

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26660226

研究課題名(和文)豚レンサ球菌無莢膜株と有莢膜株の協調による病原性発現機構の解明

研究課題名(英文)Studies on the mechanisms to expose virulence by a combined effort of capsule-positive and -negative *Streptococcus suis*

研究代表者

関崎 勉 (Sekizaki, Tsutomu)

東京大学・農学生命科学研究科・教授

研究者番号：70355163

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：豚心内膜炎病変部70検体のうち59検体から豚レンサ球菌が単独に分離された。このうち26検体から有莢膜菌と無莢膜菌が分離され、両表現型の共存が示された。両者が分離された26検体から選んだ有莢膜菌と無莢膜菌ペアのMLST解析では、同一検体由来菌は同じSTだった。全ゲノム配列比較では、同一検体由来ペアが最も類似し、同一農場由来ペア同士も類似していた。一部の同一農場由来ペアでは、別なペアの有莢膜菌同士および無莢膜菌同士の方が類似していた。これらの成績より、有莢膜菌から無莢膜菌への突然変異は農場ごとに別個に起こること、さらに有莢膜菌と無莢膜菌のペアが農場に潜伏し、次の感染を起こす可能性が明らかになった。

研究成果の概要(英文)： *Streptococcus suis* was solely isolated from 59 out of 70 porcine endocarditis samples. Both of encapsulated and unencapsulated *S. suis* were found in the 26 samples, indicating coexistence of two phenotypes. Pairs of an encapsulated and an unencapsulated isolates were selected from each sample. The isolates in the same pair belonged to the same sequence type by MLST analysis. Whole genome sequencing showed that all the unencapsulated isolates had nonsynonymous mutations in the capsule polysaccharide synthesis (cps) genes. Genome-wide comparison of the isolates showed that the isolates in the same pair were the most closely resembled, and those originated from the same farm were more similar than those from different farms. In a few pairs, encapsulated isolates from the same farm were more similar than those of unencapsulated. These results suggest that the mutation in the cps genes occurred independently in different farms and some pairs occasionally persist to occur the next infection.

研究分野：獣医細菌学

キーワード：豚レンサ球菌 莢膜 心内膜炎 病原因子 遺伝子変異

1. 研究開始当初の背景

(1) 豚レンサ球菌 (*Streptococcus suis*) は豚やヒトに敗血症、髄膜炎、心内膜炎等を起こす人獣共通感染症の原因菌である。本菌は健康な豚にも保菌され、と畜場で臨床上健康な豚が解体される際、心内膜炎を指摘されることも多い。しかし、本菌が扁桃や心内膜に潜在的に定着するメカニズムや病原因子に関する学術的知見は乏しく、本菌を健康豚から排除する技術の開発を妨げている。本菌は莢膜の抗原性で 30 以上の血清型に型別されているが、その莢膜は感染に際して宿主体内での食菌作用に抵抗するための重要な病原因子である。ところが近年、莢膜を失った株は、宿主細胞への接着、バイオフィーム形成能が亢進することが明らかとなった。

(2) 研究代表者らは、豚の心内膜炎から分離した *S. suis* には、莢膜を欠失した株が多いことを見出して解析したところ、そのほぼ全てが莢膜多糖合成遺伝子 (*cps*) 領域の偶発的な変異により莢膜を失うこと、*cps* 領域の変異部位によっては致死的な変異となる危険性もあること、しかし、莢膜を失うことによって心内膜炎発症に関与する血小板への接着、バイオフィーム形成能、自家凝集性が亢進すること、有莢膜株は殆どバイオフィームを形成しないが、無莢膜株が形成したバイオフィームに有莢膜株が接着することを見出した。そこで、これらの成績から、感染の初期には血流中で宿主の防御反応に抵抗するために莢膜が必要であるが、組織に接着しバイオフィームを形成するためには、莢膜を失うことが有利であり、有莢膜菌とそれから変異によって派生した無莢膜菌とが協調して病変を形成するという仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究課題では、有莢膜菌と無莢膜菌とが協調して豚心内膜炎を発症させるとの仮説を証明するために、有莢膜菌と無莢膜菌が同一の病変部に共存することを明らかにするとともに、有莢膜菌から無莢膜菌への遺伝子変異がいつどこで起こったのかを推定するために、豚心内膜炎由来の有莢膜菌と無莢膜菌ペアを多く収集し、それらの全ゲノム配列を決定して、比較ゲノム解析を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 豚心内膜炎病変部からの無莢膜菌と有莢膜菌の同時分離

豚心内膜炎病変部を寒天平板にスタンプして菌が発育したものまたは心内膜炎の豚心臓試料を食肉衛生検査所から入手した。これらの試料から、選択培地を用いて心内膜炎 1 検体より 24 株の *S. suis* を分離した。分離菌について、*S. suis* の DNA を検出する。LAMP 法としては、既報の血清型 2 型を検出する方法(引用文献)、研究代表者らが独自に開発した *S. suis* と見なされる血清型全

部を検出する方法(引用文献)を用いた。この DNA 検査法によって陽性となった株について、血清共凝集反応、自家凝集性の有無により、それぞれ血清型別するとともに莢膜の有無を検査した。

(2) MLST 解析

同一の心内膜炎病変部から有莢膜菌と無莢膜菌の両者が分離できたものについて、各病変部検体に対して、有莢膜菌と無莢膜菌をそれぞれ 1 株ずつ選び、それらについて MLST 解析を実施した(引用文献)。

(3) 莢膜合成遺伝子領域の全塩基配列決定

同一の心内膜炎病変部から有莢膜菌と無莢膜菌の両者が分離できたものについて、各病変部検体からそれぞれ 1 株ずつ選択した有莢膜菌と無莢膜菌のうち、7 ペアの *cps* 領域の全塩基配列を、3130x1 キャピラリーシーケンサーによるサンガー法で、BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit を用いて決定した。得られた配列は、Sequencher v4.8 及び Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) v5 を用いて整理し、変異部位を特定した。

(4) 相補試験

無莢膜菌のうちで、*cps* 領域 (*cps2E* と *cps2H* 遺伝子) に数塩基以下の変異が入っていたものについては、野生型の遺伝子を PCR で増幅し、発現ベクター pMX1 に連結し、それぞれ pCps2E と pCps2H を作製した。この組換えプラスミドで無莢膜菌を形質転換し、莢膜産生が復活することを調べた。

(5) 有莢膜菌および無莢膜菌ペアの全ゲノムドラフト配列決定

同一の心内膜炎病変部から有莢膜菌と無莢膜菌の両者が分離できたものについて、各病変部検体からそれぞれ選択した有莢膜菌と無莢膜菌の 26 ペアに対して、高速シーケンサー-Illumina MiSeq を用いて、300 bp × 2 の paired-end sequence により全ゲノムドラフト配列を決定した。

(6) 全ゲノムドラフト配列の情報解析

得られた配列情報に対して、A5-miseq を用いて default のパラメーターで de novo assemble を実施した。これらに対して、kSNP3 v3.0 を用いて *k*-mer length 19 にて最大節約法により系統樹を作成した。最適 *k*-mer 値の推定には、kSNP3 に内蔵されている Kchooser プログラムを利用した。系統樹の画像化には、FigTree v1.4.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>) を利用した。

(7) ゲノム上の変異部位の検出

前項において A5-miseq により assemble した contig は、Prokka v1.11 のパラメーター

を default に設定して annotation した。単一コピーの共通遺伝子は、Pan-genomes analysis pipeline (PGAP) v1.02 のパラメータを default に設定して検出した。可動性遺伝子(MGE)は、PHAST 及び Islandviewer 3 のパラメータを default に設定して検出した。検出された遺伝子は、CLC Genomics Workbench を用いて、参考株ゲノム上にマップした。参考株との比較で検出された非同義変異は、R v3.2.2 内の基本機能を用いてゲノムマップ上に棒グラフとして図示した。

4. 研究成果

(1) 有荚膜菌および無荚膜菌の同時分離

豚心内膜炎病変部 70 検体中 59 検体から *S. suis* のみが分離され、血清型は全て 2 型だった。59 検体中 31 検体からは有荚膜菌のみが分離され、2 検体からは無荚膜菌のみが分離されたが、残る 26 検体からは有荚膜菌と無荚膜菌の両方が分離された。

(2) MLST 解析

同一の豚心内膜炎病変部からそれぞれ 1 株ずつ選択した有荚膜菌と無荚膜菌 26 ペアでは、同一検体由来のペアは同じ ST であり、ST1 が 6 ペア、ST28 が 20 ペアだった。

(3) 有荚膜菌と無荚膜菌の系統関係

豚心内膜炎病変部由来 26 ペア 52 株の系統樹では、ST1 と ST28 に大きく分かれた。次に、ST1 および ST28 とで個々に見ると、同一心内膜炎病変由来のペアが最も類似しており、次に同一農場由来のペア同士が類似していた。しかし、少数のペアの中には、同一農場由来の有荚膜菌同士および無荚膜菌同士で最も類似しているものもあった。

(4) *cps* 遺伝子領域の変異と相補試験

豚心内膜炎病変部 7 検体由来の 7 ペアの有荚膜菌と無荚膜菌の *cps* 遺伝子領域のサンガー法による塩基配列決定の結果、4 ペアの無荚膜菌では 1~4 塩基の置換・挿入・欠失が起こっており、3 ペアでは 100~10,000 塩基ほどの連続した挿入・欠失があった。前者 4 ペアについては、変異が起こっていた *cps2E* または *cps2H* 遺伝子を相補するため、それぞれ pCps2E 及び pCps2H を導入したところ、いずれの形質転換体においても荚膜の発現を示す血清凝集反応が陽性となった。

(5) 単一コピーの共通遺伝子、*cps* 遺伝子領域、及び MGE 内の変異

豚心内膜炎病変部由来 26 ペア 52 株における非同義変異について、それぞれが属する ST1 及び ST28 の参考株との比較を行ったところ、荚膜合成遺伝子領域の発現調節に関わる *ccpA* 遺伝子への変異は見つからなかった。ST ごとに変異部位を調べると、ST1 では全体に変異は少なかったが、ST28 では比較的多くの非同義変異があり、その変異部位は各

ペアで異なっていた。しかし、殆どの変異は *cps* 遺伝子領域か、ST28 に見られた特定の MGE 内に見つかった。遺伝子当たりの最大非同義変異数は、ST1 と ST28 でそれぞれ 3 と 15 だったが、ST28 においては、その殆どが特定の MGE 内であることから、この部位の変異を除いてゲノム全体の変異頻度を計算すると、ST1 で 2.95×10^{-7} 、ST28 で 3.25×10^{-6} とほぼ同等であった。

(6) まとめ

系統樹分岐の順は ST 由来農場 ペアとなっており、菌株はペアごとに最終的に分岐していた。すなわち有荚膜菌と無荚膜菌という異なる表現型の菌同士であっても、同一病変部から分離された菌は最も近い関係性であった。この成績は、表現型の変化がそれぞれのペアおよび農場で別個に起こっていることを示している。また、一部の農場由来の菌で有荚膜菌同士および無荚膜菌同士が類似した例があったことは、農場に侵入した菌がそこに潜在し、次の感染源となっていることも示唆している。さらに、ペア同士の有荚膜菌と無荚膜菌を比較し、変異検出を行ったところ、全ての無荚膜菌は荚膜多糖合成遺伝子 (*cps*) 群に非同義置換を伴う変異があり、それらの変異だけが本菌の無荚膜化に関与することが明らかとなった。

<引用文献>

- Zhang J, Zhu J, Ren H, Zhu S, Zhao P, Zhang F, Lv H, Hu D, Hao L, Geng M, Gong X, Pan X, Wang C, Qi Z. Rapid visual detection of highly pathogenic *Streptococcus suis* serotype 2 using loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Clinical Microbiology* 51, 2013, 3250-3256
- Arai S, Tohya M, Yamada R, Osawa R, Nomoto R, Kawamura Y, and Sekizaki T. Development of loop-mediated isothermal amplification to detect *Streptococcus suis* and its application to retail pork meat in Japan. *Int. J. Food Microbiol.* 208, 2015, 35-42
- King S J, Leigh J A, Health P J, Luque I, Tarradas C, Dowson C G, Whatmore A M: Development of a multilocus sequence typing scheme for the pig pathogen *Streptococcus suis*: identification of virulent clones and potential capsular serotype exchange, *J Clin Microbiol*, 40, 2002, 3671 - 3680

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10件)

- Kumagai Y, Gilmour S, Ota E, Momose Y, Onishi T, Bilano V, Kasuga F, Sekizaki T. and Shibuya, K. Estimating the burden of foodborne diseases in Japan. *Bull. WHO.* 93, 2015,

540-549C. doi: 10.2471/BLT.14.148056.
関崎 勉 豚に潜む危険な病原体と農場におけるリスク管理 月刊 PIG JOURNAL 18(7), 2015, 16-18.
Arai S, Tohya M, Yamada R, Osawa R, Nomoto R, Kawamura Y, and Sekizaki T. Development of loop-mediated isothermal amplification to detect *Streptococcus suis* and its application to retail pork meat in Japan. Int. J. Food Microbiol. 208, 2015, 35-42. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.008.
Nomoto R, Maruyama F, Ishida S, Tohya M, Sekizaki T, and Osawa R. Reappraisal of the taxonomy of *Streptococcus suis* serotypes 20, 22, and 26: *Streptococcus parasuis* sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 65, 2015, 438-443. doi: 10.1099/ijs.0.067116-0.
Ishida S, Le H T T, Osawa R, Tohya M, Nomoto R, Kawamura Y, Takahashi T, Kikuchi N, Kikuchi K, and Sekizaki T. Development of an appropriate PCR system for 1 the reclassification of *Streptococcus suis*. J. Microbiol. Method. 107, 2014, 66-70. doi: 10.1016/j.mimet.2014.09.003.
Segura M, Zheng H, de Greeff A, Gao GF, Grenier D, Jiang Y, Lu C, Maskell D, Oishi K, Okura M, Osawa R, Schultsz C, Schwerk C, Sekizaki T, Smith H, Srimanote P, Takamatsu D, Tang J, Tenenbaum T, Tharavichitkul P, Hoa NT, Valentin-Weigand P, Wells JM, Wertheim H, Zhu B, Xu J, Gottschalk M. Latest developments on *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen: part 2. Future Microbiol. 9(5), 2014, 587-591. doi: 10.2217/fmb.14.15.
Segura M, Zheng H, de Greeff A, Gao GF, Grenier D, Jiang Y, Lu C, Maskell D, Oishi K, Okura M, Osawa R, Schultsz C, Schwerk C, Sekizaki T, Smith H, Srimanote P, Takamatsu D, Tang J, Tenenbaum T, Tharavichitkul P, Hoa NT, Valentin-Weigand P, Wells JM, Wertheim H, Zhu B, Gottschalk M, Xu J. Latest developments on *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen: part 1. Future Microbiol. 9(4), 2014, 441-444. doi: 10.2217/fmb.14.14.
Kerdsin A, Akeda Y, Hatrongjit R, Detchawna U, Sekizaki T, Hamada S, Gottschalk M, Oishi K. *Streptococcus suis* serotyping by a new multiplex PCR. J Med Microbiol. 63, 2014, 824-830. doi: 10.1099/jmm.0.069757-0.
Lakkitjaroen N, Takamatsu D, Okura M, Sato M, Osaki M, and Sekizaki T. Capsule loss or death: The position of mutations among capsule genes sways the destiny of *Streptococcus suis*. FEMS Microbiol. Lett. 354, 2014, 46-54. doi: 10.1111/1574-6968.12428.
Okura M, Lachance C, Osaki M, Sekizaki T, Maruyama F, Nozawa T, Nakagawa I, Hamada S, Rossignol C, Gottschalk M and Takamatsu D.

Development of a two-step multiplex PCR assay for typing of capsular polysaccharide synthesis gene clusters of *Streptococcus suis*. J. Clin. Microbiol. 52, 2014, 1714-1719. doi: 10.1128/JCM.03411-13.

[学会発表](計21件)

Tohya M, Watanabe T, Maruyama F, Arai S, Ota A, Nakagawa I and Sekizaki T. Isolation and comparative genome analysis of capsule-positive and -negative *Streptococcus suis* from porcine endocarditis. The 13th Korea-Japan International Symposium on Microbiology 2016, The K Hotel Gyeongju, Gyeongju city, Gyeongbuk, Korea, 2016.5.12-13.

Okura M, Osaki M, Maruyama F, Nozawa T, Murase K, Nakagawa I, Hamada S, Tohya M, Watanabe T, Sekizaki T, Takamatsu D. Differences in genetic competence among *Streptococcus suis* serotype 2 strains and a factor that affects the ability. The 13th Korea-Japan International Symposium on Microbiology 2016, The K Hotel Gyeongju, Gyeongju city, Gyeongbuk, Korea, 2016.5.12-13.

大倉正稔, 大崎慎人, 関崎 勉, 高松大輔 豚レンサ球菌の特定集団で見られた莢膜欠失による自然形質転換能の上昇 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪国際交流センター(大阪大学微生物病研究所), 2016.3.23-25.

高松大輔, 大倉正稔, 大崎慎人, 関崎 勉 Recovery of *Streptococcus suis* serotype 2 capsule and its virulence in vivo. 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪国際交流センター(大阪大学微生物病研究所), 2016.3.23-25.

渡辺孝康, 野澤孝志, 丸山史人, 中川一路, 関崎 勉 CRISPR を保有するバクテリオファージの系統学的普遍性 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪国際交流センター(大阪大学微生物病研究所), 2016.3.23-25.

遠矢真理, 渡辺孝康, 丸山史人, 新井沙倉, 大田 篤, 中川一路, 関崎 勉 *Streptococcus suis* の無莢膜化機序の比較ゲノム解析 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪国際交流センター(大阪大学微生物病研究所), 2016.3.23-25.

新井沙倉, Hyujung Kim, 遠矢真理, 渡辺孝康, 鈴木詠律子, 山田良子, 堂崎真一, 関崎 勉 *Streptococcus suis* 特異的 real-time PCR 法の開発と豚個体・飼料環境への応用 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪国際交流センター(大阪大学微生物病研究所), 2016.3.23-25.

関崎 勉, Nattakan Meekhanon, 遠矢真理, 新井沙倉, 高松大輔, 大倉正稔, 大崎慎人, 渡辺 孝康, 丸山 史人, 中川 一路 莢膜欠失によって獲得する異なる病原性: *Streptococcus suis* の場合 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪国際交流センター(大阪大

学微生物病研究所), 2016.3.23-25.
遠矢真理、新井沙倉、丸山史人、渡辺孝康、大田 篤、大倉正稔、高松大輔、大崎慎人、中川一路、関崎 勉 豚心内膜炎病変部に共存した *Streptococcus suis* 無莢膜株および有莢膜株の遺伝的近縁性とゲノム変異についての解析 第 158 回日本獣医学会学術集会、北里大学、十和田、2015.9.7-9.
遠矢真理、新井沙倉、丸山史人、大田篤、大倉正稔、高松大輔、中川一路、関崎 勉 豚心内膜炎病変部に共存した *Streptococcus suis* 無莢膜株および有莢膜株の起源の同一性について 第 47 回レンサ球菌研究会、宮崎大学、宮崎、2015.7.3-4.
新井沙倉、遠矢真理、山田良子、野本竜平、大澤 朗、関崎 勉 市販豚肉・内臓肉からの *Streptococcus suis* 分離と豚肉汚染ルートの推定 第 47 回レンサ球菌研究会、宮崎大学、宮崎、2015.7.3-4.
大倉正稔、野澤孝志、渡辺孝康、中川一路、高松大輔、大崎慎人、関崎 勉、浜田茂幸、丸山史人 ゲノム解析から明らかとなった *Streptococcus suis* における曖昧な種の境界及び進化の鍵となるスポット 第 88 回日本細菌学会総会、長良川国際会議場(岐阜大学医学部), 2015.3.26-28.
遠矢真理、新井沙倉、大倉正稔、高松大輔、大崎慎人、関崎 勉 豚心内膜炎病変部に共存する *Streptococcus suis* 無莢膜株および有莢膜株の遺伝学的性状 第 88 回日本細菌学会総会、長良川国際会議場(岐阜大学医学部), 2015.3.26-28.
新井沙倉、遠矢真理、野本竜平、大澤 朗、関崎 勉 日本の市販豚肉・内臓肉からの *Streptococcus suis* の検出と分離 第 88 回日本細菌学会総会、長良川国際会議場(岐阜大学医学部), 2015.3.26-28.
Tohya M, Ishida S, Okura M, Takamatsu D, Osaki M, Sekizaki T. Coexistence of encapsulated and unencapsulated *Streptococcus suis* cells in a single clinical specimen of porcine endocarditis. XIX Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases. Buenos Aires, Argentina, 2014.11.9-12.
Ishida S, Tohya M, Nomoto R, Osawa R, Sekizaki T. Detection and isolation of *Streptococcus suis* from retail pork meat and organs in Japan with Loop-mediated isothermal amplification. XIX Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases. Buenos Aires, Argentina, 2014.11.9-12.
Okura M, Nozawa T, Watanabe T, Nakagawa I, Takamatsu D, Osaki M, Sekizaki T, Kumagai M, Gottschalk M, Hamada S, Maruyama F. Genome sequencing of miscellaneous strains revealed the distinctive genes of the species "*Streptococcus suis*" and potentially hazardous populations for human. XIX Lancefield

International Symposium on Streptococci and Streptococcal Diseases. Buenos Aires, Argentina, 2014.11.9-12.

遠矢真理、石田沙倉、大倉正稔、高松大輔、大崎慎人、関崎 勉 豚心内膜炎病変部での有莢膜および無莢膜 *Streptococcus suis* の共存 第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道大学、2014.9.9-12.

石田沙倉、Le Hong Thuy Tien、大澤 朗、遠矢真理、野本竜平、河村好章、高橋樹史、菊池直哉、菊池 賢、関崎 勉 *Streptococcus suis* 検出のための信頼できる PCR 法の開発 第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道大学、2014.9.9-12.

大倉正稔、高松大輔、野澤孝志、渡辺孝康、中川一路、大崎慎人、関崎 勉、浜田茂幸、丸山史人 ゲノム比較により明らかになった *Streptococcus suis* に特徴的な遺伝子 第 46 回レンサ球菌研究会、東京大学、東京、2014.6.27-28.

野本竜平、石田沙倉、遠矢真理、関崎 勉、丸山史人、大澤 朗 *Streptococcus suis* 血清型 20, 22, 及び 26 のゲノム配列に基づく分類学的再検討 第 46 回レンサ球菌研究会、東京大学、東京、2014.6.27-28.

石田沙倉、遠矢真理、野本竜平、大澤 朗、関崎 勉 *Streptococcus suis* の再分類に対応する LAMP 法の開発と豚肉検査への応用 第 46 回レンサ球菌研究会、東京大学、東京、2014.6.27-28.

②遠矢真理、石田沙倉、大倉正稔、高松大輔、大崎慎人、新井紘胤、関崎 勉 同一個体の豚心内膜炎由来 *Streptococcus suis* の莢膜産生性の解析 第 46 回レンサ球菌研究会、東京大学、東京、2014.6.27-28.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関崎 勉 (SEKIZAKI TSUTOMU)
東京大学大学院農学生命科学研究科・教授
研究者番号：70355163

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

大崎慎人 (OSAKI MAKOTO)
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合
研究機構・動物衛生研究所・主任研究員
研究者番号：80355164

高松大輔 (TAKAMATSU DAISUKE)
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合
研究機構・動物衛生研究所・主任研究員
研究者番号：60414728

大倉正稔 (OKURA MASATOSHI)
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合
研究機構・動物衛生研究所・主任研究員
研究者番号：60508315