

令和 6 年 5 月 13 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02736

研究課題名(和文) 高速リバーシジェネティクス系を駆使した新興再興ウイルス研究の推進

研究課題名(英文) Promotion of emerging and re-emerging virus research using high-speed reverse genetics

研究代表者

福原 崇介 (Fukuhara, Takasuke)

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：70598739

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：新型コロナウイルスの高速リバーシジェネティクス法を駆使して様々な組換えウイルスを作製し、以下の検討および新規実験系の開発を行った。1. 変異株の性状解析、2. 抗ウイルス薬に対する耐性化獲得機構の解明、3. 移植後患者におけるワクチンの有用性の解明、4. 唾液検体からの直接的なウイルスゲノムの増幅による直接的リバーシジェネティクス法の開発、5. GFP搭載組換えウイルスを用いた効率的な中和能評価系の構築、6. 病原性を評価可能なSARS-CoV-2のマウスモデルの開発、7. Akalucを搭載した組換えSARS-CoV-2を用いたin vivo imaging系の構築

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は新型コロナウイルスが世界的に蔓延する中で、組換えウイルスを用いた応用研究で、様々なことを明らかにできた。加えて、様々な実験系の構築も行うことができた。特に、変異株の性状解析においては、変異株の中のどの変異が性状に大きな影響を及ぼしているかを明らかにすることができた。また、効率的な中和能の評価系や、in vivo imaging、マウスモデルなどの新たな実験系の構築はCOVID-19の対策にも貢献したが、今後新たに流行する可能性がある新興再興感染症対策にも貢献できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Using the rapid reverse genetics approach of SARS-CoV-2, we generated various recombinant viruses and conducted the following investigations and development of novel experimental systems: 1. Characterization of mutant strains, 2. Elucidation of mechanisms for acquiring resistance to antiviral drugs, 3. Clarification of the efficacy of vaccines in post-transplant patients, 4. Development of a direct reverse genetics method through direct amplification of viral genomes from saliva samples, 5. Construction of an efficient neutralization assay system using GFP-tagged recombinant viruses, 6. Development of a mouse model of SARS-CoV-2 with assessable pathogenicity, 7. Construction of an in vivo imaging system using recombinant SARS-CoV-2 incorporating Akaluc.

研究分野：ウイルス学

キーワード：リバーシジェネティクス SARS-CoV-2 変異株 マウスモデル in vivo imaging

### 1. 研究開始当初の背景

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) のパンデミックにより新興・再興感染症制御の重要性が改めて認識された。これまでも 2014 年のエボラウイルスや 2016 年のジカウイルスのアウトブレイクは記憶に新しい。さらに国内では 2012 年に重症熱性血小板減少症ウイルス (SFTSV) が発見され、致死率約 30% の重篤な疾患を引き起こすなど、近年、感染症対策の重要性は益々高まっている。感染症制御にはウイルスの増殖機構や病原性発現機構の解明が重要であるが、基礎的な研究の推進には様々な工程で時間を要するため、革新的技術の開発によりその工程を短縮化することには大きな意義がある。ウイルスの基礎的研究を多角的に推進するために欠かせない技術としてリバースジェネティクス法がある。従来のリバースジェネティクス法では全長のウイルスゲノムをコードするプラスミドや大腸菌人工染色体 (BAC) を細胞内に導入し、組換えウイルスを作出する。その技術により、任意の変異ウイルスや GFP などのレポーターを搭載したウイルスを作出することができ、ウイルスの性状解析を効率的にかつ詳細に進めることが可能となる。しかしながら、プラスミドにコードされたウイルスゲノムは大腸菌内で排除されることが多く、また大腸菌増殖過程でウイルスゲノム内に様々な変異が導入されることがある。よって新たなウイルスのリバースジェネティクス系の確立は決して容易ではなく、複数の変異ウイルスを作出するには多くの時間と労力を要する。

### 2. 研究の目的

申請者はこれまでに上記の問題をクリアした大腸菌を用いた操作を必要としない (Bacterium-free) Circular Polymerase Extension Reaction (CPEP) 法による革新的なリバースジェネティクス系を、SARS-CoV-2 を含む様々なウイルスをベースに確立し、報告した (J Virol 2018, Cell Rep 2021)。そこで、本研究ではこの簡便なリバースジェネティクス法を軸にしたウイルス研究推進プラットフォームの確立を目的とする。

### 3. 研究の方法

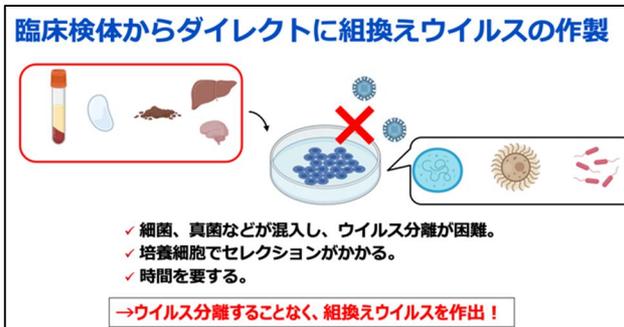
(1) 変異株の性状解析：次々に出現する変異株の性状解析は感染症対策の上で急務であったことから、臨床分離株の分離を待つことなく、遺伝子情報から CPEP 法を駆使して組換えウイルスの作製を行った。デルタ株の解析においては、Spike に P681R 変異を導入して、その単変異に夜影響を解析した。BA.2 株においては従来株を Backbone にしてスパイクだけを BA.2 株に置換したキメラウイルスの作製を行った。BA.5 株の解析では全長 BA.5 株の作製を行った。また、XBB.1.5 株の解析においては、ORF8 タンパク質の発現がなくなる変異を導入した。以上の組換えウイルスを用いて、in vitro および in vivo での性状を解析した。

(2) 抗ウイルス薬に対する耐性化獲得機構の解明：COVID-19 の特に中等症、重症患者に対し、レムデシビルが広く使用されてきた。レムデシビルの耐性変異を同定するために、レムデシビル存在下でウイルスを持続感染させ、変異を誘導し、複数の変異が得られた。CPEP 法で変異を持つ組換えウイルスを作製し、レムデシビルへの耐性度を評価した。さらに、その変異によって NSP12 タンパク質の構造がどのように変化するかを計算科学によりシミュレーションした。

(3) 移植後患者におけるワクチンの有用性の解明：免疫抑制剤を内服する肝臓移植および腎臓移植患者におけるワクチンの有効性を明らかにするために、2 回目から 4 回目のワクチンを接種した患者の血清を使用し、血清中の抗 S-IgG 抗体の抗体量を ELISA で測定した。また、様々なスパイクを持ち、レポーターとして GFP を搭載した組換えウイルスを CPEP 法にて作製し、各血清による中和能を検討した。その際、迅速な中和能の評価法として、GFP の発光強度がウイルスの増殖性と相関するかを検討した。

(4) 唾液検体からの直接的なウイルスゲノムの増幅による直接的リバースジェネティクス法の開発：CPEP 法を用いた高速リバースジェネティクス系は非常に有用であることは明らかだが、一方で PCR での増幅を行うための Template になるプラスミドの作製には一定の時間を要する。

そこで、臨床検体から直接 PCR を行い、それを基に CPEP 反応を行い、組換えウイルスが作製可能かを検討した。PCR 検査での Ct 値が高い唾液検体では全長のウイルスゲノムの増幅を行い、組換えウイルスの作製を試みた。また、Ct 値が低い検体では、スパイク部分だけのウイルスゲノムの増幅を行い、スパイクだけを組換えキメラウイルスの作製を行なった。作製した組換えウイルスを用いることで抗ウイルス薬や中和能の評価を行うことができるかを検証した。



(5) GFP 搭載組換えウイルスを用いた効率的な中和能評価系の構築：変異株が次々に出現し、ワ

クチンや抗体医薬の効果が大きく変化することから、素早い中和能の評価系が必要であり、それを用いることで、より素早い対応が可能になる。CPER 法を駆使して、GFP を搭載し、スパイクを新しい変異株由来に組替えたレポーターキメラウイルスを作製した。レポーターキメラウイルスの増殖性の評価として、GFP の蛍光強度を用いた場合、既存のリアルタイム PCR を用いた場合と同等であるのかを検討した。

(6) 病原性を評価可能な SARS-CoV-2 のマウスモデルの開発: 従来株はマウスに感染しないことは広く知られており、マウスの肺組織でウイルスを継代感染することで、Balb/c 系統のマウスで病原性を示す MA-10 が他グループから報告された。しかし、B6 系統など他の系統のマウスへの感染性が弱く病原性が低いことが問題であった。CPER で作製した MA-10 を B6 の肺で継代感染を 20 回繰り返し、MA-30 としてそのウイルスの性状解析および B6 系統のマウスにおける病原性を評価した。また、MA-30 に導入されていた変異の意義を明らかにするために、MA-30 から変異を 1 つずつなくした組替えウイルスを作製することで、B6 系統のマウスでの病原性に寄与している変異を同定した。

(7) Akaluc を搭載した組替え SARS-CoV-2 を用いた in vivo imaging 系の構築: in vivo imaging を行う際には波長の長い生物発光タンパク質を用いることが重要である。Akaluc は最近開発された長波長の生物発光タンパク質であるが、1650 塩基程度と比較的大きいゲノムサイズがある。CPER 法を駆使して、Akaluc を搭載した組替え SARS-CoV-2 の作製を試みた。作製された Akaluc 搭載組替え SARS-CoV-2 の性状解析を in vitro および in vivo で行った。さらに、波長の短い Nanoluc を搭載したときの in vivo imaging における有用性を比較した。また、マウスへの馴化ウイルスである MA-10 に Akaluc を搭載した組替えウイルスを作製し、imaging を行うとともに、ワクチンの有効性の評価に使用可能かを検証した。

#### 4. 研究成果

(1) 変異株の性状解析: デルタ株で初めて出現したスパイクの P681R 変異はスパイクの Fusion 活性を上昇させることを介して、肺での高い増殖性および強い炎症を引き起こしていることが示唆された (Nature 2021)。また、BA.2 の解析においては、スパイクを BA.1 から BA.2 に置き換えることによって、感染ハムスターの体重が減少したことから、BA.2 のスパイクは BA.1 のスパイクよりも病原性が高いことが示唆された (Cell 2022)。BA.5 の解析では、全長組換えウイルスを作製して、BA.2 との病原性の比較を行い、BA.2 よりも BA.5 の方がやや病原性が高くなる方向に進化していることが示唆された (Cell 2022)。XBB.1.5 の解析では、XBB.1 と比較して、XBB.1.5 は病原性が低下する方向で進化していたが、その弱毒化に XBB.1.5 で新たに出現した ORF8 が欠損する変異が関わっていることを明らかにした (Nat Commun 2024)。以上の解析からも CPER 法は迅速な変異株の性状解析に大きく貢献できることがわかった。

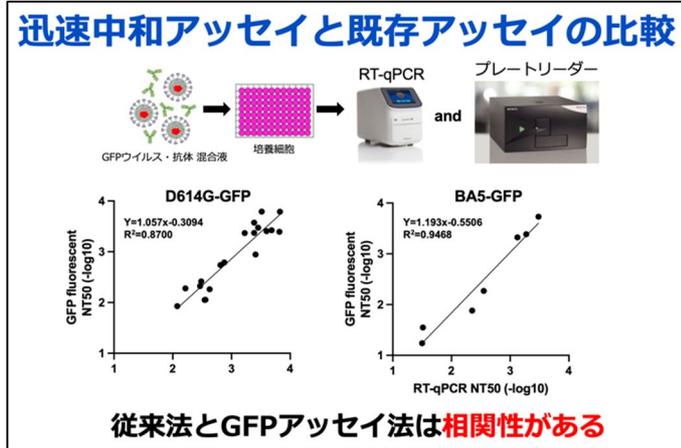
(2) 抗ウイルス薬に対する耐性化獲得機構の解明: 0.01 $\mu$ M のレムデシビル存在下で SARS-CoV-2 を感染させ、ウイルスが得られたら新たなレムデシビルの濃度を設定し、徐々に濃度を上昇させて、最終的には 4 $\mu$ M の濃度でも増殖可能な耐性 SARS-CoV-2 が得られた。遺伝子解析をすると 10 ヶ所の変異が認められ、中でもポリメラーゼである NSP12 に 2 ヶ所の変異が認められ、耐性変異である可能性が考えられた。臨床においてレムデシビルを投与されて耐性であった時に認められた変異とともに、CPER 法でそれらの変異をそれぞれ単一に持つ変異ウイルスを作製した。E796G、C799F、E802D を持つ変異ウイルスは野生型よりもレムデシビルに有意に耐性であった。また、それらの変異が NSP12 の構造にどのような影響を与えるかを解析したところ、RNA が複製する RNA 結合領域周辺の柔軟性が増すということが共通して認められることが明らかになった (PLoS Pathog 2023)。

(3) 移植後患者におけるワクチンの有用性の解明: まず、レポーターとして搭載した GFP の発光強度がウイルスの増殖性と相関することを明らかにし、中和能の試験として、レポーターである GFP を評価することで迅速系として使用可能であることを明らかにした (J Virol Method 2024)。肝臓移植患者において、2 回のワクチン接種による抗体の誘導は健常者よりも有意に不良であり、特に免疫抑制剤を多く服用している患者でワクチンの効果は不良であった。同時に、GFP 搭載組換えウイルスを用いた迅速試験を行うことで、肝臓移植患者においては、2 回のワクチン接種では中和能は健常者よりも有意に低いが、多くの患者で 3 回のワクチン接種で一定以上の効果が得られることが明らかになった。次に、腎臓移植患者における検討を行った。肝臓移植患者と異なり、3 回のワクチン接種を行っても 1/3 の患者で全く抗体が誘導されていないことが明らかになった。これは腎臓移植患者では免疫抑制剤の量が肝臓移植患者よりも多いことが要因と考えられた。加えて、ワクチンによる SARS-CoV-2 特異的な CD8T 細胞の誘導が明らかに不良であることも明らかにし、腎臓移植患者では T 細胞性免疫の誘導効率も低いことを報告した (BioRxiv 2023)。

(4) 唾液検体からの直接的なウイルスゲノムの増幅による直接的リバーシジェネティクス法の開発: まず、BA.5 株が陽性の唾液検体由来の cDNA から CPER 用のゲノムを増幅し、組替えウイルスの作製を試みたが、Ct 値が高い検体でのみウイルスの作製が可能であった。続いて、スパイクだけを臨床検体由来の配列に組替えたキメラウイルスの作製を試みた。スパイクの部分だけを PCR で増幅すれば良いこともあり、Ct 値が低い臨床検体からも組替えウイルスの作製できた。同時にレポーターとして GFP を搭載し、効率的な中和試験に適応可能かを検討した。ワクチンを接種した健常者の血清や抗体医薬による中和試験を問題なく行うことができることが確認

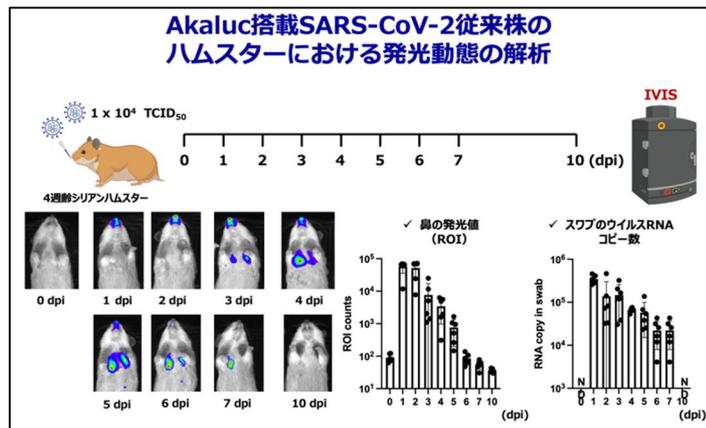
された。以上のことから、臨床検体が得られた場合には、素早くかつ容易にキメラ組換えウイルスを作製可能であり、これを用いることで抗ウイルス薬やワクチンの有効性を評価可能であることが明らかになった。

(5) GFP 搭載組換えウイルスを用いた効率的な中和能評価系の構築：30例以上のワクチンを接種した健常者の血清を用いて SARS-CoV-2 の中和能の評価を行う際に、リアルタイム PCR を用いた従来の方法、レポーターである蛍光の発現を目視で評価する方法、プレートリーダーで蛍光強度を数値化する方法の 3 種類を比較検討した。リアルタイム PCR 法は目視法と完全に相関し、同様にプレートリーダー法とも完全に相関した。以上のことから、GFP などの蛍光の発光を評価することで中和能を迅速に評価することが明らかになった。また、スパイクを従来株からデルタ、BA.1、BA.5、XBB.1.5、BA.2.86 に組替えたレポーターキメラウイルスを作製し、これらを用いて問題なく中和試験を実施できることも確認した (J Virol Method 2024)。



(6) 病原性を評価可能な SARS-CoV-2 のマウスモデルの開発：CPER 法を駆使して、MA-10 を作製し、B6 系統のマウスの肺組織で感染継代を行なったところ、徐々に力価が上昇した。20 回の継代を行なったウイルスを MA-30 と命名し、配列解析を行なったところ、MA-10 に比べて新たに 5 ヶ所の変異が認められた。 $5 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub> の MA-30 を感染した B6 系統のマウス (8 週齢) では 20% 程度の体重減少を認め、感染後 3 日の肺組織では気管支上皮と肺胞細胞でウイルス抗原が検出され、炎症反応も確認された。興味深いことに、12 週齢、16 週齢と高齢になるに従って、病原性が大きく上昇することも明らかになった。最後に、現れた 5 つの変異のうちどの変異が B6 における病原性に重要かを明らかにするために、MA-30 から 1 つずつ変異をなくした組換えウイルスを作製したところ、3 つの変異が責任変異として同定された。MA-10 にそれらの 3 つの変異を同時に導入したところ、B6 系統マウスにおいて MA-30 と同等の病原性を示した。

(7) Akaluc を搭載した組換え SARS-CoV-2 を用いた in vivo imaging 系の構築：CPER 法を用いて Akaluc 搭載ウイルスの作製を試みたが、その中で、Akaluc 遺伝子の GC 含量を SARS-CoV-2 と同様に 30% 程度まで下げることによって、感染性の Akaluc 搭載ウイルスを得ることができた。In vitro での増殖性は野生型とほぼ同等であり、Northern Blotting で正しいゲノムサイズを持つことも確認した。In vitro での複数回の継代を行なっても Akaluc 遺伝子は安定して維持されることが確認された。一方、in vivo での病原性を評価したところ、野生型と比較すると病原性が若干低下していることが明らかになった。感染後、1 日目から 3 日目では鼻腔をメインにウイルス抗原が検出され、感染後 3 日目から 6 日目にかけて肺組織でウイルス抗原が検出され、in vivo imaging が問題なくできることが明らかになった。MA-10 に Akaluc を搭載することによって、Balb/c での Imaging ができなくなったことから、ワクチンを接種することでウイルスの検出ができなくなったことから、ワクチンや抗ウイルス薬の効果の検討も可能であることがわかった (iScience 2024)。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計24件（うち査読付論文 24件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Suzuki R, 他多数, Sawa H, Ikeda T, Irie T, Matsuno K, Tanaka S, Fukuhara T (Corresponding author), Sato K.	4. 巻 603(7902)
2. 論文標題 Attenuated fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Omicron variant.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 700-705
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-022-04462-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Yamasoba D, 他多数, Sawa H, Saito A, Irie T, Tanaka S, Matsuno K, Fukuhara T (Corresponding author), Ikeda T, Sato K.	4. 巻 185(12)
2. 論文標題 Virological Characteristics of SARS-CoV-2 BA.2 variant.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 2103-2115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2022.04.035.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tsuji G, Nakajima S, Watashi K, Torii S, Suzuki R, Fukuhara T, Ohaka N, Inoue T, Demizu Y.	4. 巻 149(3)
2. 論文標題 Antiviral activity of ciclesonide acetal derivatives blocking SARS-CoV-2 RNA replication.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Pharmacol Sci	6. 最初と最後の頁 81-84
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2022.04.001.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tamura T, Torii S, Kajiwara K, Anzai I, Fujioka Y, Noda K, Tagawa S, Morioka Y, Suzuki R, Fauzyah Y, Ono C, Ohba Y, Okada M, Fukuhara T (Corresponding Author), Matsuura Y.	4. 巻 18(6)
2. 論文標題 Secretory glycoprotein NS1 plays a crucial role in the particle formation of flaviviruses.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS Pathog	6. 最初と最後の頁 e1010593
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1010593.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kosai-Fujimoto Y, Itoh S, Yugawa K, Fukuhara T, Okuzaki D, Toshima T, Harada N, Oda Y, Yoshizumi T, Mori M.	4. 巻 17(2)
2. 論文標題 Impact of JMJD6 on intrahepatic cholangiocarcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mol Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/mco.2022.2564.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murakami K, Iwasaki S, Oguri S, Tanaka K, Suzuki R, Hayasaka K, Fujisawa S, Watanabe C, Konno S, Yokota I, Fukuhara T, Murakami M, Teshima T.	4. 巻 2(4)
2. 論文標題 SARS-CoV-2 Omicron detection by antigen tests using saliva.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Clin Virol Plus	6. 最初と最後の頁 100109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcvp.2022.100109.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kimura I, 他多数, Hashiguchi T, Ikeda T, Saito A, Fukuhara T (Corresponding Author), Tanaka S, Matsuno K, Sato K.	4. 巻 185(21)
2. 論文標題 Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2 subvariants, including BA.4 and BA.5.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 3992-4007
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2022.09.018.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Suzuki R, Ono Y, Noshita K, Kim KS, Ito H, Morioka Y, Tamura T, Okuzaki D, Tagawa T, Takenaka T, Yoshizumi T, Shimamura T, Iwami S, Fukuhara T.	4. 巻 67(1)
2. 論文標題 Smoking Enhances the Expression of Angiotensin-Converting Enzyme 2 Involved in the Efficiency of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiol Immunol	6. 最初と最後の頁 22-31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1348-0421.13034.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito A, 他多数, Shirakawa K, Sawa H, Irie T, Hashiguchi T, Takayama K, Matsuno K, Tanaka S, Ikeda T, Fukuhara T (Corresponding Author), Sato K.	4. 巻 3128(22)
2. 論文標題 Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2.75 variant.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Host Microbe	6. 最初と最後の頁 1540-1555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chom.2022.10.003.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Saito Akatsuki, Irie Takashi, Suzuki Rigel, Maemura Tadashi, Nasser Hesham, Uriu Keiya, Kosugi Yusuke, 共著者30人略, Yuan Yue, Tanaka Shinya, Nakagawa So, Ikeda Terumasa, Fukuhara Takasuke, Kawaoka Yoshihiro, Sato Kei	4. 巻 602
2. 論文標題 Enhanced fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Delta P681R mutation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 300 ~ 306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-021-04266-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Rigel, Yamasoba Daichi, Kimura Izumi, Wang Lei, Kishimoto Mai, Ito Jumpei, 共著者30人略, Ikeda Terumasa, Irie Takashi, Matsuno Keita, Tanaka Shinya, Fukuhara Takasuke, Sato Kei, The Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium	4. 巻 603
2. 論文標題 Attenuated fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Omicron variant	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 700 ~ 705
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-022-04462-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Motozono Chihiro, Toyoda Mako, 共著者10人略, Torii Shiho, Yonekawa Akiko, Shimono Nobuyuki, Nagasaki Yoji, Minami Rumi, Toya Takashi, Sekiya Noritaka, Fukuhara Takasuke, Matsuura Yoshiharu, Schreiber Gideon, Ikeda Terumasa, Nakagawa So, Ueno Takamasa, Sato Kei	4. 巻 29
2. 論文標題 SARS-CoV-2 spike L452R variant evades cellular immunity and increases infectivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Host & Microbe	6. 最初と最後の頁 1124 ~ 1136.e11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chom.2021.06.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Torii Shiho, Kim Kwang Su, Koseki Jun, Suzuki Rigel, Iwanami Shoya, Fujita Yasuhisa, Jeong Yong Dam, Ito Jumpei, Asakura Hiroyuki, Nagashima Mami, Sadamasu Kenji, Yoshimura Kazuhisa, Sato Kei, Matsuura Yoshiharu, Shimamura Teppei, Iwami Shingo, Fukuhara Takasuke, The Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium	4. 巻 19
2. 論文標題 Increased flexibility of the SARS-CoV-2 RNA-binding site causes resistance to remdesivir	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1011231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1011231	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ito Jumpei, 他多数, Fukuhara Takasuke, Ikeda Terumasa, Sato Kei	4. 巻 14
2. 論文標題 Convergent evolution of SARS-CoV-2 Omicron subvariants leading to the emergence of BQ.1.1 variant	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2671
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-023-38188-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tamura Tomokazu, 他多数, Fukuhara Takasuke, Saito Akatsuki, Tanaka Shinya, Matsuno Keita, Takayama Kazuo, Sato Kei	4. 巻 14
2. 論文標題 Virological characteristics of the SARS-CoV-2 XBB variant derived from recombination of two Omicron subvariants	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2800
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-023-38435-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tomiyama Takahiro, Suzuki Rigel, Harada Noboru, Tamura Tomokazu, Toshida Katsuya, Kosai-Fujimoto Yukiko-, Tomino Takahiro, Yoshiya Shohei, Nagao Yoshihiro, Takeishi Kazuki, Itoh Shinji, Kobayashi Nobuhiro, Ito Hayato, Yoshio Sachiyo, Kanto Tatsuya, Yoshizumi Tomoharu, Fukuhara Takasuke	4. 巻 13
2. 論文標題 A third dose of the BNT162b2 mRNA vaccine sufficiently improves the neutralizing activity against SARS-CoV-2 variants in liver transplant recipients	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	6. 最初と最後の頁 1197349
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcimb.2023.1197349	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tamura Tomokazu、他多数、Sato Kei、Fukuhara Takasuke	4. 巻 6
2. 論文標題 Comparative pathogenicity of SARS-CoV-2 Omicron subvariants including BA.1, BA.2, and BA.5	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 772
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-023-05081-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ichikawa Takaya, Tamura Tomokazu, Takahata Mutsumi, Ishio Takashi, Ibata Makoto, Kasahara Ikumi, Minauchi Koichiro, Yamamoto Satoshi, Teshima Takanori, Fukuhara Takasuke	4. 巻 204
2. 論文標題 Prolonged shedding of viable <scp>SARS CoV</scp> 2 in immunocompromised patients with haematological malignancies: A prospective study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 British Journal of Haematology	6. 最初と最後の頁 815 ~ 820
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bjh.19143	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kimura Izumi、他多数、Fukuhara Takasuke、Saito Akatsuki、Ikeda Terumasa、Sato Kei	4. 巻 97
2. 論文標題 Multiple mutations of SARS-CoV-2 Omicron BA.2 variant orchestrate its virological characteristics	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e0101123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/jvi.01011-23	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tamura Tomokazu、他多数、Fukuhara Takasuke、Sato Kei	4. 巻 32
2. 論文標題 Virological characteristics of the SARS-CoV-2 BA.2.86 variant	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cell Host & Microbe	6. 最初と最後の頁 170 ~ 180.e12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chom.2024.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tamura Tomokazu、他多数、Takayama Kazuo、Fukuhara Takasuke	4. 巻 15
2. 論文標題 Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron XBB.1.5 variant	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-024-45274-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tamura Tomokazu、Yamamoto Hiroataka、Ogino Saho、Morioka Yuhei、Tsuji no Shuhei、Suzuki Rigel、Hiono Takahiro、Suzuki Saori、Isoda Norikazu、Sakoda Yoshihiro、Fukuhara Takasuke	4. 巻 98
2. 論文標題 A rapid and versatile reverse genetics approach for generating recombinant positive-strand RNA viruses that use IRES-mediated translation	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e0163823
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/jvi.01638-23	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Rigel、Kamiyama Akifumi、Ito Hayato、Kawashiro Keita、Tomiya Takahiro、Tamura Tomokazu、Suzuki Saori、Yoshizumi Tomoharu、Hotta Kiyohiko、Fukuhara Takasuke	4. 巻 326
2. 論文標題 The development of a rapid, high-throughput neutralization assay using a SARS-CoV-2 reporter	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Virological Methods	6. 最初と最後の頁 114894 ~ 114894
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jviromet.2024.114894	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tamura Tomokazu、Ito Hayato、Torii Shiho、Wang Lei、Suzuki Rigel、Tsuji no Shuhei、Kamiyama Akifumi、Oda Yoshitaka、Tsuda Masumi、Morioka Yuhei、Suzuki Saori、Shirakawa Kotaro、Sato Kei、Yoshimatsu Kumiko、Matsuura Yoshiharu、Iwano Satoshi、Tanaka Shinya、Fukuhara Takasuke	4. 巻 27
2. 論文標題 Akaluc bioluminescence offers superior sensitivity to track in?vivo dynamics of SARS-CoV-2 infection	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 109647 ~ 109647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2024.109647	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 田村友和
2. 発表標題 高速リバーシジェネティクスのIRES依存 +ssRNAウイルスへの応用
3. 学会等名 日本ウイルス学会北海道支部会第55回夏季シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田村 友和、山本 紘嵩、荻野 紗帆、日尾野 隆大、鈴木 理滋、鈴木 紗織、磯田 典和、迫田 義博、福原 崇介
2. 発表標題 IRES依存+ssRNAウイルスへのリバーシジェネティクス法の高速度化
3. 学会等名 第28回トガ・フラビ・ベスチウイルス研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木理滋
2. 発表標題 数理モデルと分子動力学シミュレーションを用いたレムデシビル耐性SARS-CoV-2変異体の解析
3. 学会等名 第69回 日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomokazu Tamura, Shiho Torii, Kentaro Kajiwara, Itsuki Anzai, Yoichiro Fujioka, Kisho Noda, Shuhei Tagawa, Yuhei Morioka, Rigel Suzuki, Yuzy Fauzyah, Chikako Ono, Yusuke Ohba, Masato Okada, Takasuke Fukuhara, Yoshiharu Matsuura
2. 発表標題 Role of secretory glycoprotein NS1 in the particle formation of flaviviruses
3. 学会等名 第69回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福原崇介
2. 発表標題 CPER法による高速リバースジェネティクスを駆使したSARS-CoV-2の応用研究
3. 学会等名 北海道病理談話会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福原崇介
2. 発表標題 Establishment of a simple high-speed reverse genetics system for SARS-CoV-2 and application research using recombinant viruses.
3. 学会等名 IWHM6（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福原崇介
2. 発表標題 高速リバースジェネティクスを用いたSARS-CoV-2の応用研究
3. 学会等名 第28回トガ・フラビ・ベスチウイルス研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福原崇介
2. 発表標題 革新的リバースジェネティクスを用いた新型コロナウイルス研究
3. 学会等名 日本遺伝学会 第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福原崇介
2. 発表標題 肝及び腎移植患者の免疫抑制下におけるSARS-CoV-2変異株に対するワクチン効果の検討
3. 学会等名 日本ウイルス療法学会 学術集会・総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福原崇介
2. 発表標題 新型コロナウイルスの進化とその宿主応答、ワクチン開発：今後のCOVID-19の課題
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福原崇介
2. 発表標題 新型コロナウイルスに関する基礎研究と臨床応用
3. 学会等名 日本気管食道科学会総会ならびに学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福原崇介
2. 発表標題 様々な研究に有用な組替えウイルスの開発
3. 学会等名 令和5年度ワークショップ「異分野融合研究による各種課題解決に向けて」
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	小野 慎子  (Ono Chikako)  (30626437)	大阪大学・感染症総合教育研究拠点・特任准教授(常勤)   (14401)	
研究 分担者	津田 祥美  (Tsuda Yoshimi)  (70447051)	長崎大学・高度感染症研究センター・准教授   (17301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------