

## 21. 病原体ゲノム解析研究センター

### センター長 黒田 誠

#### 概要

病原体ゲノム解析研究センターは、ウイルス感染症の発症に係わる宿主遺伝子の探索・解析を行う第一室、病原性ウイルスのゲノム解析を行う第二室、病原性細菌のゲノム解析を行う第三室から構成されている。

第一室では、主に子宮頸癌の原因となるヒトパピローマウイルス (HPV) の増殖とそれを支える細胞因子の研究ならびに遺伝子治療に使うウイルスベクターに関する研究を行った。

我が国での遺伝子治療臨床試験計画を審査する作業部に適切な意見を提供するため、遺伝子治療専門誌の論文、日本遺伝子治療学会での講演等からウイルスベクターの安全性・有効性に関する情報を収集・検討する作業を継続して行った。高発現 AAV ベクターの開発のため、骨格筋以外での AAVS1 insulator 搭載の効果を調べるために、肝臓を標的臓器とする新たな AAVS1 insulator 搭載 (改良型) AAV ベクターの構築を進めた。

HPV は粘膜の微少なキズから侵入し、表皮基底細胞 (幹細胞) の核内にエピゾームとして潜伏・持続感染する。感染細胞が分化し表皮形成に至る過程でウイルスの増殖が起こるが、この生活環を支える分子機構は不明である。抗 HPV 薬の開発基盤とするため HPV 生活環と感染における宿主応答・防御機構の詳細な解析を続けた。

HPV は 100 以上の遺伝子型に分類されており、そのうち 15 の型 (ハイリスク型) が子宮頸癌の原因となる。欧米で開発された第一世代 HPV ワクチンは、主キャプシド蛋白質 L1 をワクチン抗原にしており、ハイリスク型 HPV のうち 2 種の感染阻止に限定した予防効果を持つ。我々は、L2 にみられる型共通アミノ酸領域が、幅広い型に有効な中和抗体を誘導することを見出しており、この抗 L2 抗体の性状解析を進めた。

WHO は HPV の感染実態とワクチン導入による影響を把握するために、HPV ラボネットワークを構築している。第一室は西太平洋地域の拠点ラボに指定されており、我が国の HPV 遺伝子型分布の調査を行った。また、HPV18 抗体国際標準品の制定にあたって、Expert Committee on Biological Standardization (ECBS) に提出されるドラフ

ト作成に携わった。

HPV 感染初期過程の分子機構および宿主応答の解析を行った。Transport protein particle complex subunit 8 (TRAPPC8) に依存して、HPV ゲノムがトランスゴルジネットワーク (TGN) から脱出する際に重要な役割を果たすことが示唆され、オートファジーが宿主防御に働いていることを明らかにした。

遺伝子型の異なる HPV を C33A 細胞に重感染させることで、E1 タンパク質のヘテロ多量体形成による複製干渉が生じている可能性を見出した。また、HPV ゲノム複製に重要な E1 タンパク質をリン酸化するチロシンキナーゼの候補をスクリーニングした。

子宮頸癌患者由来組織を用いて HPV16, 52, 58 型の全ゲノム DNA を 1 段階で PCR 増幅する系を確立し、その増幅産物を次世代シーケンサーにより解読して HPV ゲノム情報を取得した。

第二室では、バイオインフォマティクス技術と実験データ、臨床データを活用して、ウイルスの性質を解析する新しい研究戦略の開発を続けた。計算科学を駆使して、蛋白質・核酸の高次構造、酵素反応、分子間相互作用などを高精度で近似する技術が急速に進展している。この技術は、培養が困難な病原体や易変異性病原体の解析に役立つことから、ホモロジーモデリング法、分子動力学法、結合シミュレーション等の精度を検証し、抗ウイルス因子の機能、ウイルス蛋白質の構造特性、ウイルス酵素の反応機構、ウイルスの複製や免疫逃避、薬剤耐性機構などを予測する研究を進めた。これらの研究戦略を HIV が中和抗体から逃避する分子機構や薬剤耐性獲得機構の解析、ノロウイルス、ロタウイルスの分子疫学に役立てるとともに、さらに、新規抗ウイルス剤の設計に役立てる研究へと進展させている。

HIV-2 キャプシドタンパク質の特異的なアミノ酸置換がヒト TRIM5α 耐性に重要であることを上記高次構造解析により明らかにした。

インフルエンザウイルス研究センターのサーベイランスでノイラミニダーゼ (NA) に新規の耐性変異をもつ B 型インフルエンザウイルスを検出した。今回同定したア

ミノ酸置換はペラミビル、ザナミビル、ラニナミビルの3薬剤が結合する活性部位から大きく離れており、NA蛋白質の機能的構造解析から、立体配置に影響をおよぼし活性部位内のアミノ酸の配置を変化させ、NA阻害薬との結合親和性の低下を招く可能性が示された。

第三室は、次世代シーケンサーを用いて、ゲノム解析とメタゲノム解析の技術を用い、様々な感染症の研究を行っている。ゲノム解析としては、*Salmonella* 属菌の解析で硫化水素産生と薬剤耐性を特徴付けた。細菌に薬剤耐性をもたらすプラスミドを俯瞰的に解析するためにデータベース PLAST を開発した。また食中毒を引き起こすナナホシクダアの解析により、検査系開発の基礎情報を得た。

メタゲノム解析が威力を発揮する分野の一つに、不明病原体の迅速同定がある。このような同定を地方衛生研究所や病院の現場でも行えるようにするためのパイプライン MePIC を開発した。また O111 食中毒事例において、患者便からダイレクトに網羅配列解読して病原体同定を行った。一方で、メタゲノム解析は、感染症が疑われる難病の病因同定にも有効であり、その観点から潰瘍性大腸炎や川崎病の解析を行い、治療前後や急性期寛解期での腸内細菌叢の変動を明らかにした。

ワクチンの品質管理業務として、HPV ワクチン (2 価ワクチンおよび 4 価ワクチン) の検定を製剤担当室として担当し、製造・試験記録等要約書 (summary lot protocol) の審査を開始した。

所内研究員のゲノム情報学の向上を図るため、次世代シーケンサー・解読リードの情報解析と病原体検索のための相同性検索など、unix コマンドを活用したバイオインフォマティクス講習会を主催した。

## 業績

### 調査・研究

#### □. 遺伝子治療に用いるウイルスベクターに関する研究

##### 1. 臨床応用されたウイルスベクターの安全性・有効性に関する情報の収集

我が国での遺伝子治療臨床試験計画を審査する作業部に適切な意見を提供するため、Human Gene Therapy、Gene Therapy、Molecular Therapy、Journal of Gene Medicine、及び Nature Medicine 等の遺伝子治療専門誌の論文、日本遺伝子治療学会での講演等からウイルスベクターの安全性・有効性に関する情報を収集・検討する作業を継続して行った。(竹内隆正、森 清一郎、石井克幸、柗元 巖)

2. インスレーターを用いた高発現 AAV ベクターの開発  
骨格筋以外での AAVS1 insulator 搭載の効果を調べるために、肝臓を標的臓器とする新たな AAVS1 insulator 搭載 (改良型) AAV ベクターの構築を進めた。肝細胞特異的発現ユニットの構築のために、マウストランスサイレンチン遺伝子プロモーター/エンハンサーのクローニングに加えて HNF4 $\alpha$  結合促進変異導入、ヒト ApoE locus control region およびヒト  $\alpha$ 1 アンチトリプシンプロモーターのクローニングを行った。これらに AAVS1 insulator を付加した。またキャプシドは肝細胞への導入効率が高いと考えられる AAV2、AAV8 および AAV9 のハイブリッドを作製し、肝細胞特異的 AAV ベクターに必要な要素を準備した。(竹内隆正)

##### 3. AAV ベクター組込み部位同定法の検討

遺伝子治療による重大な有害事象として挿入変異による悪性腫瘍の発生があり、AAV ベクターを用いた動物実験でも肝腫瘍発生の報告がある。モデル AAV ベクターが組み込まれた HeLa 細胞を薬剤選択し、得られた単クローンおよび 30 クローン程度からなる集団を対象として高速シーケンサーを活用した組込み部位同定を試みた。Nextera DNA Sample Prep Kit と nested PCR の組み合わせにより増幅した DNA 断片を Illumina 高速シーケンサー (MiSeq) で解読した。単クローンを対象とした解読では、AAV ベクター組込み部位から 2kb 以内にリードが分布することがわかり、組込み部位は LM-PCR による結果と一致していた。クローン集団を対象とした解読では、約 20 万リード中、約 9 万リードがヒトゲノムの 43 箇所 (2kb window) にマップされ、約 4 千リードが AAV ベクターとヒトゲノムの接合部分として 76 箇所にマップされた。マップされた組込み部位の検証が今後必要と考えられる。(竹内隆正、関塚剛史)

## II. HPV に関する研究

### 1. HPV の感染増殖機構の研究

#### (1) HPV 感染初期過程の分子機構の解析

HPV キャプシドの副構成蛋白質 L2 は HPV 感染の初期過程で重要な役割を果たすことから、L2 に特異的に作用する宿主蛋白質を探索し、HPV 感染におけるその相互作用の意義を調べた。Transport protein particle complex subunit 8 (TRAPPC8) が同定され、L2 は TRAPPC8 に依存したゴルジ体構造を崩壊させたことから、TRAPPC8 の機能を阻害すると考えられた。HPV は細胞内に侵入した後、トランスゴルジネットワーク (TGN) を経由する。L2

による TRAPPC8 の機能阻害は HPV ゲノムが TGN から脱出する際に重要な役割を果たすと推察される。(石井克幸)

## (2) HPV 感染初期過程における宿主応答

HPV 16 型偽ウイルスを HeLa S3 細胞へ接種するとオートファジーが誘導されることを明らかにした。オートファジー阻害剤である 3-MA を添加した HeLa S3 細胞に偽ウイルスを接種すると、非添加時と比べてレポーターの発現が上昇することから、HPV 感染初期過程においてオートファジーは宿主防御として働くことが示唆された。一方、オートファジー誘導剤であるラパマイシン処理でレポーターの発現に変化がないことや、隔離膜やオートファゴソーム内に偽ウイルス粒子が存在することから、このオートファジーは飢餓状態時とは異なる機構で誘導されると考えられる。(石井克幸)

## (3) HPV 型間での複製干渉機構の研究

HPV には 170 の遺伝子型があり、多くの感染者が複数の型に同時感染している。子宮頸癌に高頻度で検出される 16 型と 18 型の間でのゲノム複製における相互作用を調べた。C33A 細胞に 16 型と 18 型ゲノム及びゲノム複製に必要なそれぞれの型の E1、E2 タンパク質発現プラスミドをトランスフェクションすると、複製効率が両者とも低下した。16 型 E1 は 18 型の複製を、18 型 E1 は 16 型の複製を阻害した。複製阻害には、E1 の多量体形成に必要なドメインが不可欠であった。16 型と 18 型の E1 は C33A 細胞抽出液中で結合した。16 型と 18 型が重感染した細胞では、E1 ヘテロ多量体が形成され、複製干渉が起こることが示唆された。(森 清一郎、松尾理加、終元 巖)

## (4) E1 と結合する細胞チロシンキナーゼの探索

HPV ゲノム複製に働くウイルスタンパク質 E1 は、核に蓄積すると細胞周期の S 期進行を阻害する。前年度までに 293 細胞で FLAG タグ付き HPV16 型 E1 (FLAG-E1) を発現させ FLAG 抗体で免疫沈降すると、チロシンキナーゼが結合することを明らかにしている。チロシンキナーゼは細胞増殖に重要な役割を果たしていることから、E1 による S 期進行阻害のメカニズムを明らかにする目的で、E1 に結合する細胞チロシンキナーゼの検索を行った。チロシンキナーゼ基質ペプチドライブラリーを用いて、免疫沈降した FLAG-E1 に結合するチロシンキナーゼによりリン酸化される基質ペプチドのスクリーニングを行った。基質ペプチドの情報から 7 種のチロシンキナーゼが候補として得られ、その内の少なくとも一つは、C33A 細胞で強制発現すると E1 と結合することが示された。(松尾理加、

終元 巖)

## 2. HPV 感染状況についての調査・研究

### (1) 我が国の HPV 遺伝子型分布の調査

我が国の女性に感染している HPV 遺伝子型の調査を継続して行った。NTT 東日本病院婦人科を受診した女性から子宮頸管部細胞を収集し、DNA を抽出して、PGMY リバースプロット法を用いて HPV タイピングを行った。(近藤一成 [NTT 東日本病院]、東 由香里、松尾理加、終元 巖)

### (2) 子宮頸癌および前癌病変での HPV 遺伝子型分布の調査

近年導入された HPV ワクチンは、HPV16/18 が原因の子宮頸癌のみを予防することから、子宮頸癌および前癌病変での他の高リスク型 HPV の型分布を調べる必要がある。三カ所の拠点病院から CIN2/3 および子宮頸癌の擦過細胞検体を定期的に収集し、PGMY リバースプロット法によって HPV タイピングを行う調査を開始した。(岩田卓 [慶應大学病院]、近藤一成 [NTT 東日本病院]、川名 敬 [東京大学病院]、東 由香里、松尾理加、終元 巖)

## 3. 交差性中和エピトープをもつ次世代 HPV ワクチンの開発研究

### (1) モノクローナル抗体を用いた交差性中和エピトープの解析

HPV16 L2 キャプシドタンパク質のアミノ酸 56~75 領域には複数の交差性中和エピトープがあり、全ての高リスク型 HPV に有効な次世代ワクチンとして開発されている。56~75 領域のアミノ酸配列をもつ合成ペプチド (P56/75) で免疫したマウスから、P56/75 に結合する 2 つのモノクローナル抗体 (MAb) 21A 及び 24B を分離した。MAb21A、24B は、ともに P56/75 中の 58~64 領域のアミノ酸配列を認識した。MAb24B は HPV16 偽ウイルス (PsV) に結合し、細胞への感染を中和した。MAb21A は HPV16 PsV に結合せず中和もしなかった。この結果は、HPV16 L2 58~64 領域が立体構造エピトープであることを示している。ワクチン抗原は、交差性中和エピトープを立体構造的に正しく提示する必要がある。(森 清一郎、神田忠仁 [理化学研究所])

### (2) 交差性中和エピトープの抗原性解析

24B エピトープのアミノ酸配列は HPV の型間でよく保存されており、MAb24B は、調べた全ての高リスク型 HPV (16、18、31、33、35、51、52、58) の PsV を中和する。24B エピトープがウサギでもエピトープとして認識され

るか調べる目的で、ウサギ抗 P56/75 抗血清に 24B エピトープを認識する抗体が含まれるか、競合 ELISA により調べた。ウサギ抗 P56/75 抗血清は、MAb24B の HPV16 PsV への結合を阻害した。ウサギ血清は 24B エピトープと重複する領域を認識する抗体を含んでおり、24B エピトープはウサギにおいてもマウスと同様に認識されると考えられる。ヒトでもこの領域がエピトープとして認識され、交差性中和抗体が誘導されることが期待される。(森 清一郎、神田忠仁[理化学研究所])

#### 4. 次世代シーケンサーを用いた HPV ゲノム解析

##### (1) HPV16 ゲノム解析

子宮頸部擦過細胞の臨床検体から抽出した DNA を鋳型にして、一段階の PCR によって全長 HPV16 ゲノム DNA を増幅し、Nextera DNA Sample Prep Kit を用いて断片ライブラリー化した後、次世代シーケンサー (MiSeq) にて配列解読を行った。得られた配列情報から de novo assembly によって全長 HPV16 ゲノム配列を再構築した。また HPV16 ゲノム配列の多様性解析を行い、一部の臨床検体で 0.5-6%の頻度の塩基変異が含まれていることが示された。(柗元 巖、前濱朝彦[細胞化学部]、小笠原由美子、関塚剛史、黒田 誠)

##### (2) HPV52/58 ゲノム解析

HPV52/58 は日本を含めた東アジア地域の子宮頸癌で高頻度に検出される HPV 型である。HPV16 と同様の方法で、全長 HPV52/58 ゲノム DNA を一段階で増幅する PCR 系を確立した。臨床検体 DNA から増幅した全長 HPV52/58 ゲノム DNA に対して、次世代シーケンサーによる配列解読を行った。多様性解析の結果、HPV16 で検出された頻度の塩基変異は認められず、HPV 型間での生物活性の違いを反映している可能性がある。(柗元 巖、関塚剛史、黒田 誠)

##### (3) APOBEC3 による HPV ゲノムへの変異導入機構の解析

HPV16 陽性の子宮頸部病変由来 W12 細胞をインターフェロン処理すると、APOBEC3 蛋白質の発現が誘導され、HPV16 ゲノムの E2 領域に A/T への hypermutation が導入されることが分かった。さらに次世代シーケンサーを用いて、W12 細胞で APOBEC3 を誘導した際の HPV16 ゲノム変異の包括的解析を行った。子宮頸癌では、HPV ゲノムが E2 領域内で分断されて細胞 DNA に組込まれることが多いことから、APOBEC3 による hypermutation が HPV 組込みに関わる可能性が考えられる。(若江亭祥[金沢大学医学部]、王 哲[金沢大学医学部]、関塚剛史、柗元 巖、

村松正道[金沢大学医学部])

### III. 病原性ウイルスのゲノム解析

#### 1. 病原性ウイルスゲノムデータベースの構築

新興再興感染症や慢性感染症対策の一環として、病原体ゲノム情報のデータベース化を進めている。現在、病原体ゲノムデータベースには、インフルエンザ、ウエストナイルウイルス、ノロウイルス、C 型肝炎ウイルス、ポリオウイルス、ブタ内在性レトロウイルス、サイトメガロウイルス、HIV-1 の最新のゲノム情報が、自動更新システムにより蓄積されている。本年度は、昨年度同様引き続き、アノテーションの修正機能を用いて、病原体ゲノムデータベースに蓄積されているノロウイルスのゲノム情報のアノテーションを修正した。また、これまで遺伝子型などの情報が明示されていなかったエントリーに、遺伝子型などの情報を付加した。(横山勝、佐藤裕徳)

#### 2. ロタウイルスのゲノム解析

ウイルス二部の依頼を受け、共同で、2012 年に国内で発生した 5 歳未満のロタウイルス性急性胃腸炎入院事例について、計 128 事例の糞便試料中のロタウイルスの全ゲノム配列を取得した。ワクチン普及前の重症事例におけるロタウイルス遺伝子型の把握を試みている (中村浩美、藤井克樹[ウイルス二部]、片山和彦[ウイルス二部]、中込治[長崎大学]、中込とよ子[長崎大学]、佐藤裕徳)

#### 3. ノロウイルスのゲノム解析

ウイルス二部の依頼を受け、共同で、2012 年末に、新潟、北海道、台湾で発生したノロウイルス性急性胃腸炎事例について、計 11 事例の糞便試料中のノロウイルス全ゲノム配列を取得した。ゲノム全長の系統樹解析 (NJ 法) により、北海道 1 事例、新潟 4 事例、台湾 2 事例 (計 7 事例) のウイルスは GII.4 の単系統亜株 (2007 年に大阪で流行した株に近い) であることがわかった。ノロウイルスの広域伝播能力が改めて示唆された。(中村浩美、田村務 (新潟県保健環境科学研究所)、吉澄志磨 (北海道立衛生研究所)、片山和彦[ウイルス二部]、佐藤裕徳)

### IV. *in silico* 構造機能解析技術の応用研究

#### 1. HIV-1 gp120 分子モデルにより示唆される中和逃避メカニズム

HIV-1 gp120 が抗 V3 抗体中和を逃避するしくみを理解するため、V1/V2 ドメインを含む糖鎖付 HIV-1 gp120 全長分子モデルの構築を行い、V1/V2 ドメインと V3 の配

置、V3 と相関して運動する部位および三量体における V3 の配置について検討した。V1/V2 ドメインは gp120 外側ドメインのウイルス粒子外側を覆うように配置され、V3 は V1/V2 stem、V2 ループ、 $\beta$ 20- $\beta$ 21 ループの近傍に配置されていた。V3 と相関して運動する部位を調べると、V3 の動きは V1/V2 stem、V2 ループ、 $\beta$ 20- $\beta$ 21 ループの動きと相関していた。したがって、抗 V3 抗体による中和は、V1/V2 stem、V2 ループ、および  $\beta$ 20- $\beta$ 21 ループの影響を受けると考えられる。最後に、三量体分子モデルにおける V3 の配置を調べると、V3 エピトープが三量体の中心に配置されていた。そのため、中和抗体は三量体では V3 エピトープにアクセスできないと考えられる。(横山 勝、佐藤裕徳)

## 2. HIV-2 CRF01\_AB の C 末端ドメインはヒト TRIM5 $\alpha$ 感受性に影響を与える

HIV-2 は、HIV-1 と比較して限定された地理的分布を示す。HIV-2 のサブタイプ間での組換えウイルスはほとんど観察されない。最近、日本における 3 人の HIV-2 の患者に免疫不全の急速な進行が見られた。これらの患者に感染しているウイルスは、サブタイプ A とサブタイプ B の組換えである CRF01\_AB であった。この検出されたウイルスのカプシド蛋白質 (CA) を評価した。HIV-2 CRF01\_AB の CA は、A と B の両方とほぼ等しい遺伝的距離であり、抗ウイルス因子であるヒト TRIM5 $\alpha$  に強力な耐性を示した。ヒト TRIM5 $\alpha$  に対する耐性発現のためには、C 末端ドメインにおける HIV-2 CRF01\_AB 特異的なアミノ酸置換が必要であることがわかった。これらの結果は、レトロウイルスは、CA の C 末端ドメインの残基での置換により、TRIM5 $\alpha$  を回避することができることを示している。(横山 勝、中山英美[阪大微研]、伊部史朗[名古屋医療センター]、杉浦互[名古屋医療センター]、塩田達男[阪大微研]、佐藤裕徳)

## 3. HIV-1mt の Gag-CA Q110D 変異によるサル細胞での TRIM5 $\alpha$ 非依存的な増殖の促進

我々は、HIV-1/AIDS 発症霊長類モデル確立のため、サル細胞で効率良く増殖する HIV-1 の構築に取り組んでいる。MN4S と MN5S は、サル細胞・個体での増殖効率が改善されたウイルスクローンである。アカゲザル由来 HSR5.4 細胞を用いて MN4S と MN5S の馴化を試みると、キャプシド (CA) のヘリックス 6 (h6) に増殖適応変異 G114E が認められた。CA の構造解析により、さらなる増殖適応変異を検討すると Q110D を見出した。この Q110D を MN4S および MN5S に導入し、HSR5.4 細胞での増殖特

性を調べると、Q110D は G114E よりもさらに増殖効率を増強した。しかし、Q110D 変異は抗 HIV-1 因子 TRIM5 $\alpha$  を回避できていなかった。したがって、Q110D 変異は TRIM5 $\alpha$  とは無関係にサル細胞におけるウイルス増殖を促進していると考えられる。(横山 勝、野間口雅子[徳島大]、足立昭夫[徳島大]、佐藤裕徳)

## 4. 新しい薬剤耐性変異を持つ B 型インフルエンザウイルス NA 蛋白質の構造解析

インフルエンザウイルス研究センターのサーベイランスで新規の耐性変異をもつ B 型インフルエンザウイルスを検出した。NA 蛋白質に P139S を持つ株はペラミビルとザナミビルに対して耐性を示し、E105K を持つ株はペラミビル、ザナミビル、ラニナミビルの 3 薬剤に対して耐性を示した。E105K および P139S は B 型ウイルスの新たな NA 阻害薬耐性マーカーである。B 型の既知の NA 阻害薬耐性変異は、全て NA 活性部位に集中している。しかし、今回同定した 105、139 位のアミノ酸は活性部位から大きく離れていた。NA 蛋白質の機能的構造解析により、これらの変異は隣接するアミノ酸の立体配置に影響し、活性部位内のアミノ酸の配置を変化させ、NA 阻害薬との結合親和性の低下を招く可能性が示された。(横山 勝、藤崎誠一郎[インフルセンター]、小田切孝人[インフルセンター]、佐藤裕徳)

## V. バイオテロ・新興感染症対策としての超高速ゲノム解読システムの構築

バイオテロ・新興感染症による非常事態に対応するため、“迅速・網羅的・正確”を兼ね備えた次世代シーケンサーによる超高速ゲノム解読システムを既に構築してきた。これまでに WHO 指定バイオテロ病原体である *Bacillus anthracis* 炭疽菌、*Yersinia pestis* ペスト菌、*Francisella tularensis* 野兎病菌、*Burkholderia pseudomallei* 類鼻疽菌のゲノム情報解析を行ってきた。

本年度は次世代シーケンサーによる解読リードを病院・地方衛生研究所等でも情報解析できるよう、ネットワーク経由で病原体鑑別するための情報解析パイプライン (Metagenomic Pathogen Identification pipeline for Clinical specimen: MePIC) を構築した。情報解析を習熟していない検査技師であっても簡単な講習会により利用できるような利便性を考えて作成した。

(竹内史比古、関塚剛史、黒田誠)

## VI. 細菌検査学上問題となる細菌のゲノム解析

*Salmonella* 属菌は、三類感染症に指定される *S. Thphi*

および *S. Parathphi A* と、細菌性食中毒を起こすものに大別される。*Salmonella* の細菌学的検査を行う上で、硫化水素の産生の有無による鑑別も行い、硫化水素非産生の代表例として、*S. Parathphi A* が上げられる。国内で細菌性食中毒を起こす *Salmonella* 属菌は、Enteritidis、Typhimurium、Infantis 等の血清型が上位を占める。2010年の群馬県内で生鶏肉から47株の *Salmonella* 属菌を分離した際、三株の *S. Typhimurium* および一株の *S. Infantis* の硫化水素非産生株が分離された。これら合計4株のゲノム解析を行い、配列公開されている株との比較解析を行った。その結果、硫化水素非産生 *S. Typhimurium* および *S. Infantis* は、既に公開されている血清型のそれぞれに高い相同性を示し、thiosulfate reductase subunit をコードする *phsA* 遺伝子が偽遺伝子していることが明らかとなった。更に、これら硫化水素非産生株全てに於いて、薬剤耐性遺伝子 *bla<sub>CMV-2</sub>* を含む plasmid を有していた。硫化水素産生能の欠失は、薬剤耐性 *Salmonella* 属菌の誤同定に関わる可能性があることが示唆された。

(黒田 誠、関塚剛史、小笠原由美子、木村博一[感染症情報センター]、大石和徳[感染症情報センター]、坂野智恵子[群馬県衛生環境研究所]、石岡大成[群馬県衛生環境研究所]、塚越博之[群馬県衛生環境研究所]、高田勇人[群馬県衛生環境研究所]、小澤邦壽[群馬県衛生環境研究所])

## VII. 集団食中毒事例に係る病原細菌のゲノム解析および腸内細菌叢のメタゲノム解析

2011年に富山県、福井県および神奈川県で腸管出血性大腸菌 (EHEC) 血清型 O111 を中心とする重症化の傾向が高い集団食中毒事例が発生した。本事例分離菌株の特徴を俯瞰的かつ包括的にゲノムレベルで解明するため、本事例分離菌株の完全長ゲノム配列決定を行っている。現段階で、*stx2* ファージを除く  $\lambda$  ファージおよび保存性が高い paralog 遺伝子の箇所以外の gap closing まで行った。*stx2* ファージおよびその近傍の配列決定の結果、Stx2 ファージは O157 clade8 の TW14359 株と同様の位置に存在していたが、その配列構造は異なり、O103:H2 12009 株および O104:H4 2009EL-2071 株の Stx2 ファージに近縁の構造を示していた。また、検体中に存在する大腸菌系統群の population 解析を行うためのパイプラインを作製した。メタゲノム解読配列を用いて大腸菌の詳細な分類を行う際、BLAST 検索のみでは正確な分類が不可能である事が明らかとなり、各系統群に特有な SNP を有するリードのみを回収することで可能となった。その

結果、本事例では O111 と O157 の両方が分離されているが、患者糞便中の存在比率を定量的に解析したところ、O111 の解読リードは O157 のそれよりも 50~1,400 倍以上多く、主に O111 による事例であることが示唆された。また、患者血清中の O111 および O157 の抗体価を計測したところ、O111 抗体価は O157 抗体価よりも約 300 倍高かった。従って、本解析方法は、EHEC 食中毒事例糞便検体中の原因となる大腸菌の系統群を推測するのに有効である事が強く示唆された。

(関塚剛史、黒田 誠、竹内史比古、大西 真[細菌第一部]、綿引正則[富山県衛生研究所]、磯部順子[富山県衛生研究所]、佐多徹太郎[富山県衛生研究所])

## VIII. 難治性腸疾患患者の腸内細菌フローラの網羅解析

難治性腸疾患、特に潰瘍性大腸炎 (UC) は、個々の遺伝的背景と腸内細菌叢が密接に関連して発症する事が示唆されている。三種の抗菌剤 (アモキシシリン/テトラサイクリン若しくはホスホマイシン/メトロニダゾール) を二週間投薬するだけで、その疾患が1年以上緩解する治療例が報告されている。しかしながら、その患者腸管内の膨大な細菌叢の中で、どの細菌が最もその疾患と相関するのかは不明である。本研究では、UC 発症の環境要因となる細菌叢を抗菌剤治療前後でメタゲノム解析を行い、本疾患と密接に関連する細菌の探索を行なった。UC 患者9名の治療前、治療後の腸内フローラの比較解析を横断的に行なった。その結果、治療前の細菌叢内で多数存在し、治療後に減少する細菌属が認められた。また、各個人の腸内細菌叢は、治療前後で大きく変動していた事が明らかとなった。

(関塚剛史、黒田 誠)

## IX. 生鮮食品中に含まれる *Kudoa* 属の遺伝学的解析

ナナホシクドアの寄生するヒラメの生食により嘔吐・下痢が起こることは、疫学的に明らかであり、細胞や動物の実験からも裏付けられている。しかし、ナナホシクドアが消化器のどこでどのように作用して食中毒を引き起こすかについての細胞生物学的な機序は未解明である。解明の基盤を整えるために、クドアのゲノム解析を行っている。今年度は、新たにナナホシクドア2検体と *Kudoa neothunni* 1検体について、次世代 DNA シーケンサを用いて配列解読を行った。核ゲノムの配列解析は、まだ進行中である。ミトコンドリアゲノムについては解読を完了し、ナナホシクドアの種内では塩基配列の 98~99% が同一であることを明らかにした。一方で、クドアの種間では遺伝子領域のみが保存されていた。これらの違いを

利用して産地の区別ができれば、疫学解析にも応用できる。ナナホシドアについては、ゲノム配列解読に加えて、光学マッピングにより全ゲノム制限酵素地図を作成した。その結果、ゲノムサイズが 83 Mb で 3 本の染色体からなることが分かった。また、腸内でのナナホシドアの振る舞いを解明するために、ヒト腸管培養細胞との接触により、ナナホシドアの遺伝子発現がどう変化するかも解析した。17 の遺伝子グループで発現変動が観察され、heat shock protein などが経時的に増加していた。(竹内史比古、関塚剛史、黒田 誠、野崎智義[寄生動物部]、大西真[細菌第一部]、小西良子[国立医薬品食品衛生研究所]、大西貴弘[国立医薬品食品衛生研究所])

#### X. 感染症の関与が疑われる難治性疾患の病原体検索・解析

川崎病患児の腸内や咽頭に内在するあらゆる病原体を網羅的に把握するため、8名の川崎病患児の微生物フローラ・メタゲノム解析を行った結果、川崎病急性期の腸内には *Bifidobacterium* 属が少なく患児毎にそれぞれ異なる特徴的な様相を呈していることが示唆された。特筆すべきこととして、複数の患児の急性期便からレンサ球菌属 (*Streptococcus*) が相対的に多く検出された。特に患児 P7 からの検出率が際立って多く (細菌配列 1,906,171 reads のうち 1,463,295 reads (77%))、健常児の健全な腸内フローラとは明らかに異なる細菌フローラ組成であった。患児 P7 の急性期便からレンサ球菌の分離培養を試みたところ、通常分離培養で使用される「PEA 血液寒天培地と好気培養」の組み合わせでは増殖が見られず、より栄養価の高い「チョコレート寒天培地と嫌気培養」の組み合わせで異なる 7 株のレンサ球菌を分離することができた。7 株のゲノム解読を行い分子系統の結果、患児 P7 のレンサ球菌は、肺炎球菌 *S. pneumoniae*、心内膜炎・化膿性疾患に関わる *S. sanguinis* に近い系統群に分類されることが分かった。(黒田 誠、関塚剛史、絹巻暁子「東京大」、片野晴隆[感染病理部])

#### XI. 不明症例に係る網羅的病原体検索の行政・依頼検査への対応

所外から直接、もしくは感染研担当窓口にお問い合わせがあった不明症例の依頼検査について、計 15 件の検査を行った。ワクチン接種後の副反応事例、高校生の寮食事による集団食中毒、数ヶ月継続する不明熱、サルモネラ疑いの食中毒、不明髄膜炎、壊死性皮膚膿瘍等を担当した。そもそも感染症であるかどうか疑わしい事例もあ

ったが、集団食中毒事例では同一食材の喫食など疫学情報が明確であったため、該当する病原体候補を選別することができた。

(黒田 誠、関塚剛史)

#### XII. 所内ゲノムプロジェクト

H22, 23, 24 年度に渡り、所内の連携強化のためのゲノムプロジェクト 7 課題を遂行した。

- C型肝炎ウイルスゲノムの quasispecies 解析 (ウイルス第二部 脇田隆宇)
- 淋菌の Panmictic population と耐性化機構との関連-セフトリアキソン耐性淋菌のゲノム解析- (細菌第一部 大西真)
- 高病原性の新型クリプトコックスのゲノム情報解析 (生物活性物質部 宮崎義継)
- ゲノム・EST 解析による原虫病原機構の解明 (寄生動物部 津久井久美子)
- High through-put のシークエンサーによる病理組織検体を用いた未知、あるいは、既知の病原体遺伝子の検出とウイルス感染症の病態の解明 (感染病理部 片野晴隆)
- サルエイズモデルにおける MHC 遺伝子型別ウイルスゲノム変異およびプロウイルス挿入部位の解析 (エイズ研究センター 竹村太地郎)
- 比較ゲノムによるらい菌の増殖能・病原性に関する遺伝子解析 (感染制御部 甲斐雅規)

#### 品質管理に関する業務

##### HPV ワクチンの国家検定

HPV ワクチン (2 価ワクチンおよび 4 価ワクチン) の検定を製剤担当室として担当した。検定試験項目の内、VLP 力価試験を試験担当室として実施した。また HPV ワクチンの製造・試験記録等要約書(summary lot protocol) の審査を開始した。(石井克幸、竹内隆正、松尾理加、柗元 巖、黒田 誠)

#### 国際協力関係業務

##### WHO HPV ラボラトリーネットワーク活動

WHO によって結成された HPV ラボラトリーネットワーク (HPV ラボネット) の、西太平洋地域 Regional Reference Laboratory としての活動を行った。HPV18 抗体国際標準品の制定にあたって、Expert Committee on Biological Standardization (ECBS) に提出されるドラフト作成に携わった。また HPV 抗体中和アッセイの多施設間での比較についての論文執筆に携わった。(柗元 巖)

発表業績一覧

I. I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Nakao S, Mori S, Kondo K, Matsumoto K, Yoshikawa H, Kanda T. Monoclonal antibodies recognizing cross-neutralization epitopes in human papillomavirus 16 minor capsid protein L2. *Virology*, 434:110-117, 2012.
- 2) Kondo K, Uenoyama A, Kitagawa R, Tsunoda H, Kusumoto-Matsuo R, Mori S, Ishii Y, Takeuchi T, Kanda T, Kukimoto I. Genotype distribution of human papillomaviruses in Japanese women with abnormal cervical cytology. *Open Virol J*, 6: 277-83, 2012.
- 3) C. Eklund, O. Forslund, K. L. Wallin, T. Zhou, J. Dillner; WHO Human Papillomavirus Laboratory Network. The 2010 global proficiency study of human papillomavirus genotyping in vaccinology. *J. Clin. Microbiol.* 50(7):2289-98, 2012.
- 4) Ishii Y. Electron microscopic visualization of autophagosomes induced by infection of human papillomavirus pseudovirions. *Biochem Biophys Res Commun*, 433(4):385-9, 2013. [Epub PMID: 23537650]
- 5) Iijima S, Lee YJ, Ode H, Arold S, Kimura N, Yokoyama M, Sato H, Tanaka Y, Strebel K, Akari H. A Noncanonical mu-1A-Binding Motif in the N Terminus of HIV-1 Nef Determines Its Ability To Downregulate Major Histocompatibility Complex Class I in T Lymphocytes. *J Virol*. 86:3944-3951, 2012.
- 6) Sakuragi J, Ode H, Sakuragi S, Shioda T, Sato H. A proposal for a new HIV-1 DLS structural model. *Nuc.Acids.Res.* 40:5012-5022, 2012.
- 7) Kishida N, Fujisaki S, Yokoyama M, Sato H, Saito R, Ikematsu H, Xu H, Takashita E, Tashiro M, Takao S, Yano T, Suga T, Kawakami C, Yamamoto M, Kajiyama K, Saito H, Shimada S, Watanabe S, Aoki S, Taira K, Kon M, Lin JH, Odagiri T. Evaluation of Influenza Virus A/H3N2 and B Vaccines on the Basis of Cross-Reactivity of Postvaccination Human Serum Antibodies against Influenza Viruses A/H3N2 and B Isolated in MDCK Cells and Embryonated Hen Eggs. *Clin. Vaccine Immunol.*, 19(6):897-908, 2012.
- 8) Yokoyama M, Naganawa S, Yoshimura K, Matsushita S, Sato H. Structural Dynamics of HIV-1 Envelope 1 Gp120 Outer Domain with V3 Loop. *PLoS ONE*, 7(5): e37530, 2012.
- 9) Matsunaga S, Sawasaki T, Ode H, Morishita R, Furukawa A, Sakuma R, Sugiura W, Sato H, Katahira M, Takaori-Kondo A, Yamamoto N, Ryo A. Molecular and enzymatic characterization of XMRV protease by a cell-free proteolytic analysis. *J Proteomics*. 3;75(15):4863-4873, 2012.
- 10) Mori M, Matsuki K, Maekawa T, Tanaka M, Sriwanthana B, Yokoyama M, Ariyoshi K. Development of a Novel In Silico Docking Simulation Model for the Fine HIV-1 Cytotoxic T Lymphocyte Epitope Mapping. *PLoS ONE* 7(7): e41703, 2012.
- 11) Yokoyama M, Oka T, Kojima H, Nagano T, Okabe T, Katayama K, Wakita T, Kanda T, Sato H. Structural Basis for Specific Recognition of Substrates by Sapovirus Protease. *Front. Microbio.* 3:312, 2012. (The first two authors contributed equally)
- 12) Ode H, Nakashima M, Kitamura S, Sugiura W, Sato H. Molecular dynamics simulation in virus research. *Front Microbiol.* 3:258, 2012.
- 13) Miyamoto T, Nakayama EE, Yokoyama M, Ibe S, Takehara S, Kono K, Yokomaku Y, Pizzato M, Luban J, Sugiura W, Sato H, and Shioda T. The carboxyl-terminus of human immunodeficiency virus type 2 circulating recombinant form 01\_AB capsid protein affects sensitivity to human TRIM5 $\alpha$ . *PLoS ONE* 7(10): e47757, 2012.
- 14) Fujisaki S, Takashita E, Yokoyama M, Taniwaki T, Xu H, Kishida N, Sato H, Tashiro M, Imai M, Odagiri T. A single E105K mutation far from the active site of influenza B virus neuraminidase contributes to reduced susceptibility to multiple neuraminidase-inhibitor drugs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 429:51-56, 2012.
- 15) Kubo Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N. Retrovirus entry by endocytosis and cathepsin proteases. *Adv Virol.* 2012:640894, 2012.
- 16) Kamiyama H, Kakoki K, Shigematsu S, Izumida M, Yashima Y, Tanaka Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N, Sano T, Shidoji Y, Kubo Y. CXCR4-tropic, but not CCR5-tropic, human immunodeficiency virus infection is inhibited by the lipid raft-associated factors, acyclic retinoid analogs, and cholera toxin B subunit. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 29:279-88, 2013.
- 17) Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Saito A, Akari H, Yasutomi Y, Matano T, Sato H, Adachi A. Gag-CA Q110D mutation elicits



- TRIM5-independent enhancement of HIV-1mt replication in macaque cells. *Microbes Infect.* 15:56-65, 2013. (The first two authors contributed equally)
- 18) Nomaguchi M, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Nakayama EE, Shioda T, Yokoyama M, Sato H, Adachi A. Systemic biological analysis of the mutations in two distinct HIV-1mt genomes occurred during replication in macaque cells. *Microbes Infect.*, 15:319-328, 2013.
- 19) Sato H, Yokoyama M, Toh H. Genomics and computational science for virus research. *Front. Microbio.*, 4:42, 2013.
- 20) Kawai T, Sekizuka T, Yahata Y, Kuroda M, Kumeda Y, Iijima Y, Kamata Y, Sugita-Konishi Y, Ohnishi T. Identification of *Kudoa septempunctata* as the causative agent of novel food poisoning outbreaks in Japan by consumption of *Paralichthys olivaceus* in raw fish. *Clin Infect Dis.* 2012 Apr;54(8):1046-52.
- 21) Kuroda M, Sekizuka T, Shinya F, Takeuchi F, Kanno T, Sata T, Asano S. Detection of a possible bioterrorism agent, *Francisella* sp., in a clinical specimen by use of next-generation direct DNA sequencing. *J Clin Microbiol.* 2012 May;50(5):1810-2.
- 22) Sekizuka T, Yamamoto A, Komiya T, Kenri T, Takeuchi F, Shibayama K, Takahashi M, Kuroda M, Iwaki M. *Corynebacterium ulcerans* 0102 carries the gene encoding diphtheria toxin on a prophage different from the *C. diphtheriae* NCTC 13129 prophage. *BMC Microbiol.* 2012 May 14;12:72.
- 23) Katano H, Sato S, Sekizuka T, Kinumaki A, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Morikawa S, Saijo M, Mizutani T, Kuroda M. Pathogenic characterization of a cervical lymph node derived from a patient with Kawasaki disease. *Int J Clin Exp Pathol.* 2012;5(8):814-23.
- 24) Mizuta K, Kuroda M, Kurimura M, Yahata Y, Sekizuka T, Aoki Y, Ikeda T, Abiko C, Noda M, Kimura H, Mizutani T, Kato T, Kawanami T, Ahiko T. Epidemic myalgia in adults associated with human parechovirus type 3 infection, Yamagata, Japan, 2008. *Emerg Infect Dis.* 2012 Nov;18(11):1787-93.
- 25) Matsuo J, Nakamura S, Ito A, Yamazaki T, Ishida K, Hayashi Y, Yoshida M, Takahashi K, Sekizuka T, Takeuchi F, Kuroda M, Nagai H, Hayashida K, Sugimoto C, Yamaguchi H. Protochlamydia induces apoptosis of human HEp-2 cells through mitochondrial dysfunction mediated by chlamydial protease-like activity factor. *PLoS One.* 2013;8(2):e56005. doi: 10.1371/journal.pone.0056005. Epub 2013 Feb 11.
- 26) Chieko Sakano, Makoto Kuroda, Tsuyoshi Sekizuka, Taisei Ishioka, Yukio Morita, Akihide Ryo, Hiroyuki Tsukagoshi, Yuko Kawai, Nobuko Inoue, Hayato Takada, Yumiko Ogasawara, Atsuyoshi Nishina, Masa-aki Shimoda, Kunihisa Kozawa, Kazunori Oishi, Hirokazu Kimura. (2012) Genetic analysis of non-hydrogen sulfide-producing *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and Infantis isolates in Japan. *J. Clinical Microbio.* 2013 Jan;51(1):328-30. doi: 10.1128/JCM.02225-12. Epub 2012 Nov 7.
- 27) Mika Saitoh, Makoto Takeda, Koichi Gotoh, Fumihiko Takeuchi, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda, Katsumi Mizuta, Akihide Ryo, Ryota Tanaka, Haruyuki Ishii, Hayato Takada, Kunihisa Kozawa, Ayako Yoshida, Masahiro Noda, Nobuhiko Okabe, and Hirokazu Kimura. (2012) Molecular Evolution of Hemagglutinin (H) Gene in Measles virus Genotypes D3, D5, D9, and H1. *PLoS One.* 2012;7(11):e50660. doi: 10.1371/journal.pone.0050660. Epub 2012 Nov 29.
- 28) Noriyuki Otsuki, Tsuyoshi Sekizuka, Fumio Seki, Kouji Sakai, Toru Kubota, Yuichiro Nakatsu, Surui Chen, Hideo Fukuhara, Katsumi Maenaka, Ryoji Yamaguchi, Makoto Kuroda, Makoto Takeda. (2012) Canine Distemper Virus with the Intact C Protein Has the Potential to Replicate in Human Epithelial Cells by Using Human Nectin4 as a Receptor. *Virology.* 2013 Jan 20;435(2):485-92. doi: 10.1016/j.virol.2012.10.033. Epub 2012 Nov 19.

## 2. 和文発表

- 1) 佐藤裕徳, 横山 勝, 本村和嗣. ノロウイルス流行の基礎知識と検査法. *日本臨床*, 70(8):1272-1275, 2012.
- 2) 本村和嗣, 横山 勝, 岡智一郎, 片山和彦, 野田 衛, 田中智之, 佐藤裕徳. Norovirus Surveillance Group of Japan. ノロウイルスのゲノム解析と流行発生のしくみ. *感染症学雑誌*, 86: 563~568, 2012.
- 3) 黒田 誠 “遺伝子型別法・タイピング法” *臨床と微生物* 39 巻増刊号: 501-506 2012年10月
- 4) 黒田 誠 “感染性腸炎” *臨床栄養～腸管と免疫・栄養～* vol.120(6): 711-716, 2012年5月

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Ishii Y, Nakahara T, Mori S, Takeuchi T, Kukimoto I, Kanda T. Identification of Trappc8 as a host factor that is required for human papillomavirus entry. The DNA Tumour Virus Meeting (2012年7月、モントリオール)
- 2) Kukimoto I, Maehama T, Mori S, Kusumoto-Matsuo R, Kondo K, Sekizuka T, Kuroda M. A novel method to determine the full-genome sequence of human papillomavirus type 16 using full-circle PCR followed by deep sequencing. 28<sup>th</sup> International Papillomavirus Conference (2012年12月、プエルトリコ)
- 3) Saito A, Kono K, Nomaguchi M, Yokoyama M, Yasutomi Y, Matano T, Sato H, Shioda T, Adachi A, Akari H, Nakayama EE. Genetic Diversity of *TRIM5* Gene and HIV-1 Susceptibility in Cynomolgus Macaque (*Macaca fascicularis*). Cold Spring Harbor Meeting, May 21-26, 2012, NY USA.
- 4) Makoto Kuroda. Fluctuating gut flora under infectious diseases. The 3rd International Forum The 98th General Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology. April 19-21, 2012, Tokyo Japan.
- 5) Akiko Kinumaki, Tsuyoshi Sekizuka, Masaru Takamizawa, Takashi Igarashi, Makoto Kuroda. Longitudinal analysis of gut flora in Kawasaki disease patients using a next-generation DNA sequencing. Scientific conference: Exploring Human Host-Microbiome Interactions in Health and Disease. May 5-8, 2012. Cambridge UK.
- 6) Harutaka Katano, Kouta Sakamoto, Yuko Sato, Hideki Hasegawa, and Makoto Kuroda. Expression profiles of KSHV-encoded miRNAs in KSHV-associated diseases. 2012 International Congress on Oncogenic Herpesviruses and Associated Diseases. August 1-4, 2012. Philadelphia, Pennsylvania USA.
- 7) 終元 巖、前濱朝彦、松尾理加、関塚剛史、黒田誠：次世代シーケンサーによる HPV16 ゲノム解析、第 60 回日本ウイルス学会学術総会 (2012 年 11 月、大阪)
- 8) 王 哲、喜多村晃一、若江亭祥、終元 巖、小浦美樹、村松正道：Hypermutation of human papillomavirus 16 viral DNA by APOBEC3 proteins、第 60 回日本ウイルス学会学術総会 (2012 年 11 月、大阪)
- 9) 石井克幸、中原知美、森 清一郎、竹内隆正、終元 巖、神田忠仁：Trappc8 はヒトパピローマウイルス感染に必要な宿主蛋白質である、第 85 回日本生化学会大会 (2012 年 12 月、福岡)
- 10) Wang Z, Kitamura K, Kukimoto I, Koura M, Muramatsu M. : Hypermutation of human papillomavirus 16 viral DNA by APOBEC3 proteins、第 30 回日本生化学会北陸支部大会 (2012 年 5 月、金沢)
- 11) 佐藤裕徳、本村和嗣、横山 勝、椎野禎一郎、中村浩美、岡智一郎、片山和彦、野田 衛、田中智之、Norovirus Surveillance Group of Japan：パндеミックノロウイルスの変化の制約。第 60 回日本ウイルス学会学術集会。 2012 年 11 月 13-15 日 (火-木)、大阪。
- 12) 横山勝、佐藤裕徳：分子動力学計算による HIV-1 gp120 の構造解析。第 60 回日本ウイルス学会学術集会。 2012 年 11 月 13-15 日 (火-木)、大阪。
- 13) 本村和嗣、中村浩美、佐藤 彩、大出裕高、佐藤裕徳：次世代シーケンサーを用いた家族内感染例におけるノロウイルス準種解析。第 60 回日本ウイルス学会学術集会。 2012 年 11 月 13-15 日 (火-木)、大阪。
- 14) 藤崎誠一郎、今井正樹、高下恵美、谷脇妙、徐 紅、岸田典子、横山 勝、佐藤裕徳、江島美穂、金南希、佐藤 彩、土井輝子、伊東玲子、菅原裕美、田代真人、小田切孝人：新しい薬剤耐性変異を持つ B 型インフルエンザウイルスの性状。第 60 回日本ウイルス学会学術集会。 2012 年 11 月 13-15 日 (火-木)、大阪。
- 15) 高畑辰郎、横山 勝、佐藤裕徳、河合剛太、佐藤洋子、長谷川温彦、神奈木真理、増田貴夫：HIV-1 インテグラーゼの逆転写過程以前における機能を規定する N 末端ドメイン構造の解析。第 60 回日本

### 2. 国内学会

- 1) 森 清一郎、松尾理加、石井克幸、近藤一成、終元 巖：Virus-like particle を用いた新たな HPV16/18 抗体価測定系の確立、第 60 回日本ウイルス学会学術総会 (2012 年 11 月、大阪)
- 2) 石井克幸、中原知美、森 清一郎、竹内隆正、終元 巖、神田忠仁：Trappc8 はヒトパピローマウイルスの侵入に必要な宿主蛋白質である、第 60 回日本

- ウイルス学会学術集会. 2012年11月13-15日  
(火-木)、大阪.
- 12) Arias Juan F、小山貴芳、岩部幸枝、横山勝、佐藤裕徳、長谷川秀樹、徳永研三：APOBEC3Gによる*Alu* 転移抑制の分子生物学的および構造学的解析. 第60回日本ウイルス学会学術集会. 2012年11月13-15日(火-木)、大阪.
- 13) 三好龍也、内野清子、本村和嗣、佐藤裕徳、田中智之：堺市におけるキメラ型ノロウイルスの検出状況. 第60回日本ウイルス学会学術集会. 2012年11月13-15日(火-木)、大阪.
- 14) 櫻木淳一、大出裕高、櫻木小百合、塩田達雄、佐藤裕徳：HIVゲノムRNA二量体化シグナルの新規構造モデル. 第60回日本ウイルス学会学術集会. 2012年11月13-15日(火-木)、大阪.
- 15) 横山 勝、佐藤裕徳：HIV-1 gp120におけるV1/V2ドメインとV3ドメインの配置. 第26回日本エイズ学会学術集会・総会, 2012年11月24-11月26日(土-月)、横浜.
- 16) 横山 勝、佐藤裕徳：HIV-1 gp120分子モデルにより示唆される中和逃避メカニズム. 第35回日本分子生物学会年会、2012年12月11-14日(火-金)、福岡.
- 17) 小山貴芳、Juan F Arias、横山 勝、佐藤裕徳、徳永研三：APOBEC3Gの抗*Alu* レトロ転移活性に寄与するアミノ酸の同定. 第35回日本分子生物学会年会、2012年12月11-14日(火-金)、福岡.
- 18) 長谷川紀子、小笠原由美子、関塚剛史、竹内史比古、黒田 誠。小児脳膿瘍から分離された*Streptococcus intermedius* TYG1620のゲノム解析. 第86回日本細菌学会(千葉市 2013年3月)
- 19) 山口博之、松尾淳司、関塚剛史、黒田 誠、永井宏樹、杉本千尋。アメーバ共生難培養性細菌原始クラミジアの比較ゲノム解析. 第86回日本細菌学会(千葉市 2013年3月)
- 20) 小笠原由美子、関塚剛史、竹内史比古、黒田 誠。新規 *Enterobacter* sp. のゲノム解読と染色体性β-lactamase *bla*<sub>MIR-KINAN</sub> の解析. 第86回日本細菌学会(千葉市 2013年3月)
- 21) 関塚剛史、綿引正則、磯部順子、大西真、竹内史比古、佐多徹太郎、黒田誠。糞便メタゲノム解析による大腸菌のポピュレーション解析. 第86回日本細菌学会(千葉市 2013年3月)
- 22) 朝倉宏、関塚剛史、黒田 誠、山本茂貴、五十君静信。我が国において流行を示す *Campylobacter* jejunii ST-4526 のゲノム特性. 第86回日本細菌学会(千葉市 2013年3月)
- 23) 水田克巳、黒田 誠、栗村正之、八幡芳和、関塚剛史、野田雅博、木村博一、水谷哲也、加藤丈夫、川並透。パレコウイルス3型による成人の筋痛症の流行. 第53回臨床ウイルス学会(千里ライフサイエンスセンター、大阪市 2012年6月)
- 24) 甲斐雅規、中田 登、松岡正典、関塚 剛史、黒田 誠、牧野正彦。Kyoto-2株の全ゲノムシーケンスにより同定されたSNPs解析. 第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会(札幌市 2012年6月)
- 25) 竹内史比古、関塚剛史、野崎智義、大西 真、小西良子、大西貴弘、黒田 誠。ナナホシクドアの退化したミトコンドリアゲノムが明らかにする、ミクソゾアの左右相称動物起源。日本進化学会第14回大会(八王子市 2012年8月)
- 26) 水田克巳、青木洋子、池田辰也、安孫子千恵子、阿彦忠之、野田雅博、木村博一、黒田 誠、関塚剛史、栗村正之、八幡芳和、水谷哲也、加藤丈夫、川並透。パレコウイルス3型による成人の筋痛症の流行. 第66回日本細菌学会東北支部総会(仙台市 2012年8月)
- 27) 黒田 誠。ヒト・家畜・食品由来のESBL産生菌の変遷と世界各国の疫学状況. 第59回日本化学療法学会東日本支部総会(東京 2012年10月)
- 28) 佐藤靖祥、小田智三、中山 整、奥野正孝、大場邦弘、黒田 誠。喀痰から *Cedecea* species が検出され、ゲノム解析から起炎菌は *Enterobacter* species であった肺炎の一例. 感染症学会東日本地方会(東京 2012年10月)
- 29) 絹巻暁子、関塚剛史、高見沢 勝、五十嵐 隆、黒田 誠。川崎病患児におけるフローラの経時的変動解析. 第32回川崎病学会(品川 2012年10月)
- 30) 黒田 誠。メタゲノム解析の臨床応用と病原体候補の推定. 第86回日本細菌学会(千葉市 2013年3月)
- 31) 大屋賢司、黒田 誠、関塚剛史、安藤秀二、福士秀人。オウム病クラミジア特異的および動物クラミジアを広範に検出するLAMP法の開発. 第86回日本細菌学会(千葉市 2013年3月)