

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：30109
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2012～2014
 課題番号：24580430
 研究課題名(和文) 高速相同配列検索プログラムと deep シーケンシング分析による網羅的ウイルス検出

 研究課題名(英文) Comprehensive virus detection by high-performance homology search and deep sequencing

 研究代表者
 遠藤 大二 (ENDO, Daiji)

 酪農学園大学・獣医学群・教授

 研究者番号：40168828

 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000 円

研究成果の概要(和文)：新興・再興ウイルスの発生に対し、病原体の動態を把握することが求められている。本研究では、網羅的なプライマー設計プログラムと次世代シーケンサーを連携したウイルス検出システムの開発を行った。縮重プライマーを用い、総当りの相同性解析とクラスター化による最大ウイルス種増幅プライマーを設計するプログラムが作出され、14ウイルス科について143,557種のウイルスを対象とするプライマーが自動的に設計された。当該プログラムは19属の細菌についても設計が可能であり、次世代シーケンスデータについて開発した解析プログラムと合わせ、次世代シーケンサーを用いた網羅的病原体検出の可能性を高めた。

研究成果の概要(英文)：On reports of the emerging viruses, requirement for comprehensive surveillance for viruses has been increased. In this study, we create computer program which design primers for comprehensive detection of viruses. The program automatically designed primers for amplifying 143,557 species (14 families) viruses and 19 genera of bacteria. We also create sequence analysis program for analyzing vast numbers of sequence reads with high-performance homology search. These programs and results suggest the ability of the combination of comprehensive amplification and next-generation sequencer.

研究分野：ウイルス学

キーワード：次世代シーケンサー 縮重プライマー バイオインフォマティクス 網羅的ウイルス検出 網羅的細菌検出 高速相同性検出 プライマーの自動設計 糞便微生物解析

1. 研究開始当初の背景

流通と人口流動のグローバル化の結果、家畜の伝染性ウイルス疾病について、多様な既知ウイルスに加え、新種ウイルスの出現も考慮する必要が生じている。網羅的増幅法または次世代シーケンサーの連携が有効であることは多くの研究者が予想していた。

当時の方法は次世代シーケンス結果におけるウイルス塩基配列比率を十分に高めることを目標としていたが、この背景としては、次世代シーケンス結果データ全てについて、公開データベース上の既知のデータとの相同性解析に多大な計算時間を要するという問題点があった。

次世代シーケンスの実施前に試料拡散中のウイルス等の病原体の比率を高める方法としては、複数の塩基配列を共通して増幅する縮重プライマー (degenerate プライマー) を用いた網羅的増幅方法が検討されていたが、目的とする病原体について十分に安定した増幅効率を得ることが難しく、研究論文上での改善が報告され続けていた。

一方、研究の開始にあたり、申請者らは、ウイルスの網羅的増幅用 PCR プライマー設計プログラム (CoCoMo) を独自に開発しており、従来よりも広い範囲のウイルスを次世代シーケンス試料中での比率を高めることが理論的には可能であり、一方、米国で新規に開発された相同配列検索プログラム (USEARCH) の高速性を利用すれば、次世代シーケンスから出力された全ての塩基配列を解析することにより広範囲のウイルスを高感度で検出する可能性が示唆されていた。

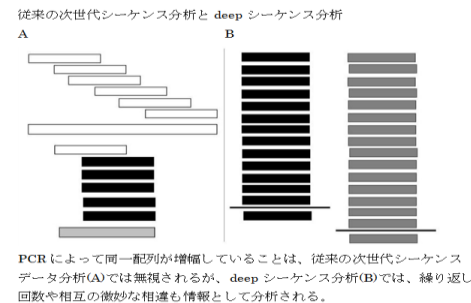
当該技術では、網羅的な範囲のウイルス・細菌に関して、限られた数のプライマーによって PCR が可能な縮重プライマーの設計がウイルスおよび細菌の検出のためには最重要課題となった。

2. 研究の目的

新種を含む多様なウイルスの検出のために次世代シーケンスを最大限に利用するため、申請者らが独自に開発したウイルスの網羅的増幅用 PCR プライマー設計プログラム (CoCoMo) を最適化するとともに、米国で開発された相同配列検索プログラム (USEARCH) を用いて次世代シーケンスから出力された塩基配列中での配列の

相同性と多重性 (deep シーケンシング分析) を分析する。完全な PCR 増幅ではなく、次世代シーケンス上の多重性の増大を検出基準とする場合、広範囲のウイルスおよびその他の病原体について高効率かつ網羅的に検出する方法を開発することが可能となる。このためのプライマーによる増幅と分析方法の開発を本研究の目的とする。

図 1 deep シーケンス分析による病原体検出の概念図



上記の目的を達成するため、本研究では下記の個別目標を設定し、検出方法の感度を確保しつつ網羅性を高めることとした。

(1) 次世代シーケンサーを用いたウイルス検出

感度を高めた検出方法の開発と並行し、コピー数の大きなウイルスについては、次世代シーケンスによる検出を実施する。この検出・同定により、次世代シーケンスによる病原体検出の実用性を示すとともに、新規開発する網羅的検出方法が目標とすべき検出感度を予測する。

(2) 網羅的なウイルス核酸の増幅を可能にする縮重プライマー設計方法の開発

過去の新規ウイルスの発見事例でもほとんどの場合は、近縁のウイルスが存在している。そのため、既存のウイルスに相同性のあるウイルスを検出するような PCR 増幅ができれば、未知のウイルスの検出も可能である。近縁のウイルスを同時に増幅させるためのプライマーの設計方法としては、縮重プライマーが最も広く用いられている。申請者はウイルス研究での成功例を分析し、その作業を自動化した CoCoMo 縮重プライマー設計プログラム申請時には開発していた (Jimba et al., *Retrovirology*. 2010 Nov 2;7:91)。本研究では、この縮重プライマーの設計方法をさらに発展させ、ウイルス科などの検出対象ウイルス群を最低数の縮重プライマーで増幅するための方法の開発を第一の目的とした。

(3) 次世代シーケンスデータからの病原体由来塩基配列の高速検出

Illumina(HiSeq および MiSeq)や FLX などの次世代シーケンサーは、1000 万リードまたは 5 億塩基の配列を決定できる。理論的には、これらの塩基配列にはウイルス等の病原体の配列も含まれるため、大量の塩基配列中から既知の病原体と相同の配列を検出できれば、病原体を高感度で検出することが可能になる。本研究では、次世代シーケンサーデータを直接に病原体の塩基配列データベースと相同性検索を行うための方法を開発する。

3. 研究の方法

(1)低コスト次世代シーケンサーMiSeq によるウイルス検出

低コスト、中等度リード数での塩基配列の分析が可能な MiSeq シーケンサーを用い、各種資料からのウイルスの同定を実施した。このための対象試料としては、主として単一のウイルス感染をしている感染動物材料とし、得られた全シーケンスをウイルスデータベースに対して相同性解析することによりウイルスの検出を実施した。

(2)-1 網羅的なウイルス・細菌核酸の増幅を可能にする縮重プライマー設計条件の設定

縮重プライマーを使用する場合、次世代シーケンスでウイルスを検出する場合においても、低コピー数の対象ウイルスを増幅する必要がある。この検出目標としては、血液等生体材料中のウイルスの存在量から予測し、10 コピーのウイルスを検出可能な方法が必要であることが予想された。これらの予想にもとづき、縮重プライマーの設計と検証においては、10 コピーの鋳型 DNA または RNA を検出可能にすることを目標として、縮重プライマーで許容される縮重度と鋳型の増幅反応の関係が調べられた。

(2)-2 網羅的なウイルス・細菌核酸の増幅を可能にする縮重プライマー設計プログラムの作成

(2)-1 の実験により、次世代シーケンスで効果的にウイルスを検出するための縮重プライマーの条件が設定されたため、プライマー設計対象のウイルス群を、最低数のその条件に合った縮重プライマーを用いて増幅することが次の目標となった。このため、多数の候補ウイルスの遺伝子を、相互に相同性の高いクラスターに分け、最低数のクラスターにより、全種のウイルスを増幅できるようにクラスターの選択を行うプログラムを作成した。このプログラムの作成には、最低数のグループで全体を網羅するための方法として知られている Greedy Algorithm を使用した。

(3) 次世代シーケンサーデータからの病原体由来塩基配列の高速検出法の確立

本研究が対象とする糞便などの試料については、多数の生物が含まれている可能性があるため、次世代シーケンサーが分析により出力したデータ(リード)をそのまま検索対象として用い、全リードを公開データベースのデータと比較することが生物種分布および病原体検出のために適切であることが示唆された。ただ、次世代シーケンサーにより出力される読み取り塩基配列は非常に多数存在するため、高速での検索が可能な相同性検索ソフトが必要になった。本研究では、BLAST の 200 倍高速であることが知られている USEARCH を用い、糞便中に含まれる生物種を網羅的に検出し、データベース化するためのプログラムを作成した。

4. 研究成果

(1)低コスト次世代シーケンサーMiSeq によるウイルス検出

次世代シーケンサーによるウイルス検出におけるウイルスのコピー数を検証し、網羅的増幅方法の条件を検討するためのウイルス検出および同定を試みたところ、次世代シーケンサーMiSeq により、9 種のウイルスが同定され、性状が分析された(文献番号 1, 3, 4, 5, 7, 8, 13, 17, 19)。

(2)-1 網羅的なウイルス核酸の増幅を可能にする縮重プライマー設計条件の設定

2012 年度および 2013 年度の試行から、①次世代シーケンスの配列分析では 64 倍以上の増幅であれば有意に検出できる ②PCR 増幅反応が次世代シーケンス用試料中で効果的に進行するためには 30 サイクルの増幅で増幅産物が目視できるような増幅反応の特異性が必要になる ③PCR の増幅反応が他の増幅反応に影響し始めるのは 1000 倍程度以上増幅してからである。④多くの臨床データでは病原体検出の対象はウイルスのみではなく、細菌の検出も求められる。ということが判明した。

また、ハンタウイルスを鋳型として PCR プライマーの縮重性を変更して行われた増幅実験により、「3' 末端から 3 塩基は縮重塩基にしない、縮重塩基数は 4 個以内、縮重塩基間は 2 塩基以上空ける」との法則が有効であることが示された。

2013 年度までに、プライマー設計ソフトの改善も進め、塩基配列の相同性に基づいてクラスター化されたゲノム断片を整理し、一致した塩基配列をコアにして設計されたプライマーを用い、低コピー数のハンタウイルスを鋳型として増幅を試みたところ、増幅された種数は表 1 のようになった。

表1 自動プライマー設計ソフトによって設計されたプライマーの増幅ハンタウイルス種数

増幅ハンタウイルス種数	0	1	2	3	4	5	7
プライマー数	11	6	3	1	1	2	1

これらの結果により、縮重塩基の位置や頻度の基本原則をプログラムに取り込むことにより、高度に変異し塩基配列が多型を示す7種のハンタウイルスを増幅するプライマーを設計可能であることが示された。(2)-2のプライマー設計プログラムの開発においては、この法則を基本にプライマーを設計し、縮重度がこれを上回る場合には、対象をより細かいグループに分けることとした。

(2)-2-1 網羅的な細菌核酸の増幅・同定を可能にする縮重プライマー設計プログラムの作成

2013年度において、次世代シーケンサーによる分析対象としてのニーズが糞便について大きいことを勘案し、ウイルスに加え、細菌についても種および血液型同定用のプライマーを設計した。設計された4組のプライマーによる各種菌株の増幅産物のサイズから、大腸菌の血清型が予測可能であることが示唆された。

(2)-2-2 生物種サーベイランス法の整備

網羅的解析においては、糞便採取時に動物が同定できないため、宿主動物を同定する必要性も示唆された。そのため、各種生物ゲノムを増幅する方法として、エクソン部分をプライマーにして非エクソン領域を増幅するプライマーを設計し、地域を限定した条件においては、げっ歯類および鳥類種を同定可能なプライマーを設計し、糞便の網羅的解析に先んじて、宿主を容易に同定可能にした。

(2)-2-3 網羅的なウイルス・細菌核酸の増幅を可能にする縮重プライマー設計プログラムの作成

2013年度までの結果を元に、2014年度においては、網羅的な検出を可能にするため、多数のウイルスに共通して利用可能で、自動的に設計を行える縮重プライマー設計プログラムを作出した。当該プログラムは、GenBankから特定のウイルス科に含まれる全データをダウンロードしたデータを起点として用い、遺伝子産物のアミノ酸配列の相同性にもとづいて設計対象の重複を除いた後、遺伝子を相同性に基づいたクラスターに分けた。各クラスターで

増幅可能なウイルス種を最大とするように Greedy Algorithm により最適なクラスターが選択され、続いてクラスターごとに、縮重塩基が設計された。このプライマー設計ソフトは14ウイルス科の143,557種のウイルスを対象とするプライマーを自動的に設計する能力を示した(表2)。

表2 縮重プライマー設計ソフトの実行時間

ウイルス科	GenBankデータ件数	設計プライマーペア数	所要時間
Bunyaviridae	6006	85	10分
Flaviviridae	8843	51	10分
Orthomyxoviridae	267,022	196	2.5時間

基本的に同一のプログラムは細菌にも応用可能で、Bacillus, Borrelia, Brucella, Campylobacter, Candidatus, Chlamydia, Escherichia, Haemophilus, Leptospira, Listeria, Mycobacterium, Mycoplasma, Neisseria, Pseudomonas, Rickettsia, Shigella, Staphylococcus, Streptococcus および Yershinia 属の細菌の全ゲノム配列を元に、各属の遺伝子を増幅するプライマーを設計したところ、398,380個の相同遺伝子クラスターが得られ、1属のみが含まれる388,521クラスターから、各属について最も相互の相同性が高いクラスター内の塩基配列に共通するプライマーが設計された。このプライマー設計の実行には4日間を要したが、その間プログラムはエラーを出すことなく、再現性を持って実行が可能であった。

(3) 次世代シーケンスデータからの病原体由来塩基配列の高速検出法の確立

大量の次世代シーケンスデータからウイルス配列を非特異的増幅産物から分別して同定するために、相同性検索ソフト USEARCH を利用したプログラムを設計した。このプログラムは次世代シーケンサーからの生データを直接解析し、リードデータと相同性が最も高いウイルス・細菌・原生動物・植物および動物種を集計する機能を整備した。相同性解析ソフトとしては、USEARCH が最も実行速度が高いことが示された。

(4) 総括

本研究は、ヒトの移動がグローバル化し、従来は地域による発生地域が限定されていたウイ

ルスが地域を拡大するという傾向に対し、コストが下がり、活用範囲の拡大が明らかになってきた次世代シーケンスを活用することにより網羅的な病原体の検出を可能にすることを目的として計画された。次世代シーケンサーによってウイルスが検出可能な事例を報告することにより、その網羅性を示したが、同時に、ウイルスのコピー数が他の生物種と比較して高くなければ次世代シーケンスデータでも検出されないことも一方では示された。これらの結果は、網羅的な対象病原体について PCR 反応を可能にするプライマーの設計と、次世代シーケンサーの生データを高速で相同性検索するシステムの重要性を示唆した。本研究では両者について実用的なプログラムを作出した。遺伝子の総当り的な相同性解析とクラスタリング、DNA 配列の整列と保存領域の抽出に加え、プライマーの自動設計を自動的に行うプログラムが作出され、388,521 の遺伝子クラスターについての自動的プライマー設計が可能となった。このプライマー設計プログラムは、と実行環境の整備マニュアルが整備された時点で公開・頒布する予定である。

5. 主な発表論文等(研究代表者、研究分担者には下線)

[雑誌論文] (計 19 件)

1. Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, et al. 他 12 名 The first identification and retrospective study of severe Fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. *J. Infect. Dis.* In press
2. Yamanaka A, Iwakiri A, Yoshikawa T, Sakai K, Singh H, Himeji D, Kikuchi I, Ueda A, Yamamoto S, Miura M, Shioyama Y, Kawano K, Nagaishi T, Saito M, Minomo M, Iwamoto N, Hidaka Y, Sohma H, Kobayashi T, Kanai Y, Kawagishi T, Nagata N, Fukushi S, Mizutani T, et al. 他 8 名 Imported case of acute respiratory tract infection associated with a member of species nelson bay orthoreovirus. *PLoS One.* 2014 25;9(3):e92777.
3. Omatsu T, Tsuchiaka S, Hirata T, Shiroma Y, Okazaki S, Katayama Y, Oba M, Nishiura N, Sassa Y, Furuya T, Nagai M, Ochiai H, Tamaki S, Mizutani T. Detection of enterovirus genome sequence from diarrheal feces of goat. *Virus Genes.* 2014 Jun;48(3):550-2.
4. Masuda T, Nagai M, Yamasato H, Tsuchiaka S, Okazaki S, Katayama Y, Oba M, Nishiura N, Sassa Y, Omatsu T, Furuya T, Koyama S, Shirai J, Taniguchi K, Fujii Y, Todaka R, Katayama K, Mizutani T. Identification of novel bovine group A rotavirus G15P[14] strain from epizootic diarrhea of adult cows by de novo sequencing using a next-generation sequencer. *Vet Microbiol.* 2014 Jun 25;171(1-2):66-73.
5. Bui VN, Mizutani T, et al. 他 12 名 Characterization of a genetic and antigenic variant of avian paramyxovirus 6 isolated from a migratory wild bird, the red-necked stint (*Calidris ruficollis*). *Arch Virol.* 2014 Jul 8. [Epub ahead of print]
6. Nagai M, Aoki H, Sakoda Y, Kozasa T, Tominaga T, Teshima K, Mine J, Abe Y, Tamura T, Kobayashi T, Nishine K, Tateishi K, Suzuki Y, Fukuhara M, Ohmori K, Todaka R, Katayama K, Mizutani T, Nakamura S, Kida H, Shirai J. Molecular, biological, and antigenic characterization of a Border disease **virus** isolated from a pig during classical swine fever surveillance in Japan. *J Vet Diagn Invest.* 2014 Jul 15;26(4):547-552.
7. Okazaki S, Manabe H, Omatsu T, Tsuchiaka S, Yamamoto T, Chow S, Shibuno T, Watanabe K, Ono S, Kuwada H, Mizutani T. Detection of Japanese eel endothelial cells-infecting **virus** (JEECV) in the Japanese eel *Anguilla japonica* (Temminck & Schlegel), living in natural habitats. *J Fish Dis.* 2014 Aug 13. doi: 10.1111/jfd.12294. [Epub ahead of print]
8. Madarame H, Ogihara K, Kimura M, Nagai M, Omatsu T, Ochiai H, Mizutani T. Detection of a pneumonia **virus** of mice (PVM) in an African hedgehog (*Atelerix arbiventris*) with suspected wobbly hedgehog syndrome (WHS). *Vet Microbiol.* 2014 Sep 17;173(1-2):136-40.
9. 谷口美保、大場真己、岡崎祥子、大松勉、手島有平、椎名修、金城輝雄、安座間健也、島袋洋次、普久原学、仲本開、曾地千尋、吉柳善弘、三宅一平、藤野正和、正藤陽久、飯田伸弥、篠原久、大内勇、高原和之、木村聡志、中本旅人、西浦直美、土赤忍、片山幸枝、佐々悠木子、長井誠、古谷哲也、川上茂久、水谷哲也
日本の動物園で飼育されているゾウのゾウヘルペスウイルス 1 型感染状況について *Epidemiology of elephant endotheliotropic herpesvirus 1 in elephants in Japanese zoo* *J. Jpn. Assoc. Zoo. Aqu.* 55(2) : 41-44. 2014.
10. Teppei Hirata, Takeshi Miyagi, Yasunori Nagata, Shiro Tamaki, Tsutomu Omatsu,

- Tetsuya Mizutani. Development of farmer support system on dairy and meat industry of goat utilizing ICT. Agriculture, Forestry and Fisheries 2014; 3(2): 121-127
11. Teppei Hirata, Yoshihito Yonahara, Faramarz Asharif, Takeshi Miyagi, Tsutomu Omatsu, Yasushi Shiroma, Tetsuya Mizutani, Yasunori Nagata, Shiro Tamaki. Mathematical model of caprine arthritis encephalitis considering the seasonal breeding. Animal and Veterinary Sciences 2014; 2(3): 70-74
 12. Teppei Hirata, Yoshiki Kinjo, Yayumi Nishihira, Yoshihito Yonahara, Takeshi Miyagi, Tsutomu Omatsu, Yasushi Shiroma, Tetsuya Mizutani, Yasunori Nagata, Shiro Tamaki. Estimation of parameters related to SFTSV (severe febrile thrombocytopenia syndrome virus) transmission of sheep in Shandong, China. Science Journal of Public Health 2014; 2(3): 177-181
 13. Nagai M, Aoki H, Sakoda Y, Kozasa T, Tominaga-Teshima K, Mine J, Abe Y, Tamura T, Kobayashi T, Nishine K, Tateishi K, Suzuki Y, Fukuhara M, Ohmori K, Todaka R, Katayama K, Mizutani T, Nakamura S, Kida H, Shirai J. Molecular, biological, and antigenic characterization of a Border disease **virus** isolated from a pig during classical swine fever surveillance in Japan. J Vet Diagn Invest. 2014 Jul 15;26(4):547-552.
 14. Suzuki S, Tanaka M, Matsuda H, Tsukahara Y, Kuribayashi Y, Nakai A, Miyazaki R, Kamiya N, Sekizawa A, Mizutani T, Kinoshita K. Prevalence of human T-cell leukemia **virus** type 1 carrier in Japanese pregnant women in 2013. J Clin Med Res. 2015 Jun;7(6):499-500.
 15. Shimada S, Nagai M, Moriyama H, Fukuhara T, Koyama S, Omatsu T, Furuya T, Shirai J, Mizutani T. Use of S1 nuclease in deep sequencing for detection of double-stranded RNA **viruses**. J Vet Med Sci. 2015 [In Print]
 16. Sato A, Kameyama K, Nagai M, Tateishi K, Ohmori K, Todaka R, Katayama K, Mizutani T, Yamakawa M, Shirai J. Complete Genome Sequence of Bovine Viral Diarrhea **Virus 2** Japanese Reference and Vaccine Strain KZ-91CP. Genome Announc. 2015 Feb 12;3(1).
 17. Li TC, Iwasaki K, Katano H, Kataoka M, Nagata N, Kobayashi K, Mizutani T, Takeda N, Wakita T, Suzuki T. Characterization of self-assembled **virus**-like particles of Merkel cell polyomavirus. PLoS One. 2015 Feb 11;10(2):e0115646.
 18. Park ES, Suzuki M, Kimura M, Maruyama K, Mizutani H, Saito R, Kubota N, Furuya T,

Mizutani T, Imaoka K, Morikawa S. Identification of a natural recombination in the F and H genes of feline morbillivirus. Virology. 2014 Nov;468-470:524-31.

19. Nagai M, Aoki H, Sakoda Y, Kozasa T, Tominaga-Teshima K, Mine J, Abe Y, Tamura T, Kobayashi T, Nishine K, Tateishi K, Suzuki Y, Fukuhara M, Ohmori K, Todaka R, Katayama K, Mizutani T, Nakamura S, Kida H, Shirai J. Molecular, biological, and antigenic characterization of a Border disease **virus** isolated from a pig during classical swine fever surveillance in Japan. J Vet Diagn Invest. 2014 Jul 15;26(4):547-552.

[学会発表](計 5 件)

1. 小山内裕太、遠藤大二、浅川満彦、長雄一、藤井啓、大沼学、EPIC-PCRによる北海道のネズミ類の種判別法の開発、日本野生動物医学会、2013年8月30日、京都
2. 三友俊平、長井誠、大松勉、古谷哲也、岡崎祥子、土赤忍、水谷哲也、アカバネウイルスによるアポトーシスメカニズムの解明、第157回日本獣医学会学術集会 2014年9月12日、札幌
3. 大場 真己、大松 勉、安藤 秀二、川端 寛樹、高野 愛、片山 幸枝、古谷 哲也、長井 誠、水谷 哲也、コウモリマルヒメダニから分離された新規ブニヤウイルスについて、第157回日本獣医学会学術集会 2014年9月12日、札幌
4. 根本 学、長井 誠、恒光 裕、大松 勉、白井 淳資、近藤 高志、藤井 克樹、戸高 玲子、片山 和彦、水谷 哲也、日本で分離されたG3およびG14型ウマロタウイルスの全ゲノム解析、第157回日本獣医学会学術集会 2014年9月12日、札幌
5. 佐々 悠木子、堀江 真行、鈴木 研太、加藤 真樹、香川 紘子、鈴木 和彦、渋谷 淳、Chanathip Thammakarn、竹原 一明、古谷 哲也、本田 知之、朝長 啓造、岡ノ谷 一夫、水谷 哲也、新規遺伝子型トリボルナウイルス (ABV-BF) の解析、第157回日本獣医学会学術集会 2014年9月12日、札幌

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 大二 (ENDO DAIJI)
酪農学園大学・獣医学群・教授
研究者番号: 40168828

(2) 研究分担者

水谷 哲也 (MIZUTANI TETSUYA)
東京農工大学・農学部・教授
研究者番号: 70281681