

分担研究報告書

分担する研究項目：『E 型肝炎ウイルスの不活化に関する研究』

分担研究者 前野英毅（一般社団法人 日本血液製剤機構 中央研究所）

支援研究者 浦山健、井上隆昌、井手野祥次、服部眞次、高橋一恵、西口優吾（一般社団法人 日本血液製剤機構 中央研究所 感染性病原体研究室）

[研究要旨]

E 型肝炎ウイルス（HEV）に対する血漿分画製剤のさらなる安全性の向上を目指し、(1)リバーシジェネティクス法により培養細胞から産生した HEV（以下、RG-HEV）を用いた HEV 除去・不活化評価の確度確認、および(2)新たにヒトへの感染が報告された動物種由来 HEV のリスク評価を実施した。

(1) RG-HEV を用いた HEV 除去・不活化評価の確度確認

一般に製造工程中のウイルス除去・不活化評価では、モデルウイルスを用いたウイルスクリランス試験に加え、疫学的に存在する性状・特性の臨床ウイルスを用いた評価実験も必要となる。ヒト血漿中の HEV（以下、Pd-HEV）は、評価実験に用いるウイルスソースとして十分量を確保する事が難しく、我々は、RG-HEV をそれに充当できないかこれまで検討を行ってきた。本分担研究では、RG-HEV を用いてエタノール分画、乾燥加熱処理および液状加熱処理工程での除去・不活化評価を行い、その妥当性を考察した。エタノール分画工程（分画 I、分画 II+III および分画 IV の積算値）は、Pd-HEV、RG-HEV とともに HEV 除去効果は約 2~3 Log reduction value（以下、LRV）であった。加熱処理は、乾燥加熱処理が 1~2 LRV（フィブリノゲン製剤）、液状加熱処理が 1~2 LRV（アンチトロンビン製剤）、および 2~3 LRV（グロブリン製剤）であった。RG-HEV を用いた除去・不活化の評価は、概ね Pd-HEV の特性を反映していると考えられるが、より正確に性状の違いを把握し、それが製造工程での挙動に及ぼす影響を見極めることが今後の課題である。尚、エタノール分画や加熱処理による HEV 除去・不活化効果はウイルス除去膜に劣るが、ウイルス除去膜に加えた HEV に対する安全性の向上に寄与していると考えられた。

(2) 新たにヒトへの感染が報告された動物種由来 HEV のリスク評価

国内でヒトへ感染する HEV は主にブタ、イノシシ、シカに由来しており、NAT による検出やウイルス除去・不活化処理の評価では、これらの動物種に由来する HEV を対象としている。近年ヒトへの感染が報告されたラット HEV は、これまでの動物種由来のものとは異なる遺伝子型に属するため、NAT の有効性と現在のウイルス除去・不活化工程が機能するか調査した。その結果、ラット HEV は NAT をすり抜ける可能性が高いものの、ウイルス除去膜は有効に機能すると考えられた。総じて、動物種由来の HEV に対して注視は必要なものの、血漿分画製剤のウイルス安全性に対する追加の施策は必要ないと考察した。

略語； HEV: Hepatitis E virus.

NAT: Nucleic acid amplification test

LRV: Log Reduction Value.

S/D: Tris-Buffered Saline. .

A. 研究目的

加熱の不十分なブタ、イノシシ、およびシカの肉の摂取が国内における HEV 感染の主たる原因と考えられ、東京都の献血者における HEV ゲノム陽性者は、1,367 人に 1 人である¹⁾。日本国内では 2002 年から 2020 年にかけて、輸血用血液製剤により二種の異なる遺伝子型の HEV、Genotype 3 と Genotype 4 (HEV G3 と HEV G4) の感染事例が計 45 件報告されている²⁾。2020 年 8 月より HEV-NAT による献血者の全数スクリーニングが導入されて以来、輸血による HEV 感染事例は報告されておらず、輸血用血液製剤の安全性は向上した²⁾。しかしながら、近年、ラットやラビットなど新しい動物種に由来する HEV のヒトへの感染事例が報告されており³⁾、動物種によっては NAT をすり抜ける可能性があり注視が必要と考えられる。

一方、数万人の血漿をプールして製造する血漿分画製剤については、NAT スクリーニングによる HEV 陽性血漿の排除に加えて、製造工程中での HEV 除去・不活化効果を適切に評価することで、HEV 安全性の検証が可能となる。HEV はノンエンベロープウイルスに分類されるが、ヒト血漿由来 HEV (Pd-HEV) の粒子表面には脂質が結合する⁴⁾。さらに、血漿分画製剤の製造過程で、エタノール分画や S/D 処理工程において Pd-HEV より脂質が除去され、その物理化学的性質が変化する^{5),6)}。これらのことより、HEV の除去・不活化の評価には、実ウイルスである Pd-HEV を使用することが望ま

しい。しかしながら、除去・不活化評価実施に十分な濃度を有する Pd-HEV の確保は困難であることから、代替品としてリバースジェネティクス法により培養細胞から約 $9 \text{ Log}_{10} \text{ copies/mL}$ の高濃度で脂質の結合する HEV Genotype 3 (RG-HEV) を取得する方法を確立した。RG-HEV のウイルス除去膜工程でのろ過特性は Pd-HEV と同等であり、評価の際のモデルウイルスとして適していることを確認した⁵⁾。また、液状加熱における RG-HEV の熱感受性についても Pd-HEV に類似していることも確認している⁷⁾。

本分担研究では、血漿分画製剤の HEV に対するさらなる安全性の向上を目指し、RG-HEV を用いた HEV 除去・不活化評価と新たな動物種に由来する HEV のリスク評価を実施した。

RG-HEV を用いた HEV 除去・不活化評価では 2 工程の HEV 除去・不活化効果を評価した。一つ目は Cohn のエタノール分画である。遺伝子型・由来の異なる 3 種の HEV (Pd-HEV G3、Pd-HEV G4、及び RG-HEV) を用いて定量 PCR 法により、HEV の除去効果を評価した。二つ目は加熱処理工程である。加熱処理の上流に存在する S/D 処理あるいはエタノール分画でのエタノールとの接触を考慮し、前もって各処理を施した RG-HEV を用いて、感染価により加熱処理工程の HEV 不活化効果を評価した。ヒトへの感染が報告された新たな動物種に由来する HEV のリスク評価では、NAT による検出の可能性および血漿分画製剤に導入しているウイルス除去膜工程が機能するか調査した。

B. 研究方法

1. ウイルス

RG-HEV は、PLC/PRF/5 細胞にブタ糞便由来の

swJR-P5 株の合成ゲノムをトランスフェクションし、その培養上清中に産生された HEV を用いた。Pd-HEV G3 は献血血漿からスクリーニングした HEV G3 RNA 陽性血漿を使用し、Pd-HEV G4 は献血血液の研究開発等での使用に関する指針」に基づく公募により日本赤十字社より受領した Pd-HEV G4 RNA 陽性血漿を使用した。

2. エタノール分画

凍結保存された Pd-HEV G3 RNA 陽性血漿、Pd-HEV G4 RNA 陽性血漿、あるいは HEV 陰性血漿を 4℃設定のクロマトチャンバー中にオーバーナイトで静置することで緩慢融解した。各血漿を含んだチューブを遠心分離 (1,500 × g、25 分間) し、沈殿 (クリオプリシピテート) を分離し、脱クリオプリシピテート血漿 (CDP) とした。HEV 陰性血漿に由来する CDP には最終濃度が 6~7 Log₁₀ copies/mL となるよう RG-HEV を添加した。各 CDP (3 mL) から Cohn のエタノール分画をもとに変更を加えた条件で、分画 I 工程、分画 II+III、分画 IV 工程を連続して実施した。まず、CDP を分画 I に供し、遠心分離 (400 × g、20 分間) 後、デカンテーションにより上清 I を分画沈殿 I から分離した。取得した上清 I を分画 II+III に供し、遠心分離 (1,500 × g、30 分間) 後、デカンテーションにより上清 II+III を分画沈殿 II+III から分離した。次に上清 II+III を分画 IV (分画 IV-1 と分画 IV-4 を合わせた分画法) に供し、遠心分離 (1,500 × g、30 分間) 後、デカンテーションにより上清 IV を分画沈殿 IV から分離した。

3. HEV RNA 濃度の測定

各分画工程の前後で分取した CDP、上清 I、上清 II+III、上清 IV から QIAamp Viral RNA Mini QIAcube Kit (Qiagen) を用いて核酸を抽出し、

QuantiTect Probe RT-PCR Kit (Qiagen) を用いて Jothikumar らの方法⁸⁾に従って HEV RNA 濃度を測定した。

4. HEV RNA の対数減少率 (LRV) の計算

分画 I で実際に使用した CDP 量と実際に回収した上清 I から想定される上清 II+III 量と上清 IV 量を算出した。次に、測定した HEV RNA 濃度 (Log₁₀ copies/mL) を実際の CDP 量、想定される上清 II+III 量と上清 IV 量に乘じ、各サンプルの総 HEV RNA コピー数を算出した。CDP の総 HEV RNA コピー数の常用対数から、上清 I、上清 II+III、または上清 IV の HEV ゲノムコピー数の常用対数を減じた値を HEV RNA の LRV とした。

5. RG-HEV の S/D 処理

RG-HEV を含む培養上清と 20 倍濃度の S/D 試薬を混合し、水温 28.5~29.5℃の恒温槽中で 1.5 時間インキュベーションした。インキュベーション後、RG-HEV を含む溶液を超遠心分離 (150,000 × g、3 時間) した。超遠心分離後、各チューブから上清を除去し、沈殿画分を 50 mM Tris 緩衝液 (pH7.6) で懸濁、氷上で超音波処理後、0.22 μm フィルターでろ過した。

6. 乾燥加熱処理 (77.0±1.0℃、72 時間)

11.5 mL の S/D 処理済み RG-HEV を超遠心分離 (150,000 × g、3 時間) した。上清を除去後、沈殿画分を 2.0 mL のフィブリノゲン製剤の中間工程品 (凍結乾燥直前) により懸濁、懸濁液を氷冷しながら超音波処理してスパイクウイルスとした。13 mL のフィブリノゲン製剤の中間工程品 (凍結乾燥直前) に 1.3 mL のスパイクウイルスを添加し、バイアル瓶に 1 mL ずつ分注した。分注サンプルを凍結乾燥し、乾燥加熱処理まで冷蔵保存した。乾燥加熱処理時には、加熱庫が 76.0~78.0℃を維持していること

を確認し、凍結乾燥後のサンプルを入れ、24、48、72 時間後に加熱庫よりサンプルを取り出し、氷上で急冷した。

7. RG-HEV の 20%エタノール(v/v)処理

RG-HEV を含む培養上清を超遠心(150,000 × g、4°C、3 時間)し、超遠心後各チューブから上清を除去し、RG-HEV を含む沈殿画分を 20 mM MOPS buffer により懸濁し、得られた懸濁液を氷上で超音波処理(4 分 × 2 回)した。次に RG-HEV を含む懸濁液に 95%エタノールを終濃度 20% (v/v)となるように加え、-6°Cで 1 時間インキュベーションすることでエタノール処理を行った。インキュベーション後、RG-HEV 溶液を超遠心(150,000 × g、4°C、3 時間)し、RG-HEV を含む沈殿画分を製剤中間工程品あるいは 10 mM MES buffer により懸濁した。

8. 液状加熱試験

各 RG-HEV を 3.5 mL のアンチトロンビン製剤またはグロブリン製剤の中間工程品に対して、10%となるよう添加し良く混合した。加熱前サンプルとして 0.5 mL、加熱処理サンプルとして 0.5 mL、Holding サンプルとして 0.5 mL ずつチューブへ分注した。加熱処理サンプルを恒温槽内にて加温し、あらかじめ計測したチューブ内の液温が 58.0°Cにまで達する時間が経過してから、時間計測を開始し、58.0~59.0°Cで加熱した。加熱開始 0.5、1、5、及び 10 時間後にそれぞれのチューブを取り出し氷上で急速冷却し、A549 細胞用維持培地を加えた後、-80°Cのフリーザー中で感染価測定まで保管した。Holding サンプルは 36~37°Cのインキュベーター中で 10 時間静置後、氷上で急速冷却、A549 細胞用維持培地を加え希釈した後、-80°Cのフリーザー中で保管した。

9. HEV 感染価の測定

96 well plate で培養した A549 細胞に、培地で段階希釈した HEV サンプルを添加し 7 日間培養した後、上清を除き、細胞より RNeasy 96 kit (Qiagen) を用いて Total RNA を抽出した。抽出した Total RNA 中の HEV RNA を測定し、Karber 法により感染価 (TCID₅₀) を算出した。加熱前の感染価の常用対数から加熱後の感染価の常用対数を減じた値を LRV とした。

10. ホモロジーモデリングによるラット HEV キャプシド構造予測

構造既知の遺伝子型 4 に属するヒト由来 HEV ウィルス様粒子 (VLP) (PDB # 3HAG)⁹⁾を鋳型として設定し、SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) のホモロジーモデリングによりラット HEV (Accession # MG813927)の VLP モデルを構築した。

(倫理面への配慮)

研究対象としてヒト血漿 (HEV 陽性血漿) を用いている。この血漿の使用については、一般社団法人日本血液製剤機構ヒト組織研究倫理審査委員会にて審査・承認されている。

C. 研究結果

1. アルブミン製剤のエタノール分画による HEV 除去効果の検証

表 1 にエタノール分画による各種 HEV の LRV を示した。いずれの HEV も、分画 I で CDP から上清 I に至る過程では、除去効果は確認されなかった。分画 II+III を経て上清 II+III に至る過程では、RG-HEV のみで除去効果が確認され、その LRV は 1.4 であった。一方、ヒト血漿に由来する HEV はほとんど除去されなかった。分画 IV を経て上清 IV に至る過程では、いずれの HEV も LRV で 1 以上除去されていたが、Pd-HEV G3 の除去効果は Pd-HEV

G4 及び RG-HEV と比較して LRV で 1 以上高かった。結果として CDP からの積算 LRV は 1.8~3.3 であった。

2. フィブリノゲン製剤の乾燥加熱処理による S/D 処理済み HEV 不活化効果の検証

フィブリノゲン製剤の乾燥加熱処理の上流に存在する S/D 処理による性状変化を考慮するため、前もって S/D 処理をした RG-HEV により不活化の検証を行った。凍結乾燥による HEV の LRV は 1 未満であったが (図 1A)、乾燥加熱処理により、S/D 処理済み RG-HEV は加熱開始から 72 時間後まで緩やかな不活化の進行が観察され (図 1B)、72 時間後の LRV は 1.6/1.8 (n1/n2) であった (表 2)。

3. アンチトロンビン製剤およびグロブリン製剤の液状加熱処理による 20%エタノール処理済み HEV 不活化効果の検証

エタノール分画時におけるエタノールとの接触による性状変化を考慮するため、前もって 20% (v/v) 中でインキュベーションした RG-HEV により不活化の検証を行った

アンチトロンビン製剤の液状加熱処理では、加熱後 30 分で 1 Log₁₀ 程度不活化されたが、以降の不活化の増大はほとんど観察されず、10 時間の液状加熱処理による LRV は、1.2/1.6 (n1/n2) であった (表 3, 図 2)。

グロブリン製剤の液状加熱処理では加熱後 5 時間まで、不活化効果は徐々に増大し、LRV は 2 程度に達し、以降、不活化の増大はほとんど観察されなかった。10 時間の液状加熱処理による LRV は $\geq 2.2/2.2$ (n1/n2) であった (表 4, 図 3)。

4. ラット HEV のリスク評価

遺伝子型 1~4 の HEV を検出することが可能なプ

ライマーとプローブの全長配列とラット HEV のゲノム配列を比較すると、3' 末端部位を含む半分以上で一致せず (図 4)、本プライマー・プローブセットによる検出は困難と判断された。また、ラット HEV はブタ、イノシシ、およびシカ HEV とは遺伝学的距離が離れていること³⁾も考慮に入れば、日本赤十字社で導入された HEV-NAT でも検出されない可能性が高いと考えられた。

次にラット HEV に対してもウイルス除去膜が有効に機能するか検討するため、遺伝子型 4 に属する粒径 27 nm のヒト由来 HEV-VLP 構造 (PDB # 3HAG、参考文献) を鋳型にしてラット HEV-VLP モデルを構築し、そのサイズを推察した。構築されたラット HEV-VLP モデルは鋳型と比較して、表面の突起構造に違いがある可能性が高いものの、外殻の中心構造は鋳型とした HEV VLP と類似しており (図 5)、そのサイズは 27 nm 程度と予想された。

D. 考察

エタノール分画工程と加熱処理による HEV の除去・不活化効果を検証した。

エタノール分画では各工程を連続して実施し、血漿から上清 IV を取得した。分画 II+III では、ヒト血漿由来 HEV と培養細胞由来 HEV の間で挙動の違いが観察された。また、分画 IV ではヒト血漿由来の HEV であっても、除去効果に差が観察された。分画 IV における除去効果の違いが遺伝子型に起因するかどうかについては結論を出すことは出来なかったが、アルブミン製剤におけるエタノール分画工程の HEV の除去効果は、Pd-HEV G4 の結果をもとに、LRV で 2 程度と推測された。各 HEV の分配傾向は類似していたものの除去効果に差が観察されたことから、HEV の特性をより正確に把握し、製造工程での

挙動に及ぼす影響を見極めること今後の課題である。E. 結論

加熱処理では、各製剤の加熱処理の上流で起こり得る性状の変化を考慮にいれ RG-HEV をあらかじめ S/D 処理あるいはエタノールで処理した。フィブリノゲン製剤の凍結乾燥加熱処理による S/D 処理 RG-HEV の LRV は 1.6/1.8 (n1/n2) であった。ブタ糞便由来 HEV の LRV は 4 以上であったことから¹⁰⁾、血漿に混入する可能性のある HEV は S/D 処理後でも、フィブリノゲン製剤の凍結乾燥加熱処理に対してブタ糞便由来 HEV より安定であると考えられた。また、アンチトロンビン製剤の液状加熱処理による、エタノール処理 RG-HEV の LRV は 1.2/1.6 (n1/n2) であった。ブタ糞便由来 HEV を用いた場合には、LRV は最大で ≥ 2.8 に達したことから¹¹⁾、血漿に混入する可能性のある HEV は 20% (v/v) 程度のエタノールと接触しても、アンチトロンビン製剤の液状加熱処理に対してブタ糞便由来 HEV より安定であると考えられた。一方、グロブリン製剤の液状加熱処理によるエタノール処理 RG-HEV の LRV は $\geq 2.2/2.2$ (n1/n2) であり、ブタ糞便由来 HEV を用い場合とほぼ同じであった¹¹⁾ことから、グロブリン製剤の液状加熱処理では HEV の性状が不活化効果に与える影響は軽微なのかもしれない。

近年、ヒトへの感染が報告されたラットに由来する HEV では遺伝子型 1~4 の HEV を検出可能なプライマー・プローブセット⁸⁾との配列比較をもとに、日本赤十字社で導入された HEV-NAT をすり抜けることと推測された。しかしながら、ホモロジーモデリングから構築されたラット HEV VLP のサイズは鋳型の HEV VLP とほぼ同じであったことから、ラット HEV に対しても、孔径 20 nm あるいはそれ以下のウイルス除去膜は有効に機能すると判断された。

エタノール分画や加熱処理は一般的にウイルス除去/不活化効果に「有効」とされる 4 以上の LRV に満たないものの、ウイルス除去膜の除去効果と併せることで、HEV 安全性の向上に寄与すると考えられる。また、除去・不活化試験を通じ、RG-HEV は確保が困難な Pd-HEV を代替するモデルウイルスとなり得ることが示唆された。但し、適切な評価には、各 HEV の特性を把握し、製造工程での挙動に及ぼす影響を見極める必要がある。

新たにヒトへの感染が報告された動物種に由来する HEV には NAT をすり抜ける存在があるものの、ウイルス除去膜は有効に機能すると考えられ、現段階で血漿分画製剤のウイルス安全性に対する追加の施策は必要ないと考察した。

(引用文献)

- 1) 東京地域における HEV 感染実態調査
薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会資料 (平成 28 年 8 月 3 日開催)
<https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11121000-Iyakushokuhinkyoku-Soumuka/0000138834.Pdf>
- 2) 日本赤十字社におけるヘモビジランス 2020
薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会資料 (令和 3 年 10 月 26 日開催)
<https://www.mhlw.go.jp/content/11127000/000846771.pdf>
- 3) 病原微生物検出情報 Vol. 42 No. 12 (2021. 12)
<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/iasr/42/502.pdf>
- 4) Takahashi M *et al.* Hepatitis E Virus (HEV) strains in serum samples can replicate efficiently in cultured cells despite the coexistence of HEV antibodies: characterization of HEV virions in blood circulation. *J Clin Microbiol.* 2010 Apr;48(4):1112-25
- 5) Ideno S *et al.* Phenotypic characterization of cell culture-derived hepatitis E virus subjected to different chemical treatments: Application in virus removal via nanofiltration. *J Virol Methods.* 2021

Oct;296:114244.

なし

- 6) Kapsch AM *et al.* Antibody-enhanced hepatitis E virus nanofiltration during the manufacture of human immunoglobulin. *Transfusion*. 2020 Nov;60(11):2500-2507.
- 7) 2019 年度 厚生労働科学研究補助費分担研究報告書
https://mhlw-grants.niph.go.jp/system/files/2019/193041/201925001A_upload/201925001A0011.pdf
- 8) Jothikumar N *et al.* A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *J. Virol. Meth.* 2006;131:65-71
- 9) Guu TS *et al.* Structure of the hepatitis E virus-like particle suggests mechanisms for virus assembly and receptor binding. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Aug 4;106(31):12992-7
- 10) Yunoki M *et al.* Extent of hepatitis E virus elimination is affected by stabilizers present in plasma products and pore size of nanofilters. *Vox Sang.* 2008 Aug;95(2):94-100.
- 11) Yunoki M *et al.* Hepatitis E virus derived from different sources exhibits different behaviour in virus inactivation and/or removal studies with plasma derivatives. *Biologicals.* 2016;Sep;44(5):403-11.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ideno S *et al.* Phenotypic characterization of cell culture-derived hepatitis E virus subjected to different chemical treatments: Application in virus removal via nanofiltration. *J Virol Methods*. 2021 Oct;296:114244.

2. 学会発表

無し

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

数値はLRVを示す

	Pd-HEV G3	Pd-HEV G4	RG-HEV G3
上清I	0.2	-0.1	0.1
上清II+III	0.4	0.5	1.4
上清IV	3.3	1.8	3.0

表1 アルブミン製剤のエタノール分画工程（I、II+III、IV）におけるHEV除去効果

各HEVを含んだCDPを出発原料として連続的にエタノール分画を行い、最終的に上清IVを取得した。各工程品（上清）のCDPに対するLRVを示した

A

数値は感染価(Log₁₀TCID₅₀)を示す

サンプル名	凍結乾燥前	凍結乾燥後
S/D処理 RG-HEV n1	4.50	4.52
S/D処理 RG-HEV n2	4.90	4.32

B

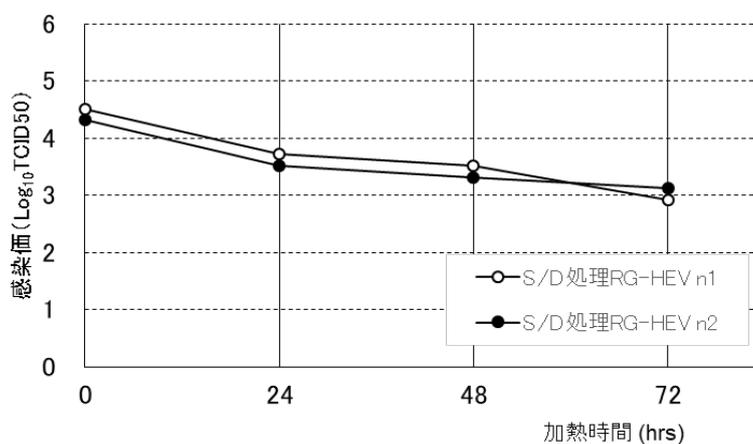


図1 フィブリノゲン製剤の製造工程中の凍結乾燥加熱工程によるHEVの不活化

A 凍結乾燥前後のRG-HEVの感染価(Log TCID₅₀)

B 乾燥加熱処理によるHEVの不活化動態

S/D処理RG-HEVに対して、2回試験(n1、n2)を行い、測定した感染価(Log TCID₅₀)を表した。

加熱時間(hrs)を除き数値はLRVを示す

サンプル名	凍結乾燥前	加熱時間(hrs)			
		0	24	48	72
S/D処理 RG-HEV n1	0	0.0	0.8	1.0	1.6
S/D処理 RG-HEV n2	0	0.6	1.4	1.6	1.8

表2 凍結乾燥加熱工程によるRG-HEVのLRV推移

凍結乾燥前と各乾燥加熱時における感染価から算出したLRVを表した。

加熱時間 (hrs)を除き数値はLRVを示す

サンプル名	加熱時間 (hrs)				
	0	0.5	1	5	10
エタノール処理 RG-HEV n1	0	1.2	1.0	1.2	1.2
エタノール処理 RG-HEV n2	0	1.4	1.0	1.2	1.6

表3 アンチトロンビン製剤の液状加熱処理によるRG-HEVのLRV推移
エタノール処理RG-HEVに対して、2回試験(n1、n2)を実施した。

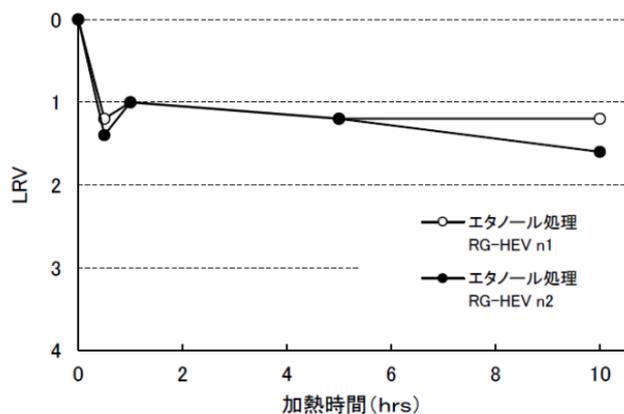


図2 アンチトロンビン製剤の液状加熱処理によるRG-HEVのLRV推移 (表3をグラフで示した)

加熱時間 (hrs)を除き数値はLRVを示す

サンプル名	加熱時間 (hrs)				
	0	0.5	1	5	10
エタノール処理 RG-HEV n1	0	0.4	0.4	2.0	≥2.2
エタノール処理 RG-HEV n2	0	0.0	1.2	2.4	2.2

表4 グロブリン製剤の液状加熱処理によるRG-HEVのLRV推移
エタノール処理RG-HEVに対して、2回試験(n1、n2)を実施した。

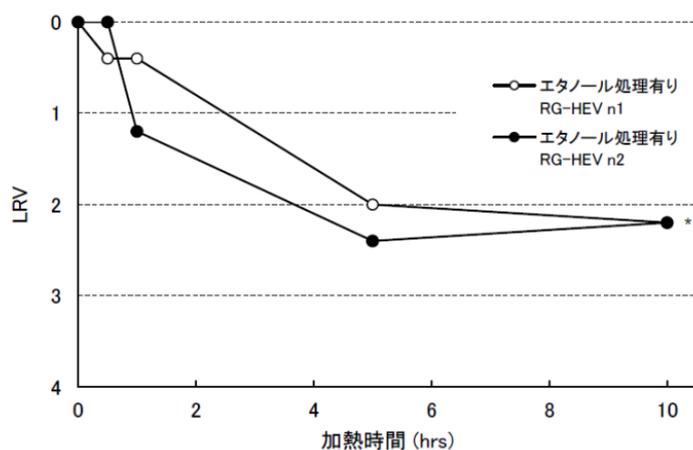


図3 グロブリン製剤の液状加熱処理によるRG-HEVのLRV推移
表4をグラフで示した。

図4 ラビット HEV 及びラット HEV と遺伝子型 1~4HEV の検出用プライマー/プローブセットとの比較

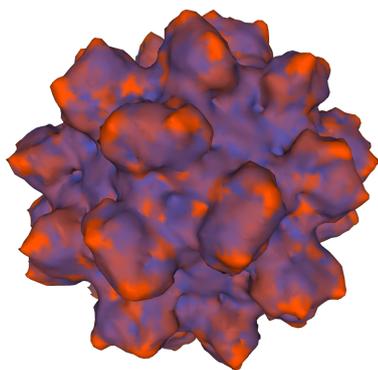


図5 ホモロジーモデリングより予想されるラット HEV VLP 構造

鋳型として設定した HEV VLP (PDB# 3HAG) と相動性が高く同一の構造を取り得る箇所を青色で示し、相動性が低くアミノ酸配列から予測された構造については赤色で示している。