

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24246089

研究課題名(和文)水環境におけるヒトノロウイルス未知動態の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the fate of human noroviruses in water environments

研究代表者

大村 達夫(Tatsuo, Omura)

東北大学・未来科学技術共同研究センター・教授

研究者番号：30111248

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、水環境中におけるノロウイルスの未知動態を解明することを目的とし、1) ウイルス外殻タンパク質損傷評価法の適用条件、2) 環境由来濃縮サンプルから目的ウイルスゲノムのみを特異的に回収する手法の開発、および3) ノロウイルスによる養殖カキの汚染度に関する調査・研究を行った。その結果、カプシドタンパク質損傷検出手法が水環境中のヒトノロウイルスに適用可能であることが確認され、環境由来濃縮サンプルから損傷を受けていないウイルスゲノムのみを特異的に回収する手法の確立に成功した。さらに養殖カキ中の優占している遺伝子型のみならずマイナーな感染流行株が次世代シーケンスにより検出可能であることが示された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we confirmed that the oxidative stress marker detection of viral capsid protein can be applied to the infectivity evaluation of human noroviruses in water environments when 4-log reduction of infectious titer is expected. Furthermore, a novel methodology to recover intact viral genomic RNA from environmental samples was newly established, in which only the target viral genomic RNA can be specifically recovered. In the investigation of cultivated oysters about norovirus contamination, we applied next generation sequencing technology to identify norovirus genotypes contaminating cultivated oysters, and found that not only predominant genotypes but also minor strains can be detected.

研究分野：土木環境システム

キーワード：ノロウイルス 水環境中動態 酸化損傷検出 養殖カキ 遺伝子型

1. 研究開始当初の背景

人間社会におけるヒトノロウイルスの循環ルートに関しては、河川や海域等の水環境を介していることが示唆される結果が得られているものの、その実態は完全に解明されるには至っていない。これは、想定されるヒトノロウイルスの感染ルートが多岐に渡り、さらに主要な媒体と考えられる食品や水環境中ではヒトノロウイルスが希薄濃度で、かつ固形物への付着状態で存在するために、感度良くヒトノロウイルスを検出することが非常に困難であることが原因であった。また、ヒトノロウイルスは実験室内で組織細胞により培養することが不可能であるため、環境サンプル中からヒトノロウイルス遺伝子を検出することが出来たとしても、得られたヒトノロウイルス粒子が感染能力を有しているか否かを判断することが著しく困難であったことも、人間社会におけるヒトノロウイルスの動態が解明されない大きな要因であった。

以上の背景のもと、本研究の代表者を中心とするグループは、ノロウイルスを含む病原ウイルスを環境サンプル中から高効率で回収・検出する手法の開発に取り組んできた。しかしながら、環境サンプル中に見出されたノロウイルスの感染能力の有無については全く明らかにされていない他、ノロウイルス由来遺伝子の特異的な回収法や解析手法についても未だ開発の余地が残っており、水環境中におけるノロウイルスの動態は解明に至っていなかった。

2. 研究の目的

以上の背景のもと、本研究では水環境中におけるノロウイルスの未知動態を解明することを目的とし、以下に述べる複数の研究課題に取り組んだ。すなわち、(1) 本研究グループが開発したウイルス外殻タンパク質損傷評価法について、その適用条件を明確にすること、(2) 雑多な物質を含む環境由来濃縮サンプルから、損傷を受けていないノロウイルスゲノムのみを特異的に回収する手法を開発すること、および(3) 水環境サンプルの1つとして養殖カキに着目し、ノロウイルスによる汚染度を調査すると同時に次世代シーケンスによるノロウイルス遺伝子型解析を行うこと、の3点である。

3. 研究の方法

研究課題(1)においては、テストウイルスとしてマウスノロウイルスとメンゴウイルスを用い、ウイルス外殻タンパク質損傷評価法を適用することで、環境由来サンプル中のノロウイルスに当該手法を適用する際の限界濃度を確かめることを試みた。具体的には、マウスノロウイルス及びメンゴウイルスを様々な濃度の遊離塩素(0~5ppm)で3分間処理し、ピオチンヒドロジドで処理した後、アビジンゲルによりピオチン化ウイルス

粒子を回収することを試みた。

研究課題(2)においては、テストウイルスとしてエンテロウイルス及びポリオウイルスを用いた。エンテロウイルスのゲノムRNAと特異的に結合するキャプチャプローブと、それに隣接するヘルパープローブ4種を設計し、ハイブリダイゼーションによりRNAとキャプチャプローブの複合体を形成した。もしウイルス遺伝子が紫外線等により損傷を受けていた場合には、この段階で複合体を形成することが困難であることから、本手法は損傷を受けていないウイルスゲノム遺伝子のみを回収対象としていることになる。形成した複合体をストレプトアビジン結合磁気ビーズを用いて回収することにより、エンテロウイルス由来RNAのみを回収することを試みた。さらに、最適なキャプチャプローブ濃度の検討を行うために、ポリオウイルスI型 Sabin 株の培養液から抽出したRNAを回収対象とし、反応溶液中のポリオウイルスRNAとプローブの濃度をそれぞれ変化させてハイブリダイゼーションを行い、定量PCR法によりポリオウイルス由来RNAの回収率を評価した。幅広いポリオウイルスRNA濃度で高い回収率を示すプローブ濃度を求め、最適な濃度とした。続いて、最適化した手法を用いて、未処理下水試料にマウスノロウイルス S7-PP3 株を添加した試料からエンテロウイルス由来RNAの回収を行った。非対象ウイルスとしてアイチウイルス、トウガラシ微斑ウイルス、及びマウスノロウイルスを選択し、計4種のウイルスに関する回収率を評価した。

研究課題(3)においては、まず眼科用剪刀を用いて養殖カキから中腸腺を摘出した。中腸腺に3.2 mm ステンレスビーズを2個と酵素溶液(アミラーゼ、リパーゼ及びプロテナーゼ含有)を1 mL 加え、4,200 rpm、1分間の細胞破碎を行った後、37 °C で1時間及び60 °C で15分間の湯煎を行った。最後に9,100 x g、12分間の遠心分離を行い、上清を全量回収した。次にウイルス抽出液 500 µL と pH 2.5 クエン酸バッファー(400 mM) 500 µL を添加した上で遠心分離(9,100 xg、12分)を行い、その上清をウイルス抽出液として全量回収した。その後、NucliSENS miniMAG (bioMérieux)を用いてウイルスRNAを抽出した。

ウイルス遺伝子定量では、まず iScript Advanced cDNA Synthesis Kit を用いて逆転写を行った。逆転写後、SsoAdvanced Universal Probes Supermix を用いてウイルス遺伝子定量を行った。なお、逆転写反応及び定量PCRにはCFX96 Touch リアルタイムPCR 解析システム(BIO-RAD)を用いた。

次世代シーケンスを用いたノロウイルス遺伝子型解析においては、精製されたPCR産物に対して、G2SKF および G2SKR を用いた fusion-PCR にて、それぞれ異なるキー配列を有するアダプター配列(FLX Titanium Primer

A) 及び forward primer のみ各サンプルを識別する為のタグ配列 (Multiplex Identifier) の付加を行い、アンプリコンライブラリを作成した。精製後のサンプルは Lambda DNA standard($\lambda 100$)を標準試料として、Pico Green ($\lambda 100$) (Life Technologies) 及び蛍光プレートリーダー (Infinite M1000 PRO, TECAN) により定量を行った。得られたアンプリコンライブラリから 0.8×10^7 copies ずつを分取して 1 つにまとめ、全体のアンプリコンの濃度が 2.0×10^7 copies/30 μ L となるように TE バッファで 60 μ L に調整し、このうち半分の 30 μ L をパイロシークエンシングに供した。

パイロシークエンシングには GS Junior システム (Roche Applied Science) を用いた。まずアンプリコンライブラリに対し GS Junior Titanium emPCR Kit (Lib-L) を用いてエマルジョン PCR を行い、個々の磁性ビーズ上で 1 分子ずつのアンプリコンを増幅させた。DNA が付加されたビーズに対し、Junior Titanium Sequencing Kit (Roche Applied Science) と GS Junior (Roche Applied Science) を用いてパイロシークエンシングを行い、ノロウイルス由来遺伝子の塩基配列データを得た。塩基配列のデータ処理は MacQIIME Ver. 1.6.0 及び Perseus を用いて行った。OTU の作成は、サンプル毎の類似する配列の集約を目的とし、サンプルそれぞれについて個別に行った。作成した OTU から MacQIIME のソースコード pick_rep_set.py を用いて代表配列を 1 つずつ抽出した。最後に、Simplot Ver. 3.5.1 を用いて、代表配列間の類似度を確認し、ある配列について、配列の前半と後半でそれぞれ異なる 2 つの配列に対して 100%塩基配列が一致する場合に、その配列をキメラ配列と判断して以降の解析から除外した (配列中の各塩基の前後 20 塩基の一致率を類似度として計算した)。得られた代表配列に対し、MEGA6 を用いて最尤法により系統樹を作成した。また、National Institute for Public Health and Environment (オランダ) により提供されている Norovirus Genotyping Tool を用いて遺伝子型型の判定を行い、BLAST を用いて DDBJ/EMBL/GenBank データベースに登録されている配列を参照し、最近縁配列とそのカバー率および一致率の確認を行った。最近縁配列のカバー率と一致率は、対応する OTU の表配列ごとのシークエンシングデータの全長に応じて算出した。

4. 研究成果

研究課題 (1) においては、マウスノロウイルス及びメンゴウイルスの両方に対し、カプシドタンパク質損傷検出手法が適用可能であることが確認された。これまでの研究によりロタウイルス及びアストロウイルスに当該手法が適用可能であることが確認されていたことから、代表的な胃腸炎ウイルスが含まれる非エンベロープウイルスであるカリシウイルス属、ピコルナウイルス属、レオ

ウイルス属及びアストロウイルス属といった広い範囲の属に対して当該手法が有効であることが明らかとなった。これらの結果は、同じく非エンベロープウイルスであるヒトノロウイルスへもカプシドタンパク質損傷検出手法が問題なく適用可能であることが示唆された。さらに、各ウイルスの「遺伝子コピー数と感染価の比」と、「アビジンゲルにトラップされたウイルス粒子由来遺伝子量の割合」との間に有意な正の相関が存在することが明らかとなった。このことは、アビジンゲルに投入したウイルス粒子に由来する遺伝子量と、アビジンゲルに結合したウイルスに由来する遺伝子量を定量 RT-PCR 法により測定すれば、元のサンプルの感染価の推定値が得られることを示している。これは、ウイルス遺伝子の定量解析により感染価に関する情報を得ることを可能とする成果である。同時に、当該手法により感染価の低下を検出するためには、少なくとも 4-log 以上の感染価の低下が生じている必要があることも明らかとなった。このことから、ノロウイルスが環境中に放出された後、活性酸素等による酸化ストレスにより 10,000 分の 1 程度に感染価が低下した際には、本手法によって検出することが可能であると言える。感染価が 10,000 分の 1 程度に低下しても、ウイルス遺伝子は一般的には検出可能であることから、十分な感染価の差が存在する場合には、水環境サンプルへも当該手法が十分適用可能であると考えられた。

研究課題 (2) においては、まず最適なキャプチャープローブ濃度の検討を行った。キャプチャープローブ濃度が 0.2nM から 200nM の範囲では、濃度が高いほどウイルスゲノム回収率が増加する傾向が見られた。これは、反応溶液中のキャプチャープローブ濃度が増加するにつれエンテロウイルス RNA との接触効率が改善し、さらにプローブ濃度が 10 倍になると T_m 値が 3-4 上昇するために複合体を形成しやすくなることなどが理由として考えられた。それに対し、キャプチャープローブ濃度 2000nM に達するとウイルスゲノム回収率が低下したが、これは過剰量のキャプチャープローブがハイブリダイゼーション反応もしくは磁気ビーズによる回収を阻害したことによると考えられた。以上の結果より、最適なキャプチャープローブ濃度は 200nM であると結論づけた。

続いて、キャプチャープローブ濃度を最適化した手法を下水試料へ適用したところ、エンテロウイルス、アイチウイルス、トウガラシ微斑ウイルス及びマウスノロウイルスの回収率の幾何平均値はそれぞれ 87%, 47%, 0.19%, 0.18%であった ($n=3$)。キャプチャープローブと相補的な配列を持たないトウガラシ微斑ウイルス及びマウスノロウイルスは回収率が非常に低かったのに対し、アイチウイルスは高い回収率が得られたが、これはキャプチャープローブ配列とアイチウイル

スのゲノム配列に一部相補的な配列が存在するためであると考えられた。また、反応溶液中のエンテロウイルス RNA 量は 8.2×10^2 copy と非常に小さかったにも関わらず回収可能であったことから、環境試料中で低濃度のウイルス RNA を対象とした場合でも、ウイルス RNA が損傷していない限り、本手法が適用可能であると考えられた。すなわち、キャプチャープローブが正しく設計することができれば、損傷しておらず不活化が生じていないと想定されるノロウイルス粒子に由来する遺伝子のみを効率的に回収することが可能な手法であると言える。

研究課題(3)においては、検査期間中、11月下旬以降には養殖カキからノロウイルス GII 由来遺伝子が恒常的に検出された。一方で、本研究で対象としたカキ養殖海域の周辺では調査期間中にノロウイルス感染症発生の発生が見られなかったことから、検出されたノロウイルス GII 由来遺伝子が不顕性感染者由来であることが示唆された。

次世代シーケンスを用いて養殖カキ由来のノロウイルス遺伝子を解析するために、2013年12月と2014年1月に3つの地点から3個ずつのカキを採取し、ノロウイルス由来遺伝子の検出を行った。2013年12月のサンプルでは1個のカキのみが陽性となり、2014年1月のサンプルでは8個のカキが陽性となった。このうち、2013年12月の陽性サンプル(A)、2014年1月に地理的に離れた3カ所から採取されたカキから抽出したサンプル1つずつ(B, C, D)、及び2014年1月の陽性サンプル3件を混合したもの(E)の計5サンプルを準備し、パイロシーケエンシングを行った。その結果、全体で236,102個の配列が得られた。さらに塩基配列フィルタリングとノイズ及びキメラ配列の除去を行い、カキ中に存在していたノロウイルス由来遺伝子配列として、最終的に59,587本の塩基配列が得られた。パイロシーケエンシングに供した5サンプル全てにおいて、GII.4 Sydney2012亜型が最優占亜型として検出され、これはリード数ベースで全体の96%(サンプル毎に見れば85-100%)を占めていた。特に、サンプルA、C及びDにおいてはGII.4 Sydney2012亜型のみが検出された。養殖カキを採取した湾の周辺地域において行われた医療サーベイランス調査でも、GII.4 Sydney2012亜型が優占亜型として認められていた。これらの結果は、ノロウイルスの感染と養殖カキへのノロウイルスの蓄積との間に強い関係があることを示唆している。また、GII.4 Sydney2012亜型他に、サンプルBとEからはGII.6型が、サンプルAとEからは株まで判定しきれないGII.4型が検出された。このうち、GII.6の占める割合は検出された配列全体に対して4%(サンプルB及びE内に限ればそれぞれ15%と10%)であった。このように低い割合で存在する配列は、従来のクローニングによるシーケエンシングでは見逃される可能

性が高いが、パイロシーケエンシングを用いることにより高い確率で検出することが可能になったと評価できる。

ノロウイルスは土粒子等に吸着することで環境中における残存率が高まると考えられている。従って、過去にカキ養殖域に流入してきたノロウイルスが土粒子と共に底泥中に留まり、そのノロウイルスが底泥の巻き上げ等に伴って水中に再浮遊することによって、養殖カキ中に過去に流行したノロウイルスが蓄積する可能性も十分に考えられる。医療サーベイランス調査では、本研究で養殖カキを採取した前のシーズン(2012年秋-2013年春)の序盤において、GII.4 Sydney 亜型他に GII.4 Den Haag 2006b 亜型等も優占亜型の1つであったが、2012-2013年シーズンの1月以降と2013-2014年シーズンはGII.4 Sydney 亜型のみが優占であったと報告されている。これに対して、本研究で調べた養殖カキからはGII.4 Sydney 亜型のみが優占亜型として検出された。これらの結果から、少なくとも1年以上前に養殖海域に流入してきたノロウイルスによる汚染は見出されず、養殖時に流行しているノロウイルス、あるいは1年以内などのごく最近に養殖海域に流入してきたノロウイルスが主要な汚染源となっている可能性が支持された。

医療サーベイランス調査においてはGII.4型以外のGII群の感染が数件報告されており、養殖海域内には少数ながらもそのような遺伝子型の異なるノロウイルスが流入していたと想定される。しかしながら、本研究において検出されたGII.4型以外の遺伝子型はGII.6型のみであったことから、GII.4型以外の遺伝子型はカキ養殖域における濃度が非常に低く、パイロシーケエンシングでも検知されなかった可能性が高い。本研究では、各サンプルからは3,260-17,841個、全体では約 6×10^4 個の塩基配列を解析することが可能であったのに対し、パイロシーケエンシングに供したアンプリコンは全体で 2.0×10^7 個であったことから、全体の0.3%の塩基配列が解析可能であったと見積もられる。このことは、例えば0.3%にも満たない割合で存在するようなノロウイルスは、パイロシーケンスによって検知できずに見逃してしまう可能性が高いことを示している。どの程度の割合の塩基配列を解析できるかは、主にアンプリコン取得段階において生じ得る断片化したアンプリコンの存在や、前処理に伴うアンプリコンのロス、さらには1回のランでどのくらいの塩基配列が解析できるかというパイロシーケエンシングシステムの効率などに依存すると考えられる。本研究においては、パイロシーケエンシングにGS Junior システムを用いたが、1回のランでより多くの塩基配列を解析するシステムも開発されており、今後その様なパイロシーケエンシングシステムを用いることによってマイナーなノロウイルス遺伝子型を検知する可能性を高めるこ

とが可能になると考えられる。

そのような検出の限界がある一方で、養殖カキからのノロウイルス検出においては、医療サーベイランス調査においてマイナーであった GII.6 型が検出された。GII.6 型は全てのカキから観察されたわけではないため、本研究で検査したサンプルから偶然 GII.6 型のみが検出された可能性も存在するが、GII.4 型と GII.6 型のみが検出されたことは、養殖カキのノロウイルス蓄積における遺伝子型の選択性に起因している可能性を示唆するものと考えることができる。カキは血液型決定抗原様有機物を有しており、これが特定のノロウイルス遺伝子型を選択的に吸着することが報告されている。血液型決定抗原との吸着特異性は GII.6 型においても確認されていることから、GII.6 型はカキに蓄積しやすい遺伝子型であると推察できる。すなわち、本研究において GII.6 型が観察されたことは、この選択性の影響を受けた結果である可能性が考えられる。一方、これまでのダイレクトシーケンシングやクローニングシーケンシングを用いた研究における養殖カキからのノロウイルスの検出事例においては、GII.6 型の検出件数は他の遺伝型と比べて多くはない。今後、パイロシーケンシング等の網羅的遺伝子解析手法を用いた養殖カキ中のノロウイルスに関する報告が増えれば、海域のノロウイルス濃度のみでは決定づけられないような、養殖環境下のカキの汚染におけるノロウイルス遺伝子型の選択性が明らかとなっていくと期待される。

本研究においては、異なる月に異なる地点で採取したカキを対象として遺伝子配列を解析し、すべての陽性サンプル中で GII.4 Sydney2012 亜型が優占して存在していたことが示された。中でも 2013 年 12 月と 2014 年 1 月に採取されたカキは 100%同一の配列を有するノロウイルスによって汚染されていた。また、他の条件のサンプルの間でも 99-100%の極めて高い一致率が認められた。2013 年 12 月に採取したカキは 1 個のみ GII 群が陽性であり、2014 年 1 月には陽性数が 8 個に増加していたこと、及び空間的に離れた地点から採取されたカキからほぼ同一のノロウイルス遺伝子配列が観察されたことから、ほぼ同一の遺伝子配列を有するノロウイルスが 2013 年 12 月から 2014 年 1 月の間に養殖海域を汚染しており、それがカキに蓄積したと考えられた。

以上の成果をまとめると、水環境中に存在するヒトノロウイルスの感染性を評価するための手法としてカプシドタンパク質損傷検出手法が適用可能であることが確認され、また雑多な物質を含む環境由来濃縮サンプルから損傷を受けていないウイルスゲノムのみを特異的に回収する手法の確立に成功した。さらに養殖カキ中のノロウイルス遺伝子の検出および次世代シーケンスを用いた配列解析により、優占している遺伝子型のみ

ならずマイナーな感染流行株の検出が可能であることを示した。以上の結果により、水環境中のノロウイルスの動態に関する新たな情報が得られ、本研究の所期の目標は十分に達成されたと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 8 件)

- 1) 伊藤紘晃、熊谷卓也、風間しのぶ、真砂佳史、植木洋、渡部徹. パイロシーケンシング法による養殖カキ中のノロウイルス GII の網羅的遺伝子解析. 土木学会論文集 G(環境)、70、III_305-311、2014、査読有り、<http://ci.nii.ac.jp/naid/130004962632>.
 - 2) 佐野大輔、岡部聡. 培養できないウイルスの感染性の評価法. 感染と消毒、21(2)、24-27、2014、査読無し.
 - 3) 佐野大輔. 水環境中のウイルス情報の収集と活用・総説. 臨床とウイルス、42(5)、211-223、2014、査読無し、https://mol.medicalonline.jp/archive/search?j_o=dq0cviro&ye=2014&vo=42&issue=5.
 - 4) Kazuki Tojo, Daisuke Sano, Takayuki Miura, Toyoko Nakagomi, Osamu Nakagomi and Satoshi Okabe. A new approach for evaluating the infectivity of noncultivable enteric viruses without cell culture. Water Science and Technology, 67(10), 2236-2240, 2013、査読有り、10.2166/wst.2013.114.
 - 5) Tsuyoshi Kato, Takayuki Miura, Satoshi Okabe and Daisuke Sano. Bayesian modeling of enteric virus density in wastewater using left-censored data. Food and Environmental Virology, 5(4), 185-193, 2013、査読有り、10.1007/s12560-013-9125-1.
 - 6) 伊藤紘晃、真砂佳史、植木洋、渡部徹. 低 pH 抽出法及び酵素抽出法を用いた養殖カキからのノロウイルスの定量検出. 土木学会論文集 G(環境)、69、III_657-665、2013、査読有り、<http://ci.nii.ac.jp/naid/130004962596>.
 - 7) 三浦尚之、佐野大輔. 水環境中の病原ウイルス分析手法. 水環境学会誌、36、151-155、2013、査読無し、<http://ci.nii.ac.jp/naid/10031169484>.
 - 8) Zheng Ji, Xiaochang Wang, Chongmiao Zhang, Takayuki Miura, Daisuke Sano, Naoyuki Funamizu and Satoshi Okabe. Occurrence of hand-foot-and-mouth disease pathogens in domestic sewage and secondary effluent in Xi'an, China. Microbes and Environments, 27(3), 288-292, 2012、査読有り、<http://doi.org/10.1264/jsme2.ME11352>.
- (学会発表)(計 13 件)
- 1) 勝又雅博、真砂佳史、大村達夫、原田秀樹. ハイブリダイゼーション法を用いた下水

- 中のウイルスゲノム回収手法の開発 .第 49 回日本水環境学会年会 . 2015 年 3 月 16 日～18 日、金沢大学、石川県金沢市 .
- 2) 有坂知朗、伊藤紘晃、真砂佳史、植木洋、梶原晶彦、渡部徹 . 2014～2015 年シーズンの感染性胃腸炎流行期に至るまでの養殖牡蠣のノロウイルス汚染の動向、平成 26 年度土木学会東北支部技術研究発表会、2015 年 3 月 7 日、東北学院大学、宮城県多賀城市 .
 - 3) Takayuki Miura, Kozo Watanabe, Satoshi Okabe, Toyoko Nakagomi, Osamu Nakagomi and Daisuke Sano. Evolution of GII.4 noroviruses: genetic variations within a single host and among hosts. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases. 2015 年 1 月 25 日～29 日、Academia Sinica, Taipei, Taiwan.
 - 4) 伊藤紘晃、熊谷卓也、風間しのぶ、真砂佳史、植木洋、渡部徹 . パイロシ - クエンシグ法による養殖カキ中のノロウイルス GII の網羅的遺伝子解析 . 第 51 回環境工学研究フォーラム、2014 年 12 月 20 日～22 日、山梨大学、山梨県甲府市 .
 - 5) 佐野大輔、太田崇智、中村新、中込とよ子、中込治、岡部聡 . 酸化ストレスマーカーとしてのカルボニル基検出によるロタウイルスの感染性評価 . 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 . 2014 年 11 月 10 日～12 日、パシフィコ横浜、神奈川県横浜市 .
 - 6) 伊藤紘晃、熊谷卓也、渡部徹、真砂佳史、風間しのぶ、植木洋 . 養殖カキからのノロウイルス抽出における各種酵素の有効性の比較 . 第 48 回水環境学会年会 . 2014 年 3 月 17 日～19 日、東北大学川内北キャンパス、宮城県仙台市 .
 - 7) 伊藤紘晃、真砂佳史、植木洋、渡部徹 . 養殖ガキはどうしてノロウイルスに汚染されるのか? 第 9 回もがみがわ水環境発表会 . 2013 年 11 月 10 日、山形県生涯学習センター、山形県山形市 .
 - 8) Daisuke Sano, Kazuki Tojo, Toyoko Nakagomi, Osamu Nakagomi and Satoshi Okabe. Stability of rotavirus infectivity analyzed by oxidative stress marker detection. The 5th European Rotavirus Biology Meeting. 2013 年 10 月 9 日、Valencia, Spain.
 - 9) 渡部徹、伊藤紘晃、真砂佳史、植木洋、梶原晶彦 . 流入河川の影響に着目した養殖カキのノロウイルス汚染解析 . 第 68 回土木学会年次学術講演会 . 2013 年 9 月 4 日～6 日、日本大学生産工学部津田沼キャンパス、千葉県習志野市 .
 - 10) Hiroaki Ito, Kenta Hoshi, Yoshifumi Masago, Yo Ueki and Toru Watanabe. Seasonal accumulation of norovirus to oyster in relation with epidemic situation around watershed. The 5th IWA-ASPIRE Conference & Exhibition. 2013 年 9 月 8 日

～12 日、Daejeon, Korea.

- 11) Daisuke Sano, Takayuki Miura and Satoshi Okabe. Performance target of enteric virus removal with MBR. Global Leadership Initiative Special Workshop on Water Virology. 2013 年 1 月 19 日、ホテルパークサイド、東京都台東区 .
 - 12) Daisuke Sano, Tsuyoshi Kato, Ayano Kobayashi, Takayuki Miura and Satoshi Okabe. Multiple-peak expression of enteric virus density in environmental water. The 4th Asia-Pacific Young Water Professionals Conference 2012. 2012 年 12 月 8 日～9 日、日本科学未来館 . 東京都江東区 .
 - 13) Daisuke Sano, Takayuki Miura, Kazuki Tojo, Miho Otani and Satoshi Okabe. Infectivity of gastroenteritis viruses analyzed by oxidative stress marker detection and RNase sensitivity test. The 3rd Food and Environmental Virology Conference. 2012 年 10 月 7 日～10 日、Lisbon, Portugal.
- 〔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〕
○報道等 (計 2 件)
- 1) NHK「てれまさむね」暮らし・安全「ウイルス流行 いち早く把握」2014 年 10 月 21 日
 - 2) NHK「情報まるごと」「ノロウイルスの季節へ・流行の兆し素早く探知」2014 年 10 月 28 日

6 . 研究組織

(1)研究代表者

大村 達夫 (TATSUO, OMURA)
東北大学・未来科学技術共同研究センター・教授
研究者番号 : 30111248

(2)研究分担者

原田 秀樹 (HIDEKI, HARADA)
東北大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号 : 70134971

研究分担者

佐野 大輔 (DAISUKE, SANO)
北海道大学・大学院工学研究院・准教授
研究者番号 : 80550368

研究分担者

渡部 徹 (TORU, WATANABE)
山形大学・農学部・准教授
研究者番号 : 10302192