

機関番号：82603

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659407

研究課題名(和文)次世代シーケンサーによるC型肝炎ウイルスゲノム多様性解析法の確立

研究課題名(英文)Analysis of hepatitis C virus sequence quasi species by NGS

研究代表者

脇田 隆字 (Wakita, Takaji)

国立感染症研究所・ウイルス第二部・部長

研究者番号：40280789

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 0円

研究成果の概要(和文)：C型肝炎ウイルス(HCV)は我が国に多くのキャリアが存在する重要な感染症の原因ウイルスである。HCVのゲノムは多様性に富む(quasispecies)ことが知られている。quasispeciesはこれまでのシーケンシング技術では十分に解析ができなかったが、次世代シーケンサーを用いてウイルスゲノム解析法を確立した。その結果、HCV患者の血清から、2種類の独立したウイルスゲノムRNA配列を特定した。C型慢性肝炎患者のインターフェロン/リバビリン併用療法の感受性を決定する因子は複数報告されているが、コア70番の配列により独立した2群のウイルスゲノムが存在し、それぞれ個別に進化していることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Hepatitis C Virus (HCV) genome accumulates nucleotide substitutions because of low viral RNA polymerase fidelity and high viral replication ratio. This quasispecies nature has been considered to contribute for its pathogenesis or viral escape. We constructed a method to determine the full-length viral genome RNA species from patient serum combined next-generation sequencing and capillary sequencing. We found independent dominant species co-existed in one patient serum. Polymorphisms related to the favorable response of interferon sensitivity were gathered into one species. Sequential species were formed same clusters. We thus considered that both species might have been mixture and survived the bottleneck events when the patient was infected, and then evolved individually in the patient. In conclusion, our study demonstrated that considering each full-length species in patient serum is important for understanding HCV life cycle.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：肝炎ウイルス 次世代シーケンス quasispecies

1. 研究開始当初の背景

C型肝炎ウイルス(HCV)は我が国に多くのキャリアが存在する重要な感染症の原因ウイルスである。HCVはRNAウイルスでありそのゲノムは多様性に富む(quasispecies)ことが知られている。このquasispeciesのHCV感染症における意義は十分に解明されていないが、持続感染あるいは病原性に関わっていることが想定されている。ウイルスゲノムのquasispeciesに関してはこれまでのシーケンシング技術では十分に解析ができなかった。そこで、飛躍的に遺伝子解析能力が向上した次世代シーケンサーを用いてウイルスゲノムのquasispecies解析法を確立する必要があった。

HCVなどのRNAウイルスはゲノムがRNAであり、感染細胞内でウイルスゲノムの複製に自らコードするRNAポリメラーゼを用いる。しかし、このRNAポリメラーゼはfidelityが低いので、ウイルスゲノムに変異を起こしやすい。従って、RNAウイルスゲノムは、真核細胞のゲノムの変異速度と比較するとはるかに早い速度で変異していく。ウイルスゲノムは中立的に進化するが、環境に適応できない変異は淘汰される。このため感染細胞内あるいは個体内の個々のウイルスゲノムにはquasispeciesを保っていると考えられる。しかし、現在主として利用できるPCRおよびクローニング技術と、サンガー法シーケンサーではRNAウイルスゲノムの配列は多様性を持つゲノムのコンセンサス配列を見ることができず、ウイルスゲノムの多様性の解析法は限られてきた。一方で、ウイルス感染において、異なる宿主への感染、抗ウイルス薬投与、感染中和抗体の誘導などにより、変異ウイルスが誘導される。特定の薬剤に対する薬剤耐性変異が出現し、薬剤耐性ウイルスとして同定されている。薬剤耐性以外にも、ウイルス感染後の宿主の免疫反応などに対しても逃避ウイルスが出現する。これらのウイルス変異はこれまでの解析ではウイルスゲノムのコンセンサス配列の変化と理解されてきているが、ウイルスゲノムのquasispeciesの中にこれらの薬剤耐性変異や逃避ウイルスがどのように蓄積されているかは不明である。

2. 研究の目的

最近の次世代シーケンシング技術の開発により、ウイルスゲノムのquasispeciesに対する理解が大きく変化する可能性がある。ゲノムプロジェクトの発展に伴い、革新的な新規シーケンシング技術による次世代シーケンサーが開発されてきている。次世代シーケンサーでは圧倒的なリード数によるディープシーケンシングが可能となる。これまでの技術では、ウイルスゲノム上に変異が混在している場合は少なくとも数割程度変異が存在しないと検出できなかった。しかし次世代シーケンサーによりウイルスゲノムの部

位ごとに少数存在する準種を同定することが可能となる。現在我々がquasispeciesと称しているウイルスゲノムの多様性は、果たしてランダムな変異を有する準種の混合体なのかあるいは特定の変異を有する種が存在するのか(図)。予備的な実験ではPCRクローニングによるウイルスゲノム上の変異の割合と、次世代シーケンサーによる解析は必ずしも一致しない。本研究の目的は次世代シーケンサーを用いた肝炎ウイルスのquasispecies解析法の確立と、その応用である。ウイルス準種の存在様式を同定しその機能解析を行うことにより、quasispeciesの存在意義を解明する。

3. 研究の方法

サンガー法による患者血清中のウイルスゲノムの塩基配列解析

慢性C型肝炎患者4名の血清からウイルスゲノムRNAを抽出して解析した。従来のサンガー法およびキャピラリーシーケンシングによりウイルスゲノムのコンセンサス配列を決定した。RT-PCR産物をダイレクトシーケンシングするが、必要に応じてPCR産物のクローニングを実施した。

- ・慢性C型肝炎患者の血清からRNAを抽出
- ・RT-PCR法によるウイルスゲノムの増幅
- ・サンガー法およびキャピラリー法による塩基配列の解析

- ・ウイルスゲノムのコンセンサス配列を決定
イルミナゲノムアナライザー(GAIIx)によるウイルスゲノムの塩基配列解析

次世代シーケンサーの中でGAIIxはリード長は短い(50-75nt)、リード数が多い特徴がある。このため新規配列のde novoアセンブリは苦手だが、参照配列があれば多くのリードをマッピングすることによるdeep sequencingが可能である。主として患者血清中のウイルスゲノム配列を解析するため、ウイルスのコピー数やサンプル量によって遺伝子増幅が必要となるが、アダプター付加によるPCRによる非特異的増幅により、なるべくサンプル中の遺伝子populationを変化させないようにした。

- ・患者血清からRNAを抽出
- ・ランダムプライマーによる逆転写反応でcDNAを作製、さらに二本鎖DNAを作成
- ・超音波処理によりDNAを約200bpに断片化
- ・断片化したDNAの末端にアダプターを添加して非特異的にPCR増幅
- ・ゲノムアナライザーで解析

ロッッシュ454によるウイルスゲノムの塩基配列解析

イルミナのGAIIxに比べリード数は少ないが、リード長が長い(300-500nt)という特徴がある。このためde novoアセンブリが特異で、マイナーな配列を持つウイルスゲノムの同定に適している。

- ・患者血清からRNAを抽出
- ・500bp以上の領域を含む特異的プライマー

を設定し、全ゲノム領域を RT-PCR で増幅

次世代シーケンサーのデータ処理

次世代シーケンサーから得られるデータは従来法とはかなり異なるため、下記のようなデータ処理のステップが必要であった。

・全シーケンスリードからヒトゲノム配列を取り除く

・ヒトゲノム配列を取り除いたシーケンスリードの末端配列の品質をチェックして有効な配列のみを残す

・ヒトの ambiguous 配列を BLASTN サーチにより検出して取り除く

・細菌のゲノム配列を BLASTN サーチにより検出して取り除く

・以上の filtration 作業をおこない、残ったシーケンスリードをもとに de novo アッセブリをおこなう

・作製したコンティグからコンセンサス配列を作製し、HCV ゲノム配列にマッピングするシーケンスデータ解析

各社の次世代シーケンサーには特徴があり、HCV のウイルスゲノム解析に最適な機種および解析法は確立されていない。サンガー法、GAIIx、454 から得られるデータを比較解析する。さらに HCV の quasispecies の同定をおこなう。

・サンガー法によるダイレクトシーケンス、イルミナ・ゲノムアナライザー、ロッシュ・454 のデータを総合的に解析する

・一塩基多型 (SNP) 検出プログラムにより、ウイルスゲノム上の SNP を同定する。イルミナ・ゲノムアナライザーのデータが最も適している。検出した SNP をサンガー法およびロッシュ 454 のデータと比較して確認する

・SNP のウイルスゲノム上でのつながりをイルミナ・ゲノムアナライザーおよびロッシュ 454 の個別リード上で確認する。イルミナは 75 塩基長しかないのに比べて、ロッシュでは 500 塩基長まで解読可能

・共通の SNP を有するウイルスゲノムの population を割り出す

4. 研究成果

HCV ゲノムのコア 70 番のアミノ酸配列がアルギニン (R) とグルタミン (Q) が混合型である HCV キャリア 4 名の血清を解析対象とした。コアから E1 領域のウイルスゲノムを RT-PCR 法により増幅して、PCR 産物をクローニングして塩基配列を決定した。4 名の患者全員からコア 70 番が R および Q のクローンが得られた。増幅した領域内にはコア 70 番だけでなく複数の変異が認められ、さらに 2-3 種類のクローン群に分類できた。興味深いことに、これらのクローン群はコア 70 番の変異と相関していることが明らかとなった。つまり、コア 70 番の配列に依存してウイルスゲノム配列が分類できた。また、7 年間の間隔で 2 つの血清を解析した症例ではコア 70 番が R および Q のクローンの比率が大きく変化した。それぞれのクローンは別々に

進化していた。

そこで、C 型肝炎ウイルスのウイルスゲノムの多様性とコア 70 番配列の関係を解析するために、全長ウイルスゲノム配列を次世代シーケンスで解析した。まず、イルミナによってウイルスゲノム全長のコンセンサス配列を決定し、さらにその多様性を解析した。イルミナによる解析の一つの利点是非特異的増幅による解析が可能なので、特異的 PCR によってウイルスゲノムの多様性が変化する可能性が低いことである。イルミナで得られたリードを 35 塩基長にあわせて、コンセンサス配列にマッピングするとともに、デノボアッセブリによりゲノム配列を解析した。この方法により、ウイルスゲノムの各塩基ポジションの配列の多様性を決定することができた。さらに各塩基ポジションの配列の多様性の関係を繋げるために、454 による解析を実施した。454 では特異的プライマーによる PCR でウイルスゲノムを増幅して解析する必要がある。しかし、500 塩基まで 1 本のリードとして解析が可能である。このため、イルミナ解析で同定したウイルスゲノムの多様性の関係を解析可能となる。そこでまず、イルミナ解析で変異が少ない領域に primer を設計し PCR をおこない、その PCR 産物を 454 で解析した。454 解析により変異の相関を決め、さらに変異部分に特異的な primer を設計して、PCR を実施した。その結果ウイルスゲノム全長における多様性が解析可能となった。興味深いことにウイルスゲノムはコア 70 番の配列によって大きく分類され、コア 70 番がアルギニンの場合、NS5A の IRRDR 配列における変異数が 8 であり、グルタミンの場合は 5 であった。IRRDR 配列は 6 以上の変異数がある場合に IFN とリバビリン治療に感受性が高いとされている。コア 70 番の配列もアルギニンの場合はインターフェロン治療に感受性が高く、グルタミンの場合は低いとされている。従って、同一の患者血清の中に混在しているウイルスゲノムはコア 70 番配列で大きく 2 種類に分類され、コアと NS5A の IRRDR 配列がそれぞれインターフェロン感受性からみて同じ性質の変異が存在していることとなった。

7 年間の経過した血清でそれぞれ解析すると、やはりコア 70 番により分類される全長ウイルスゲノムを同定することができた。そこで、その配列を系統樹解析すると、コア 70 番に依存してそれぞれのウイルスゲノムが独立して進化していることがわかった。しかし、データベース上に登録されているウイルスゲノムと比較すると最も近い配列のゲノムも同じ患者のウイルスゲノムのコア 70 番による分類のなかには入らず、同一の患者のクローンは一つのクラスターを形成した。従って、これらのウイルスはこの患者に感染した後にコア 70 番に変異が入って独立して進化したか、同時に感染したものの、同一の環境で長く複製増殖したためによく似た配列

を有していると考えられた。

この2種類のウイルス種が同時に存在する生物学的意義を検討するために、それぞれの全長遺伝子ゲノムを全合成して、クローニングした。ネオマイシン耐性遺伝子を有するサブジェノミックレプリコンと全長遺伝子のクローンを作成してそれぞれの複製能を検討した。レプリコンはプラスミドDNAからRNAを合成して、Huh7細胞およびHuh7.5.1細胞にトランスフェクションした。G418存在下に3週間培養を継続して観察したが、レプリコンの複製する細胞を得ることはできなかった。コア70番配列がRまたはQに関わらず複製は認められなかった。また、全長遺伝子のRNAも合成してHuh7.5.1細胞にトランスフェクションしてウイルス増殖を観察したが、ウイルスゲノムの複製、ウイルス粒子の産生ともに観察できなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計19件)

1. Date T, Morikawa K, Tanaka Y, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Mizokami M, Wakita T. Replication and infectivity of a novel genotype 1b hepatitis C virus clone. *Microbiol Immunol*. 2012 56(5):308-17. doi: 10.1111/j.1348-0421.2012.00437.x.
2. Weng L, Kohara M, Wakita T, Shimotohno K, Toyoda T. Detergent-induced activation of the hepatitis C virus genotype 1b RNA polymerase. *Gene*. 2012 496(2):79-87. doi: 10.1016/j.gene.2012.01.044.
3. Salim MT, Aoyama H, Sugita K, Watashi K, Wakita T, Hamasaki T, Okamoto M, Urata Y, Hashimoto Y, Baba M. Potent and selective inhibition of hepatitis C virus replication by novel phenanthridinone derivatives. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 415(4):714-9. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.10.153.
4. Sugiyama M, Tanaka Y, Wakita T, Nakanishi M, Mizokami M. Genetic Variation of the IL-28B Promoter Affecting Gene Expression. *PLoS One*. 2011;6(10):e26620. doi: 10.1371/journal.pone.0026620.
5. Arnaud N, Dabo S, Akazawa D, Fukasawa M, Shinkai-Ouchi F, Hugon J, Wakita T, Meurs EF. Hepatitis C virus reveals a novel early control in acute immune response. *PLoS Pathog*. 2011 7(10):e1002289. doi:10.1371/journal.ppat.1002289.
6. Saeed M, Suzuki R, Watanabe N, Masaki T, Tomonaga M, Muhammad A, Kato T, Matsuura Y, Watanabe H, Wakita T, Suzuki T. Role of the endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD) pathway in degradation of hepatitis C virus envelope proteins and production of virus particles. *J Biol Chem*. 2011 286(43):37264-73. doi:10.1074/jbc.M111.259085.
7. Okamoto Y, Masaki T, Murayama A, Munakata T, Nomoto A, Nakamoto S, Yokosuka O, Watanabe H, Wakita T, Kato T. Development of recombinant hepatitis C virus with NS5A from strains of genotypes 1 and 2. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 410(3):404-9. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.05.144.
8. Yamamoto M, Aizaki H, Fukasawa M, Teraoka T, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Structural requirements of virion-associated cholesterol for infectivity, buoyant density and apolipoprotein association of hepatitis C virus. *J Gen Virol*. 2011 92(Pt 9):2082-7. doi: 10.1099/vir.0.032391-0.
9. Akazawa D, Morikawa K, Omi N, Takahashi H, Nakamura N, Mochizuki H, Date T, Ishii K, Suzuki T, Wakita T. Production and characterization of HCV particles from serum-free culture. *Vaccine*. 2011 29(29-30):4821-8. doi:10.1016/j.vaccine.2011.04.069.
10. Saeed M, Shiina M, Date T, Akazawa D, Watanabe N, Murayama A, Suzuki T, Watanabe H, Hiraga N, Imamura M, Chayama K, Choi Y, Krawczynski K, Liang TJ, Wakita T, Kato T. In vivo adaptation of hepatitis C virus in chimpanzees for efficient virus production and evasion of apoptosis. *Hepatology*. 2011 54(2):425-33. doi: 10.1002/hep.24399.
11. Honda M, Takehana K, Sakai A, Tagata Y, Shirasaki T, Nishitani S, Muramatsu T, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Yamashita T, Nakamura M, Shimakami T, Yi M, Lemon SM, Suzuki T, Wakita T, Kaneko S; Hokuriku Liver Study Group. Malnutrition impairs interferon signaling through mTOR and FoxO pathways in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2011 141(1):128-40, 140.e1-2. doi: 10.1053/j.gastro.2011.03.051.
12. Aly HH, Oshiumi H, Shime H, Matsumoto M, Wakita T, Shimotohno K, Seya T. Development of mouse hepatocyte lines permissive for hepatitis C virus (HCV). *PLoS One*. 2011;6(6):e21284. doi: 10.1371/journal.pone.0021284.
13. Saeed M, Gondeau C, Hmwe S, Yokokawa H, Date T, Suzuki T, Kato T, Maurel P, Wakita T. Replication of hepatitis C

- virus genotype 3a in cultured cells. *Gastroenterology*. 2013 144(1):56-58.e7. doi: 10.1053/j.gastro.2012.09.017.
14. Date T, Kato T, Kato J, Takahashi H, Morikawa K, Akazawa D, Murayama A, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Novel cell culture-adapted genotype 2a hepatitis C virus infectious clone. *J Virol*. 2012 86(19):10805-20. doi: 10.1128/JVI.07235-11.
 15. Suzuki R, Saito K, Kato T, Shirakura M, Akazawa D, Ishii K, Aizaki H, Kanegae Y, Matsuura Y, Saito I, Wakita T, Suzuki T. Trans-complemented hepatitis C virus particles as a versatile tool for study of virus assembly and infection. *Virology*. 2012 432(1):29-38. doi: 10.1016/j.virol.2012.05.033.
 16. Ando T, Imamura H, Suzuki R, Aizaki H, Watanabe T, Wakita T, Suzuki T. Visualization and measurement of ATP levels in living cells replicating hepatitis C virus genome RNA. *PLoS Pathog*. 2012;8(3):e1002561. doi:10.1371/journal.ppat.1002561.
 17. Matsumura T, Kato T, Sugiyama N, Tasaka-Fujita M, Murayama A, Masaki T, Wakita T, Imawari M. 25-Hydroxyvitamin D3 suppresses hepatitis C virus production. *Hepatology*. 2012 56(4):1231-9. doi: 10.1002/hep.25763.
 18. Akazawa D, Moriyama M, Yokokawa H, Omi N, Watanabe N, Date T, Morikawa K, Aizaki H, Ishii K, Kato T, Mochizuki H, Nakamura N, Wakita T. Neutralizing antibodies induced by cell culture-derived hepatitis C virus protect against infection in mice. *Gastroenterology*. 2013 145(2):447-55.e1-4. doi:10.1053/j.gastro.2013.05.007.
 19. Nakajima S, Watashi K, Kamisuki S, Tsukuda S, Takemoto K, Matsuda M, Suzuki R, Aizaki H, Sugawara F, Wakita T. Specific inhibition of hepatitis C virus entry into host hepatocytes by fungi-derived sulochrin and its derivatives. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 440(4):515-20. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.09.100.
- [学会発表](計24件)
1. T Wakita. Hepatitis C Virus Infection and Replication, annual meeting of Prof. Juei-Low Sung 's Research Foundation, Taipei, Taiwan (2011, 8. 6)
 2. T Wakita. HCV RNA replication and drug development. The 8th APASL Single Topic Conference Beijing, China (2011, 10. 7)
 3. T Wakita. Hepatitis C virus replication in vitro and persistent infection in vivo: mechanistic analysis and antiviral development, Singapore-Japan Forum on Emerging Concepts in Microbiology, National University of Singapore, Singapore (2011 Nov 15-16)
 4. T Wakita. Hepatitis C virus replication in vitro and persistent infection in vivo: mechanistic analysis and antiviral development, Challenges to overcome Emerging Infectious Diseases in South-eastern Asia, Siran Kaikan, Kyoto University. Kyoto (2012 Jan 13)
 5. T Wakita. Hepatitis C virus replication models and anti-viral development, The 1st International Symposium on Latent TGF-beta Activation Reaction, RIKEN Kobe Inst, Ctr. For Devel Biol, Auditorium, Kobe (2012 Feb 25)
 6. K Goto, T Kimura, K Watashi, R Suzuki, S Yamagoe, T Miyamura, K Moriya, H Yotsuyanagi, K Koike, T Suzuki, T Wakita, H Aizaki, Identification of novel NS5A-associated proteins in the host-cell membrane fraction and their role in HCV life cycle, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
 7. J Law, D Hockman, S Frey, R Khoshy, T Wakita, J Bukh, C Rice, M Houghton, Does a vaccine derived from a single HCV strain elicit broadly cross-neutralising antibodies in humans?, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
 8. M Fukasawa, Y Shirasago, K Saito, Y Murakami, H Fukazawa, T Suzuki, R Suzuki, T Wakita, K Hanada, J Chiba, Isolation of a highly infectious hepatitis C virus with adaptive mutations, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
 9. H Yokokawa, D Akazawa, M Moriyama, N Nakamura, T Kato, K Ishii, T Wakita, Development of purification method for HCV particles using chromatographic technique, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
 10. M Esumi, S Kikuta, H Yamaguchi, S Nakajima, M Ishibashi, T Wakita, Serum

- and trypsin inhibitors inhibit the early step of hepatitis C virus infection, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
11. M Moriyama, D Akazawa, H Yokokawa, K Nishimura, N Nakamura, H Mochizuki, T Kato, K Ishii, T Wakita, Immunological memory response to induce neutralizing immunoglobulin in HCV particles-immunized mice, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
 12. K Watashi, N Uchida, R Suzuki, H Aizaki, T Wakita, Identification of small molecules affecting late steps of hepatitis C virus life cycle, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
 13. N Uchida, K Watashi, R Suzuki, H Aizaki, J Chiba, T Wakita, Halopemide inhibited a post-assembly step in hepatitis C virus life cycle, 18th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Seattle Sheraton Hotel, Seattle, USA (2011, Sep. 8-12)
 14. Y Okamoto, T Masaki, A Murayama, A Nomoto, T Wakita, T Kato, Strain Specific Susceptibility to The Hepatitis C Virus NS5A Inhibitor, XV International Congress of Virology. Sapporo Convention Center, Sapporo, Japan (2011, Sep. 11-16)
 15. H Aizaki, Y Matsumoto, K Goto, K Watashi, R Suzuki, M Fukasawa, K Hanada, S Sato, N Takahashi, Y Matsuura, K Motojima, T Miyamura, T Suzuki, T Wakita, Identification of lipid droplet-associated membrane proteins that are involved in HCV production, XV International Congress of Virology. Sapporo Convention Center, Sapporo, Japan (2011, Sep. 11-16)
 16. Y Matsumoto, K Watashi, R Suzuki, T Matsuura, T Suzuki, T Miyamura, K Wake, T Wakita, H Aizaki, Antiviral activity of glycyrrhizic acid against hepatitis C virus in vitro, XV International Congress of Virology. Sapporo Convention Center, Sapporo, Japan (2011, Sep. 11-16)
 17. K Watashi, N Uchida, R Suzuki, H Aizaki, T Wakita, Identification of small molecules affecting late steps of hepatitis C virus life cycle, XV International Congress of Virology. Sapporo Convention Center, Sapporo, Japan (2011, Sep. 11-16)
 18. T Wakita. Independent Evolution of Multi-dominant Viral Genome Species of Hepatitis C Virus, The 10th JSH Single Topic Conference, "Hepatitis C : Best Practice Based on Science", Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan (2012, 11. 21-22)
 19. T Ando, H Aizaki, M Sugiyama, M Mizokami, M Kuroda, T Wakita, Independent evolution of multi-dominant viral genome species observed in a single HCV carrier, 19th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, (2012, Oct. 5-9)
 20. T Wakita. Molecular Biology and Experimental Models of HCV. 19th Annual KASL Meeting, Sheraton Grande Walkerhill Hotel, Seoul, Korea (2013, 6.13 - 15)
 21. 脇田隆字, 「新型シーケンサで展開するウイルスゲノム研究」, ランチョンセミナー、第34回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜 (2011, 12.14)
 22. 加藤孝宣、政木隆博、脇田隆字、HCV JFH-1 キメラ株を用いたNS5a阻害剤の株特異的抗ウイルス活性の評価、第15回日本肝臓学会大会、福岡国際会議場、(2011, 10.20-21) シンポジウム1「C型肝炎治療の新たな展開」
 23. 武田緑、池田正徳、有海康雄、脇田隆字、加藤宜之、2種類のヒト肝細胞株を用いたHCV感染レポーターアッセイ系の開発、第47回日本肝臓学会総会、ホテルグランパシフィック、(2011, 6.2-3)
 24. 脇田隆字、安東友美、林和彦、杉山真也、石上雅敏、片野義明、後藤秀実、溝上雅史、黒田誠、相崎英樹、患者血清中におけるHCVゲノム多様性の存在形式、第49回日本肝臓学会総会、京王プラザホテル、(2013, 6.6-7) ワークショップ3「ウイルス肝炎の新潮流」
- 〔図書〕(計0件)
- 〔産業財産権〕
出願状況(計0件)
- 取得状況(計0件)
- 〔その他〕
ホームページ等
なし
6. 研究組織
(1)研究代表者
脇田 隆字(WAKITA, Takaji)
国立感染症研究所・ウイルス第二部・部長
研究者番号: 40280789