在、VP2 は eIF4E, G との共結晶化、VPg は VP1 との共結晶化を試みている。

A. 研究目的

前研究班の研究活動では、CaliciWeb では、NoV, SaV などヒト腸管感性カリシウイルスを対象とした、ゲノム情報を疫学情報と共に蓄積し、構造タンパク質領域を標的としたバイオインフォマティクスによる解析を行った。CaliciWeb は現在、グローバル NoV net work の NoroNet とのコラボレーシ

ョンも実現しつつある。さらに、本研究活動により提案された NoV の病原性変化を対象とした非構造タンパク質領域をターゲットとした、NoV の新規分類方法が提案されている。本研究では、構築を目指す GatVirus Net は、構造生物学的とウイルスタンパク質の機能解析と分子疫学を融合させ、から単なる直鎖状の配列ばかりでなく、立体構造

のデータ、タンパク質の機能も加味した分子疫学ツールの構築を目指す。昨年度より、本分担研究では、分子構造の明らかにされていない VPg, VP2 の 2 種類のタンパク質の X 線結晶構造解析を行うため、大腸菌で発現させ、結晶化することを試みたが、構造解析には至らなかった。これらの蛋白質発現は、モノクローナル抗体との共結晶化、GFP との融合蛋白質としてバキュロウイルスを用いて発現するなど、安定した結晶を得るため検討が続いている。本年度は、ヒトノロウイルス (HuNoV) GII. 3 U201 株のポリメラーゼ (RdRp), マウスノロウイルス (MNV) S7 株のポリメラーゼ (RdRp) の結晶化、並びに X 線結晶構造解析を行った。

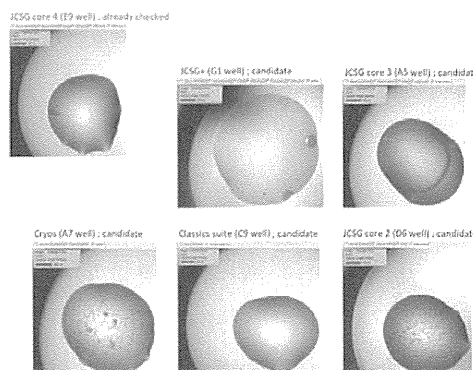
B. 研究方法

HuNoV U201 株の RdRp, MNV-S7 株の RdRp コード領域を大腸菌のコドンに最適化して、人工合成し、pCold-TF, pCold に InFusion cloning system によってクローニングした。これらが大腸菌 BL-21 に transformation して、HisTag タンパク質の発現を行った。コードショックによる大量発現は、30°C にて 6 時間から 8 時間の増殖の後、IPTG を添加し、12°C にて一晩発現させた。大腸菌は、超音波処理し、細胞を破碎した後、上清を分取してタロンビーズに結合させて精製した。溶出にはイミダゾールを用いた。

C. 研究結果および考察

HuNoV U201 の HisTag-RdRp は、65 kDa の Band として可溶性画分に発現し、タロンビーズによる精製の結果、58kDa のメインバンドを精製可能であった。約 100mg の RdRp

を精製し、結晶化を試みたところ、幾つかの結晶を得た。



これらの結晶の内、最も大型かつ安定したりフレクシオンパターンを持つものを、小型のビーム装置によりテストし、質の良いリフレクションを取得可能な結晶を選択した。得られた結晶化条件に基づき、再度 50 - 100mg の精製 RdRp を結晶化し、筑波のビームラインに持ち込み、リフレクションパターンを取った。

得られたリフレクションパターンは構造再構築に用い、2.2Å の構造を得た。



Norovirus genotype GII. 3 の RdRp の構造を初めて解くことに成功した。詳細な比較検討はこれからだが、MNV の RdRp, HuNoV GII. 4 の RdRp と構造が類似していた。

構築に成功した構造と、データベース上に報告されている他の遺伝子型に由来する構造を in silico で比較したところ、全

での RdRp はクローズドコンフィグレーションであることが明らかとなった。クローズドコンフィグレーションの RdRp は本来、RNA を抱き込んだ状態だが、我々の RdRp には、いかなる RNA も結合していなかった。RdRp の形状、アミノ酸残基と RNA の結合様式を明らかにし、遺伝子型によって異なる RdRp のアミノ酸多様性、構造変化がウイルスの病原性変化に影響を与えるか否か、分子疫学の標的領域になり得るか否かを解析するためには、RNA と結合したクローズドコンフィグレーションの RdRp の構造を決定する必要がある。

解析した RdRp はクローズドコンフィグレーションであったが、構造の類似性は極めて高かった。微細なアミノ酸配列の違いがわずかな構造の違いを導き、RNA 合成効率に影響する可能性があるが、今回の結晶構造解析の結果から推測することは困難であった。今後、インビトロで二重鎖 RNA の合成活性を調べるなど、生化学的検討を行って比較検討する必要がある。

結晶構造解析に用いた RdRp は、ヒトノロウイルスのゲノム 5' 末端にタイプを超えて保存されている RNA モチーフ：GUGAAUGAAGAUG のコンプリメンタリー鎖 CAUCUUCAUUCAC に反応し、プライマー無しで de novo RNA 合成をスタートする特性があることが判明した。現在、CAUCUUCAUUCAC との共結晶化、GUGAAUGAAGAUG との共結晶化、この部分の完全二重鎖との共結晶化を進め、RNA を抱き込んだオープンフォームの RdRp の結晶の作製を試みている。

昨年度は、培養細胞で増殖させることが可能なマウスノロウイルス (MNV) の S7 株についても RdRp の発現と結晶化に成功した。しかし、MNV の RdRp の結晶は、ヒトノロウイルス U201 株の結晶よりも脆く、リフレクションパターンに乱れが生じたため、10 Å を若干下回る程度の解像度しか得られなかった。今年度は、さらに大量かつ高純度の RdRp を作製し、ラージスケールでの結晶化を進めた結果、U201 株と同様の結晶構造を解くことができた。しかし、その構造は驚くほど U201 や既報のヒトノロウイルス、マウスノロウイルスの RdRp を類似性が高かった。さらに、ヒトノロウイルスのゲノム 5' 末端にタイプを超えて保存されている RNA モチーフを認識可能である事が明らかになった。

以上から、ヒトノロウイルスのリバースジェネティックスの技術により作出できる感染性ウイルスの RdRp をエンジニアリングすることが可能となった。この研究成果は、ウイルス増殖効率を左右する微細な構造変異の部位、つまり病原性を考慮に入れた分子疫学ターゲット領域の候補を見いだすことに繋がる。

昨年度より継続してきた、RdRp 以外の VP2, VPg を protease, GFP 等、結晶構造が解析され、熱力学的に安定した構造を持つタンパク質と組み合わせた融合タンパク質として発現させ、可溶化並びに、結晶化する試みは失敗した。現在、VP2 は eIF4E, G との共結晶化、VPg は VP1 との共結晶化を試みている。

E. 結論

アミノ酸レベルでの HuNoV と MuNoV RdRp の比較を行ったところ、クローズドコンフィグレーションである事が明らかになった。また、RdRp は、ヒトノロウイルスのゲノム 5' 末端にタイプを超えて保存されている RNA モチーフ : GUGAAUGAAGAUG のコンプリメンタリー鎖 CAUCUUCAUUCAC に反応し、プライマー無しで de novo RNA 合成をスタートする特性があることが判明した。現在、CAUCUUCAUUCAC との共結晶化、GUGAAUGAAGAUG との共結晶化、この部分の完全二重鎖との共結晶化を進め、RNA を抱き込んだ、本来あるべき姿であるクローズドコンフィグレーションの RdRp の結晶の作製を試みている。RNA と RdRp の結合様式を可視化できれば、結合ならびに RNA の合成効率に影響を与える微細なアミノ酸変化を特定して、分子疫学に应用可能である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 論文発表 (英文)

- (1) Fang-TzyWu, MS^{1,2}, Hsieh-Cheng Chen, MS¹, Catherine Yen, MD MPH³, Ching-Yi Wu, MS¹, Kazuhiko Katayama, Ph D⁴, Jason C. Huang, PhD^{2,#}, Ho-Sheng WuPhD^{1,#}. Epidemiology and Molecular Characteristics of Norovirus GII.4

Sydney 2012 Gastroenteritis Outbreaks in Taiwan, January 2012–December 2013. Arch Virol. In press.

- (2) Sato G, Ido H, Kiuchi M, Kataoka M, Katayama K and Tohya Y. Characterization of St-Valerien-Like Virus Genome Detected in Japan. Doi: 10.1292/jvms.13-0468; J. Vet. Med. Sci. 76(7):1045-1050, 2014.
- (3) Katayama K, Murakami K, Sharp TM, Guix S, Oka T, Takai-Todaka R, Nakanishi A, Crawford SE, Atmar RL, Estes MK. Plasmid-based human norovirus reverse genetics system produces reporter-tagged progeny virus containing infectious genomic RNA. Proc Natl Acad Sci U S A. Sep 23 ; 111 (38) ; E4043-52, Epub Sep 5, 2014.

2. 学会発表

学会発表

(国際学会)

- (1) Katayama K, Park YB, Takai-Todaka R, Haga K. Investigation of Human Norovirus evolution in human body. Japan-Taiwan joint meeting. Taipei, Taiwan. Sep 11, 2014.
- (2) Katayama K and Park YB. A

plasmid based human norovirus
reverse genetics system.

International meeting of the
federation of Korean
microbiological societies (MSK)
symposium Oct 29-31, 2014.

- (3) Miki M, Park YB, Haga K,
Doan HY, Suzuki Y and Katayama
K., Investigation of human
norovirus shedding and genome
evolution in a single infection cycle
in infant. 17th International
Conference on Emerging Infectious
Diseases. Taipei Taiwan., Jan 29,
2015.
- (4) Yoshida K., Zhou Y.,
Takai-Todaka R, Katayama K and
Nakanishi A. Functional
complementation of VP2 in murine
norovirus. 17th International
Conference on Emerging Infectious
Diseases. Taipei Taiwan., Jan 29,
2015.
- (5) Katayama K. Takai-Todaka R,
Nakanishi A, Murakami K, Oka t.
Guix S, Sharp TM., Atmer RL.,

Crawford SE and Estes MK.
Reverse genetics system of Hunam
and Murine Norovirus. 17th
International Conference on
Emerging Infectious Diseases.
Taipei Taiwan., Jan 29, 2015.

(国内)

- (1) 片山和彦 衛生微生物技術協
議会 ノロウイルスレファレンス
センター報告 平成 26 年 6 月
26-27 日 船堀
- (2) 戸高玲子、村上耕介、岡智一
郎、朴英斌、中西章、脇田隆字、
片山和彦 レポーター遺伝子を内
包したノロウイルス感染性粒子作
製の試み 第62回日本ウイルス学
会学術集会 平成26年11月11日

下池貴志、朴英斌、戸高玲子、脇田隆字、
片山和彦 ノロウイルス RNA 依存的 RNA
ポリメラーゼの in vitro 転写活性 第
62 回日本ウイルス学会学術集会 平成
26 年 11 月 11 日

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

研究成果の刊行に関する一覧表 (平成 26 年度)

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|--|---|--|-------|---------------------------------------|------|
| Iyoda S, Manning SD, Seto K, Kimata K, Isobe J, Etoh Y, Ichihara S, Migita Y, Ogata K, Honda M, Kubota T, Kawano K, Matsumoto K, Kudaka J, Asai N, Yabata J, Tominaga K, Terajima J, Morita-Ishihara T, Izumiya H, Ogura Y, Saitoh T, Iguchi A, Kobayashi H, Hara-Kudo Y, and Ohnishi M, EHEC Working Group in Japan | Phylogenetic clades 6 and 8 of enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O157:H7 with particular <i>stx</i> subtypes are more frequently found in isolates from hemolytic uremic syndrome patients than from asymptomatic carriers. | Open Forum Infectious Diseases | 1 (2) | first published online July 18, 2014. | 2014 |
| Themphachana M, Nakaguchi Y, Nishibuchi M, Seto K, Rattanachuy P, Singkhamanan K, Sukhumungoon P | First report in Thailand of a <i>stx</i> -negative <i>Escherichia coli</i> O157 strain from a patient with diarrhea. | Southeast Asian J Trop. Med. Public Health | 45 | 881-889 | 2014 |
| Okamoto F, Murakami K, Maeda E, Oishi A, Etoh Y, Kaida M, Makigusa M, Nakashima K, Jinnouchi Y, Takemoto H, Kakegawa H, Yamasaki C, Manabe S, Sasaki M, Ogata K, Ikebe T and Sera N | A foodborne outbreak of group A streptococcal infection in Fukuoka Prefecture, Japan. | Jpn J Infect Dis | 67 | 321-322 | 2014 |

| | | | | | |
|--|--|--------------------|----------|---------|------|
| Maeda E, Murakami K, Etoh Y, Onozuka D, Sera N, Asoshima N, Honda M, Narimatsu H, Iyoda S, Watahiki M and Fujimoto S | Does Sequence Type 33 of Shiga Toxin-Producing <i>Escherichia coli</i> 091 Cause Only Mild Symptoms? | J Clin Microbiol | 53 | 362-364 | 2015 |
| Noda T, Murakami K, Etoh Y, Okamoto F, Yatsuyanagi J, Sera N, Furuta M, Onozuka D, Oda T, Asai T and Fujimoto S | Increase in resistance to extended-spectrum cephalosporins in Salmonella isolated from retail chicken products in Japan. | PLoS One | In press | | 2015 |
| Fujii Y, Nakagomi T, Nishimura N, Noguchi A, Miura S, Ito H, Doan Y.H, Takahashi T, Ozaki T, Katayama K, Nakagomi O | Spread and predominance in Japan of novel G1P[8] double-reassortant rotavirus strains possessing a DS-1-like genotype constellation typical of G2P[4] strains. | Infect Genet Evol | 28 | 426-433 | 2014 |
| Mizukoshi F, Kuroda M, Tsukagoshi H, Sekizuka T, Funatogawa K, Morita Y, Noda M, Katayama K, Kimura H | A food-borne outbreak of gastroenteritis due to genotype G1P[8] rotavirus among adolescents in Japan. | Microbiol Immunol | 58 | 536-539 | 2014 |
| Nagai M, Aoki H, Sakoda Y, Kozasa T, Tominaga-Teshima K, Mine J, Abe Y, Tamura T, Kobayashi T, Nishine K, Tateishi K, Suzuki Y, Fukuhara M, Ohmori K, Todaka R, Katayama K, Mizutani T, Nakamura S, Kida H, Shirai J | Molecular, biological, and antigenic characterization of a Border disease virus isolated from a pig during classical swine fever surveillance in Japan. | J Vet Diagn Invest | 26 | 547-552 | 2014 |

| | | | | | |
|---|---|--------------------------|----------|----------|------|
| Dennis FE, Fujii Y, Haga K, Damanka S, Lartey B, Agbemabiese CA, Ohta N, Armah GE, Katayama K | Identification of novel Ghanaian G8P[6] human-bovine reassortant rotavirus strain by next generation sequencing. | PLoS One | 9(6) | e100699 | 2014 |
| Masuda T, Nagai M, Yamasato H, Tsuchiaka S, Okazaki S, Katayama Y, Oba M, Nishiura N, Sassa Y, Omatsu T, Furuya T, Koyama S, Shirai J, Taniguchi K, Fujii Y, Todaka R, Katayama K, Mizutani T | Identification of novel bovine group A rotavirus G15P[14] strain from epizootic diarrhea of adult cows by de novo sequencing using a next-generation sequencer. | Vet Microbiol | 171 | 66-73 | 2014 |
| Katayama K, Murakami K, Sharp TM, Guix S, Oka T, Takai-Todaka R, Nakanishi A, Crawford SE, Atmar RL, Estes MK | Plasmid-based human norovirus reverse genetics system produces reporter-tagged progeny virus containing infectious genomic RNA. | Proc Natl Acad Sci U S A | 111 | E4043-52 | 2014 |
| Komoto S, Pongsuwanna Y, Ide T, Wakuda M, Guntapong R, Dennis FE, Haga K, Fujii Y, Katayama K, Taniguti K | Whole genomic analysis of porcine G10P[5] rotavirus strain P343 provides evidence for bovine-to-porcine interspecies transmission. | Veterinary Microbiology | 174 | 577-583 | 2014 |
| Fang-TzyWu, Hsieh-Cheng Chen, Catherine Yen, Ching-Yi Wu, Kazuhiko Katayama, Jason C. Huang, Ho-Sheng Wu. | Epidemiology and Molecular Characteristics of Norovirus GII.4 Sydney 2012 Gastroenteritis Outbreaks in Taiwan, January 2012-December 2013. | Arch Virol | In press | | 2015 |

| | | | | | |
|---|--|-----------------|--------|-----------|------|
| Sato G, Ido H, Kiuchi M, Kataoka M, Katayama K and Tohya Y. | Characterization of St-Valerien-Like Virus Genome Detected in Japan. | J Vet Med Sci | 76 | 1045-1050 | 2014 |
| 大平文人, 勢戸和子, 笹井康典 | 保育所における細菌性赤痢集団発生事例 | 小児科 | 77 | 1027-1035 | 2014 |
| 片山和彦 | ロタウイルス概要 | IASR | 35(3) | | 2014 |
| 片山和彦 | ノーウォークウイルス (ノロウイルス) の遺伝子型 2014 年版 | IASR | 35(7) | | 2014 |
| 片山和彦 | ノロウイルス感染症とその対策 | 救命救急 | 17 | 12-15 | 2014 |
| 片山和彦 | 質疑応答臨床一般 夏場にノロウイルスによる胃腸炎や食中毒が発生する可能性 | 日本医事新報 | 4723 | 59-60 | 2014 |
| 片山和彦 | 特集 ノロウイルス感染症 ノロウイルスとは | 調剤と情報 | 20(12) | 10-12 | 2014 |
| 片山和彦 | 特集 ノロウイルス感染症 ノロウイルスの感染拡大を防ぐには | 調剤と情報 | 20(12) | 14-19 | 2014 |
| 片山和彦 | 備えて立ち向かう感染性胃腸炎 ノロウイルス・ロタウイルス ノロウイルス感染症とは-ウイルスの特徴・流行変遷・臨床病態 | 感染症対策 ICT ジャーナル | 9(4) | | 2014 |
| 片山和彦 | ウイルス性胃腸炎 | SRL 社 宝函 | 35(4) | 23-34 | 2015 |
| 片山和彦 | ヒトに感染するノロウイルスの感染様式の研究 | 黎明 | 23 | pi-ii | 2014 |

