

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02856

研究課題名（和文）節足動物媒介ウイルスの特異な感染現象を反映したゲノム改変型宿主細胞の開発

研究課題名（英文）Development of gene-modified culture cells that reflect the specific infection events of arthropod-borne viruses

研究代表者

伊澤 晴彦（Isawa, Haruhiko）

国立感染症研究所・昆虫医科学部・室長

研究者番号：90370965

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：蚊媒介性ウイルス研究に有用な蚊由来培養細胞系の開発を試み、ネッタイシマカおよびヒトスジシマカから新規細胞株の樹立に成功した。これら細胞系は各種蚊媒介性ウイルスに対して異なる感受性を示すことが判明した。日本脳炎ウイルスの主要な媒介蚊であるコガタアカイエカの培養細胞NIID-CTRのゲノム配列解析を行い、参照ゲノムアセンブリを得た。また、トランスクリプトーム解析を行い、遺伝子予測や変異解析等を行った。

ウイルス分離・検出に汎用されるVero細胞と比較し、我々が分離したヒト肝がん細胞株Huh7.5.1-8細胞は、いくつかの昆虫及びダニ媒介性ウイルスに対して細胞変性効果が高いことが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により樹立に成功した蚊由来培養細胞系は、デングウイルス・ジカウイルス・黄熱ウイルスなど、蚊媒介性ヒト病原ウイルスに対する感受性や宿主範囲ならびに媒介能を規定する分子基盤解明に役立つと期待される。本研究で得られた結果から、NIID-CTR細胞のモデル細胞としての妥当性が示され、コガタアカイエカの生態やウイルスの媒介能に関する分子基盤を明らかにするための重要な情報基盤となると期待される。

我々が分離したHuh7.5.1-8細胞は、既存の昆虫及びダニ媒介性ウイルスの簡便な分離・検出に利用できることが期待され、また、未知の昆虫及びダニ媒介性ウイルスの分離・検出にも有用である可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We attempted to develop mosquito-derived cultured cell lines useful for mosquito-borne virus research, and succeeded in establishing new cell lines from *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. These cell lines were found to be differentially susceptible to various mosquito-borne viruses. De novo genome assembly was conducted for the NIID-CTR cell culture, which was derived from *Culex tritaeniorhynchus*. Obtained biological resources will benefit studies of population genetics and molecular mechanisms for virus transmission of this important vector mosquito.

We found that Huh7.5.1-8 cells, isolated from human hepatoma Huh 7 cells by us, were highly permissive to arthropod-borne viruses such as Japanese encephalitis virus, Sindbis virus, and severe fever with thrombocytopenia syndrome virus.

研究分野：衛生昆虫学

キーワード：節足動物媒介性ウイルス 宿主細胞 ゲノム科学 ゲノム編集 バイオインフォマティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 媒介節足動物の培養細胞株は、系統発生的に異なる宿主間を行き来するアルボウイルスの感染成立と宿主特異性の分子基盤解明に役立つ革新的なツールとなり、さらに病原体サーベイランスや検査・診断、予防ワクチン・治療薬開発など、新興・再興感染症の対策研究に有用なバイオ資源としての活用が期待される。蚊媒介ウイルスに関しては、ヒトスジシマカ由来の C6/36 細胞が世界中で最も汎用されているが、本細胞系は、抗ウイルス機構の一部が機能不全となった変異細胞株であり、本来ヒトスジシマカが媒介に関与しない多くの蚊媒介性ウイルスに対しても高い感受性を示すことが知られている。一方で、多種多様な蚊媒介性ウイルスは、それぞれに異なる種類の蚊によって媒介されることから、ウイルス増殖・伝播特性の正しい理解のためには、それぞれのウイルスに特異的または主要な媒介蚊種を用いた実験解析系の開発と利用が望まれる。また、ダニ媒介性ウイルス研究に有用な培養細胞に関しては、汎用性のあるものが少なく、とりわけ本邦で重要なウイルス媒介種の細胞系もこれまで樹立されていない。

一方、これら宿主生物である節足動物各種の全ゲノム情報は、その生物種に対して様々な遺伝学・分子生物学的な研究を行う上で必要不可欠な研究基盤である。我が国において重要な節足動物媒介性感染症である日本脳炎の主要な媒介蚊はコガタアカイエカ (*Culex tritaeniorhynchus*) であるが、本蚊種のゲノム配列は未だ明らかにされていない。

(2) ヒト肝がん細胞株 Huh7 に由来し、C 型肝炎ウイルス (HCV) に対する感染感受性が非常に高く、細胞変性効果も示す亜株 Huh7.5.1-8 細胞を我々は分離し、HCV 研究の有用なツールとなることを示してきた (JJID, 2015; J. Virol. 2015, 2018 等)。Huh7.5.1-8 細胞は自然免疫系の応答に欠損を示すことから、当該細胞は HCV のみならず、感染症研究において広く利用可能性があるのでと考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、日本脳炎・デング・ジカ・黄熱・重症熱性血小板減少症候群ウイルスなど、ヒトに病原性を示す節足動物媒介性ウイルスを対象に、バイオインフォマティクスやゲノム編集などのゲノム科学技術を活用して、節足動物 (蚊・ダニ) および霊長類 (ヒト・サル) それぞれの宿主細胞から、ウイルス感染増殖に影響を与える宿主遺伝子群をゲノムワイドに同定する。この知見をもとに、ウイルス感受性や増殖性が従来よりも各段に優れたゲノム改変宿主細胞を合理的に作出し、節足動物・霊長類間の感染現象を反映した新しい細胞培養感染実験系を創出につなげる。

(1) ウイルス高感受性の節足動物宿主細胞系の新規開発と特性解析

ウイルス媒介節足動物由来の新規培養細胞系の樹立を目的として、デング熱・ジカウイルス感染症等の媒介蚊であるネッタシマカ及びヒトスジシマカ、重症熱性血小板減少症候群等の媒介種と考えられているフタトゲチマダニの胚子を用いた初代培養を試みる。このうち得られた増殖性のある細胞集団をもとに、細胞株化に向けたさらなる継代培養を続ける。樹立された培養細胞の各種節足動物媒介性ウイルスに対する感受性等の性状解析を行う。

日本脳炎を媒介するコガタアカイエカ由来の培養細胞である NIID-CTR の全ゲノム配列を決定する。細胞および蚊個体について、発育ステージや組織別に転写物を対象とした全転写物解析 (RNA-seq) も併せて行う。得られたゲノムアセンブリに対して、RNA-seq で得た転写物の情報から遺伝子領域を特定しアノテーションを行う。また、近縁種ネッタシマカのゲノム情報も利用して効率的に遺伝子予測を行う。解読したゲノム情報については、NIID-CTR 細胞の改変に活用し、Vectorbase (媒介節足動物の統合ゲノムデータベース) など国際的なデータベースに登録し公開する。

(2) ウイルス高感受性の霊長類宿主細胞系の新規開発と特性解析

Huh7.5.1-8 細胞の感染症研究における宿主細胞としての有用性を検討する目的で、HCV 以外の昆虫媒介性ウイルスやダニ媒介性ウイルスに対する感染感受性を検討する。また、節足動物媒介性ウイルスの感染感受性・許容性や持続感染成立のメカニズムを解析するために、感染感受性・許容性の異なる細胞株の樹立を試み、これら細胞の解析を行うことも目的とした。

3. 研究の方法

(1) ウイルス高感受性の節足動物宿主細胞系の新規開発と特性解析

新規節足動物由来培養細胞系の作出

デング熱やジカウイルス感染症の媒介蚊であるネッタシマカとヒトスジシマカの胚子を用い、初代培養を行った。また、重症熱性血小板減少症候群ウイルスの媒介種とされるフタトゲチマダニの胚子を用い、初代培養を行った。これら初代培養細胞について、適宜培地の更新を行いながら培養を続け、安定した維持培養が可能になるまで継代を続けた。作出された細胞株につい

ては、各種節足動物媒介ウイルスに対する感受性を調べた。

日本脳炎ウイルス媒介蚊のゲノム解析

NIID-CTR 細胞から高分子 DNA を抽出し Oxford Nanopore MinION によるロングリード解析(7.6 Gb、N50=31 kb) および BGISEQ-500 によるショートリード解析(54 Gb、100PE)を行った。得られたリードを用いて、ハイブリッド *de novo* アセンブリを行った。

また、NIID-CTR 細胞および、国内(島根県)で採集されたコガタアカイエカの個体から RNA を抽出し、mRNA-seq 解析を行った。得られたデータを NIID-CTR ゲノム配列にマッピングし遺伝子予測を行った。

(2) ウイルス高感受性の霊長類宿主細胞系の新規開発と特性解析

節足動物媒介性ウイルスの Huh7.5.1-8 細胞及び Vero 細胞に対する感染能の比較

蚊媒介性ウイルスとして日本脳炎ウイルス(Japanese encephalitis virus; JEV)およびシンドビスウイルス(Sindbis virus; SINV)、ダニ媒介性ウイルスとして重症熱性血小板減少症候群ウイルス(severe fever with thrombocytopenia syndrome virus; SFTSV, Dabie bandavirus)を用いて、Huh7.5.1-8 細胞とウイルス分離・検出に汎用されるアフリカミドリザル腎由来 Vero 細胞とでウイルス感受性を比較した。

節足動物媒介性ウイルスに対する感染感受性の異なる HeLa 細胞の分離と性状解析

ヒト子宮頸がん由来 HeLa 細胞は一般的にウイルス感受性の低い細胞として知られる。クローニングした多数の HeLa 細胞亜株について、節足動物媒介性ウイルスに対する感染感受性を広く検討する。感染感受性の異なる株を選抜し、遺伝子発現解析を含めた性状解析を行う。

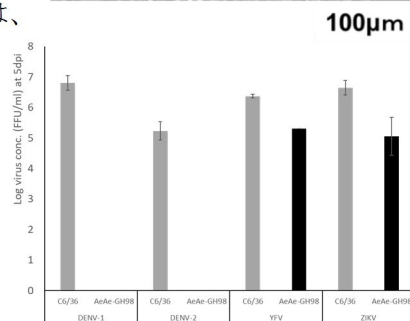
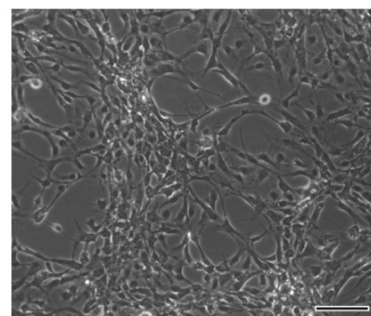
節足動物媒介性ウイルスに対する持続感染細胞株の樹立と性状解析

SINV や JEV に感染しても完全には死滅しない Vero 細胞を親株として、生き残る細胞を継代することで、SINV および JEV の持続感染感染株の樹立を試みる。樹立株について、遺伝子発現解析を含めた性状解析を行う。

4. 研究成果

(1) ウイルス高感受性の節足動物宿主細胞系の新規開発と特性解析

ウイルス媒介節足動物由来の新規培養細胞系の樹立を目的として、デング熱・ジカウイルス感染症等の媒介蚊であるネッタイシマカおよびヒトスジシマカ、および重症熱性血小板減少症候群等の媒介種と考えられているフタトゲチマダニの胚子を用いた初代培養を試みた。具体的には、それぞれの産下卵を表面殺菌した後、切断あるいは圧潰し、VP12 培地あるいは L-15B 培地(牛胎児血清 10-20%添加)を用いて初代培養を行った。適宜培地の更新を行いながら培養を続けたところ、一部の初代培養において細胞の増殖が確認された。これらの細胞集団の培養を継続して細胞株化を試みた。このうち、ネッタイシマカを用いた初代培養では、付着性細胞の顕著な増殖が確認された(右図)。引き続き split ratio 1:8-1:9 で継代を繰り返した結果、安定した維持培養が可能となった。樹立に成功した新規ネッタイシマカ細胞系 AeAe-GH98 の各種ヤブカ媒介性ウイルス感受性について調べた結果、デングウイルス・黄熱ウイルス・ジカウイルスに対して、それぞれに異なる感受性を示すことが明らかとなり(右表)、今後これらウイルスの感受性の差の要因や宿主範囲を規定する分子基盤解明を進める予定である。一方、既存のネッタイシマカの培養細胞系はいくつか存在するが、蚊媒介性ウイルスの増殖に影響を与える可能性のある潜在感染ウイルスが存在するなど、研究に使用する上で問題も多い。今回作成に成功した AeAe-GH98 細胞は、メタゲノム解析により、ウイルスフリーであることが確認された。また、凍結により長期保存が可能で、より汎用性のある市販培地への順化にも成功しており、今後、有用な *in vitro* 実験系としての活用が期待される。さらに、由来となったネッタイシマカの飼育系統も維持しているため、今後 *in vivo*, *in vitro* 双方の比較実験などの利用も可能である。



ヒトスジシマカの初代培養に関しても、ネッタイシマカと同様に連続継代が可能な細胞系の作出に成功した(未発表)。既存のヒトスジシマカの培養細胞系はいくつか存在するが、抗ウイルス関連遺伝子の変異や潜在感染ウイルスが存在するなど、研究に使用する上で問題も多い。今回作成に成功した新規培養細胞は、メタゲノム解析により、ウイルスフリーであることが確認された。また凍結保存が可能で、今後有用な *in vitro* 実験系としての活用が期待される。また同様に、由来となった飼育系統も継代維持しているため、今後 *in vivo*, *in vitro* 双方の比較実験としての利用も可能である。

一方、フタトゲチマダニの初代培養に関しては、ある程度の期間は細胞の維持ができたものの、持続的な増殖を示す細胞集団はこれまでに得られていない。今後、培地や培養条件の再検討が必要と考えられた。

Oxford Nanopore MinION および、BGISEQ-500 を用いたハイブリッド *de novo* アセンブリにより、コガタアカイエカ由来 NIID-CTR 細胞のゲノムアセンブリを得た(右表)。得られたアセンブリは総アセンブリサイズ約 500Mb で、contig の N50 は 219 kb であった。ゲノムアセンブリの完全性を示す指標である BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Ortholog) は 99.0% であった。これらの指標の値は、これまでに解析された近縁種の蚊のゲノムアセンブリと比べても遜色の無いものであり、コガタアカイエカについて良好な参照ゲノム配列が得られたと言える。

mRNA-seq 解析により得られたリードを、NIID-CTR 細胞のゲノムアセンブリにマッピングし、遺伝子予測を行った。コガタアカイエカの個体から得られたリードも NIID-CTR 細胞のゲノムアセンブリに高効率でマッピングされ、本研究によって得られたゲノムアセンブリがコガタアカイエカの参照配列として様々な用途に用いることができることが示唆された。また、野外で採集されたコガタアカイエカの個体の遺伝子型データと NIID-CTR 細胞のゲノムの遺伝子型データを集団遺伝学的に比較したところ NIID-CTR 細胞の遺伝子型は国内本州の遺伝的クラスターに属するという結果を得られた(右図)。遺伝学的にも NIID-CTR 細胞は国内のコガタアカイエカの集団を代表した培養細胞であると言える。

表 NIID-CTR 細胞ゲノムのアセンブリ統計

	ネッタイシマカ	ネッタイイエカ	コガタアカイエカ (本研究)
Genome size	1.28 Gb	579 Mb	507 Mb
Num scaffolds	4,758	3,172	2,053
Contig N50	11.6 Mb	28.5 Kb	219 Kb
Scaffold N50	409 Mb	486 Kb	2.0 Mb
Complete BUSCOs (Insecta_odb9)	98.8%	96.7%	99.0%

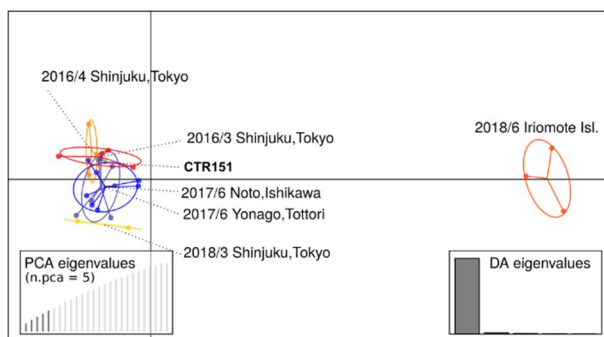


図 NIID-CTR 細胞遺伝子型の PCA クラスタリング

また今回行った蚊培養細胞を用いた一連のゲノム解析手法は、各種節足動物由来培養細胞を対象としたゲノム解析にも応用可能であり、節足動物媒介ウイルスの宿主細胞としての特性解明に有用であると考えられる。今後、これらの結果をゲノム改変宿主細胞の開発につなげていきたい。

(2) ウイルス高感受性の霊長類宿主細胞系の新規開発と特性解析

節足動物媒介性ウイルスの Huh7.5.1-8 細胞及び Vero 細胞に対する感染能の比較

Vero 細胞と比較して Huh7.5.1-8 細胞では、JEV、SINV、SFTSV すべてにおいて、ウイルス感染後の細胞変性効果(細胞死)がより早く認められることが分かった。すなわち、ウイルス感染の検出がより早期にできることが明らかとなった。感染後、Vero 細胞は完全には死滅しない(しにくい)が、Huh7.5.1-8 細胞では完全に死滅する。この結果から、節足動物媒介性ウイルスについても Huh7.5.1-8 細胞は有用な宿主細胞であることが示された。

節足動物媒介性ウイルスに対する感染感受性の異なる HeLa 細胞の分離と性状解析

SFTSV に対してウイルス感受性の異なる HeLa 亜株を数株分離した。これらの亜株の感受性の違いは、JEV に対しても同様の傾向が見られた。SINV についてもおおむねその傾向が見られた。これら細胞の遺伝子発現解析を行った結果、既知のウイルス感受性遺伝子に加え、様々な遺伝子発現変化の情報が得られた。これらの遺伝子の感染感受性・許容性への関与の検討を進めている。

節足動物媒介性ウイルスに対する持続感染細胞株の樹立と性状解析

Vero 細胞において、JEV(rAT)株の持続感染細胞株を樹立できた。SINV 単独の持続感染株は樹立できなかったが、SINV と JEV の共持続感染細胞は樹立できた。これら細胞株は 1 年間以上にわたり、持続感染を維持できることも確認した。非感染・JEV 一過性感染・持続感染細胞(2 種)間での遺伝子発現パターンを比較し、各感染形態に特徴的な遺伝子発現変化の情報を得て、大きな変化の見られた遺伝子についてウイルス増殖・持続性獲得に対する影響の解析を進めている。今後、これらの結果をゲノム改変型宿主細胞の開発につなげていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 20件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Kobayashi Daisuke, Watanabe Mamoru, Faizah Astri Nur, Ainoa-Bosompem Michael, Higa Yukiko, Tsuda Yoshio, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 58
2. 論文標題 Discovery of a Novel Flavivirus (Flaviviridae) From the Horse Fly, <i>Tabanus rufidens</i> (Diptera: Tabanidae): The Possible Coevolutionary Relationships Between the Classical Insect-Specific Flaviviruses and Host Dipteran Insects	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Medical Entomology	6. 最初と最後の頁 880 ~ 890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jme/tjaa193	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 Ainoa-Bosompem Michael, Kobayashi Daisuke, Itokawa Kentaro, Murota Katsunori, Faizah Astri Nur, Azerigyik Faustus Akankperiwen, Hayashi Takaya, Ohashi Mitsuko, Bonney Joseph H. Kofi, Dadzie Samuel, Tran Cuong Chi, Tran Phong Vu, Fujita Ryosuke, Maekawa Yoshihide, Kasai Shinji, Yamaoka Shoji, Ohta Nobuo et al.	4. 巻 14
2. 論文標題 Determining vector competence of Aedes aegypti from Ghana in transmitting dengue virus serotypes 1 and 2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parasites & Vectors	6. 最初と最後の頁 228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13071-021-04728-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 Kobayashi Daisuke, Kuwata Ryusei, Kimura Toshiya, Faizah Astri Nur, Higa Yukiko, Hayashi Toshihiko, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 166
2. 論文標題 Toyo virus, a novel member of the Kaisodi group in the genus Uukuvirus (family Phenuiviridae) found in Haemaphysalis formosensis ticks in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Archives of Virology	6. 最初と最後の頁 2751 ~ 2762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00705-021-05193-w	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 Kobayashi Daisuke, Kuwata Ryusei, Kimura Toshiya, Shimoda Hiroshi, Fujita Ryosuke, Faizah Astri Nur, Kai Izumi, Matsumura Ryo, Kuroda Yudai, Watanabe Shumpei, Kuniyoshi Sawako, Yamauchi Takeo, Watanabe Mamoru, Higa Yukiko, Hayashi Toshihiko, Shinomiya Hiroto, Maeda Ken, Kasai Shinji, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 13
2. 論文標題 Detection of Jingmenviruses in Japan with Evidence of Vertical Transmission in Ticks	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 2547 ~ 2547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v13122547	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 Amoa-Bosompem Michael, Kobayashi Daisuke, Faizah Astri Nur, Kimura Shohei, Antwi Ama, Agbosu Esinam, Pratt Deborah, Ohashi Mitsuko, Bonney Joseph H. Kofi, Dadzie Samuel, Ejiri Hiroko, Ohta Nobuo, Sawabe Kyoko, Iwanaga Shiroh, Isawa Haruhiko	4. 巻 167
2. 論文標題 Screening for tick-borne and tick-associated viruses in ticks collected in Ghana	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Archives of Virology	6. 最初と最後の頁 123 ~ 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00705-021-05296-4	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 Kobayashi Daisuke, Kuwata Ryusei, Kimura Toshiya, Faizah Astri Nur, Higa Yukiko, Hayashi Toshihiko, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 75
2. 論文標題 Detection of Quarantavirus-Like Sequences from Haemaphysalis hystricis Ticks Collected in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 195 ~ 198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2021.129	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 Amoa-Bosompem Michael, Kobayashi Daisuke, Murota Katsunori, Faizah Astri Nur, Itokawa Kentaro, Fujita Ryosuke, Osei Joseph Harold Nyarko, Agbosu Esinam, Pratt Deborah, Kimura Shohei, Kwofie Kofi Dadzie, Ohashi Mitsuko, Bonney Joseph H. Kofi, Dadzie Samuel, Sasaki Toshinori, Ohta Nobuo et al.	4. 巻 12
2. 論文標題 Entomological Assessment of the Status and Risk of Mosquito-borne Arboviral Transmission in Ghana	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 147 ~ 147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v12020147	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 Faizah Astri Nur, Kobayashi Daisuke, Isawa Haruhiko, Amo-Bosompem Michael, Murota Katsunori, Higa Yukiko, Futami Kyoko, Shimada Satoshi, Kim Kyeong Soon, Itokawa Kentaro, Watanabe Mamoru, Tsuda Yoshio, Minakawa Noboru, Miura Kozue, Hirayama Kazuhiro, Sawabe Kyoko	4. 巻 12
2. 論文標題 Deciphering the Virome of Culex vishnui Subgroup Mosquitoes, the Major Vectors of Japanese Encephalitis, in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 264 ~ 264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v12030264	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 Amoa-Bosompem Michael, Kobayashi Daisuke, Itokawa Kentaro, Faizah Astri Nur, Kuwata Ryusei, Dadzie Samuel, Hayashi Takaya, Yamaoka Shoji, Sawabe Kyoko, Iwanaga Shiroh, Isawa Haruhiko	4. 巻 56
2. 論文標題 Establishment and characterization of a cell line from Ghanaian Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) focusing on Aedes-borne flavivirus susceptibility	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal	6. 最初と最後の頁 792 ~ 798
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11626-020-00504-y	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 Kobayashi Daisuke, Murota Katsunori, Itokawa Kentaro, Ejiri Hiroko, Amo-Bosompem Michael, Faizah Astri Nur, Watanabe Mamoru, Maekawa Yoshihide, Hayashi Toshihiko, Noda Shinichi, Yamauchi Takeo, Komagata Osamu, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 11
2. 論文標題 RNA virome analysis of questing ticks from Hokuriku District, Japan, and the evolutionary dynamics of tick-borne phleboviruses	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ticks and Tick-borne Diseases	6. 最初と最後の頁 101364 ~ 101364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ttbdis.2019.101364	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 Faizah Astri Nur, Kobayashi Daisuke, Amo-Bosompem Michael, Higa Yukiko, Tsuda Yoshio, Itokawa Kentaro, Miura Kozue, Hirayama Kazuhiro, Sawabe Kyoko, Isawa Haruhiko	4. 巻 14
2. 論文標題 Evaluating the competence of the primary vector, Culex tritaeniorhynchus, and the invasive mosquito species, Aedes japonicus japonicus, in transmitting three Japanese encephalitis virus genotypes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Neglected Tropical Diseases	6. 最初と最後の頁 e0008986
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pntd.0008986	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 Ogawa Motohiko, Murae Mana, Gamba Ryutaro, Irie Takuya, Shimojima Masayuki, Saijo Masayuki, Noguchi Kohji, Fukasawa Masayoshi	4. 巻 28
2. 論文標題 L-DOPA, a treatment for Parkinson's disease, and its enantiomer D-DOPA inhibit severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in vitro	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 373 ~ 376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2021.11.005	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 Shimizu Yoshimi, Suzuki Takeru, Shirasago Yoshitaka, Kondoh Masuo, Suzuki Tetsuro, Wakita Takaji, Fukasawa Masayoshi	4. 巻 4
2. 論文標題 Antiviral Effects of the Anti-Occludin Monoclonal Antibody on Persistent Hepatitis C Virus Infection in a Human Liver Chimeric Mouse Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BPB Reports	6. 最初と最後の頁 142 ~ 147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpbreports.4.5_142	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 Ogawa Motohiko, Shirasago Yoshitaka, Tanida Isei, Kakuta Soichiro, Uchiyama Yasuo, Shimojima Masayuki, Hanada Kentaro, Saijo Masayuki, Fukasawa Masayoshi	4. 巻 27
2. 論文標題 Structural basis of antiviral activity of caffeic acid against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 397 ~ 400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2020.10.015	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 Shimizu Yoshimi, Shinoda Takehiro, Shirasago Yoshitaka, Kondoh Masuo, Shinya Naoko, Hanada Kentaro, Yagi Kiyohito, Suzuki Tetsuro, Wakita Takaji, Kimura Someya Tomomi, Shirouzu Mikako, Fukasawa Masayoshi	4. 巻 595
2. 論文標題 Occludin binding single chain variable fragment and antigen binding fragment antibodies prevent hepatitis C virus infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 220 ~ 229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13975	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 Ogawa Motohiko, Shimojima Masayuki, Saijo Masayuki, Fukasawa Masayoshi	4. 巻 27
2. 論文標題 Several catechins and flavonols from green tea inhibit severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in vitro	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 32 ~ 39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2020.08.005	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 Shirasago Yoshitaka, Inamori Yoko, Suzuki Takeru, Tanida Isei, Suzuki Tetsuro, Sugiyama Kazuo, Wakita Takaji, Hanada Kentaro, Fukasawa Masayoshi	4. 巻 42
2. 論文標題 Inhibition Mechanisms of Hepatitis C Virus Infection by Caffeic Acid and Tannic Acid	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 770 ~ 777
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b18-00970	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 Shimizu Yoshimi, Yoneda Kohei, Shirasago Yoshitaka, Suzuki Takeru, Tada Minoru, Ishii-Watabe Akiko, Sugiyama Kazuo, Suzuki Tetsuro, Wakita Takaji, Yagi Kiyohito, Kondoh Masuo, Fukasawa Masayoshi	4. 巻 514
2. 論文標題 Human-rat chimeric anti-occludin monoclonal antibodies inhibit hepatitis C virus infection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 785 ~ 790
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.05.019	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 Shimizu Yoshimi, Shirasago Yoshitaka, Suzuki Takeru, Hata Tomoyuki, Kondoh Masuo, Hanada Kentaro, Yagi Kiyohito, Fukasawa Masayoshi	4. 巻 166
2. 論文標題 Characterization of monoclonal antibodies recognizing each extracellular loop domain of occludin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 297 ~ 308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvz037	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 Fujita Ryosuke, Kato Fumihiro, Kobayashi Daisuke, Murota Katsunori, Takasaki Tomohiko, Tajima Shigeru, Lim Chang-Kweng, Saijo Masayuki, Isawa Haruhiko, Sawabe Kyoko	4. 巻 4
2. 論文標題 Persistent viruses in mosquito cultured cell line suppress multiplication of flaviviruses	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e00736 ~ e00736
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heliyon.2018.e00736	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24件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 松村凌, 小林大介, Astri Nur Faizah, 糸山享, 伊澤晴彦
2. 発表標題 蚊・マダニ由来培養細胞に潜在感染するウイルスの探索と同定
3. 学会等名 第72回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐々木年則, ベルツース・G・アーリン, 伊澤晴彦, 高崎智彦, 皆川昇, 沢辺京子
2. 発表標題 ネッタイシマカのデングウイルス感受性関連遺伝子の解析
3. 学会等名 第72回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鎌田龍星, 黒木俊郎, 松井利康, 石嶋慧多, 立本完吾, 小林大介, 伊澤晴彦, 高野愛, 下田宙, 藤井ひかる, 畑明寿, 宇根有美, 森川茂, 前田健, 吉川泰弘
2. 発表標題 アオダイショウ由来培養細胞の性状解析
3. 学会等名 第73回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松村凌, 小林大介, 渡辺護, 比嘉由紀子, 沢辺京子, 糸山享, 伊澤晴彦
2. 発表標題 キンイロヌマカから分離された新規フラビウイルスの性状解析
3. 学会等名 第73回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊澤晴彦, マイケル・アモア-ボソムペム, 小林大介, 鎌田龍星, 糸川健太郎, アシトリ・ヌー・ファイザー, 岩永史朗
2. 発表標題 ガーナ産ネッタイシマカ由来新規培養細胞系の樹立と性状解析
3. 学会等名 第73回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Azerigyik F, Kobayashi D, Amoa-Bosompem M, Faizah AN, Iwanaga S, Isawa H
2. 発表標題 Evaluation of the growth kinetics of Getah virus in a scope of mosquito cell lines
3. 学会等名 第73回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鎌田龍星, 黒木俊郎, 松井利康, 石嶋慧多, 立本完吾, 小林大介, 伊澤晴彦, 高野愛, 下田宙, 藤井ひかる, 宇根有美, 森川茂, 前田健, 吉川泰弘
2. 発表標題 アオダイショウおよびシマヘビ由来培養細胞の性状解析
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Azerigyik FA, Kobayashi D, Amoa-Bosompem M, Faizah AN, Iwanaga S, Isawa H
2. 発表標題 Evaluation of the growth kinetics of Getah virus in a scope of mammalian and mosquito cell cultures
3. 学会等名 American Society of Tropical Medicine & Hygiene 70th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Faizah AN, Kobayashi D, Maekawa Y, Ahoa-Bosompem M, Fauziyah S, Mulyatno KC, Subekti S, Rohmah EA, Lusida MI, Mori Y, Miura K, Hirayama K, Isawa H, Sawabe K
2. 発表標題	Arbovirus surveillance and Japanese encephalitis virus genotype IV isolation from Culex vishnui mosquitoes collected on Bali Island, Indonesia
3. 学会等名	American Society of Tropical Medicine & Hygiene 70th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	松村凌, 小林大介, 渡辺護, 比嘉由紀子, 沢辺京子, 伊澤晴彦, 糸山享
2. 発表標題	キンイロヌマカのRNAウイルス叢解析および分離された新規フラビウイルスの性状解析
3. 学会等名	第66回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	佐々木年則, 小滝徹, 田島茂, モイ・メンリン, 斎藤一三, 林昌宏, 小林大介, 伊澤晴彦, 高崎智彦, 沢辺京子
2. 発表標題	本邦産ヒトスジシマカのデングウイルス感受性
3. 学会等名	第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Michael Ahoa-Bosompem, Daisuke Kobayashi, Katsunori Murota, Astri Nur Faizah, Mitsuko Ohashi, Toshinori Sasaki, Haruhiko Isawa, Kyoko Sawabe, Shiro Iwanaga
2. 発表標題	Comparing the competence of Ghanaian and Vietnamese Aedes mosquitoes as vectors of the dengue virus
3. 学会等名	第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名 糸川健太郎, 小林大介, 伊澤晴彦, 比嘉由紀子, 葛西真治, 駒形修, 富田隆史, 黒田誠, 沢辺京子
2. 発表標題 コガタアカエイカ NIID-CTR 細胞の新規全ゲノムアセンブリ
3. 学会等名 第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Astri Nur Faizah, Daisuke Kobayashi, Michael Amoa-Bosompem, Haruhiko Isawa, Kyeong Soon Kim, Mamoru Watanabe, Kozue Miura, Kazuhiro Hirayama, Kyoko Sawabe
2. 発表標題 Virome analysis of Japanese encephalitis vector, Culex tritaeniorhynchus, collected from three prefectures in Japan
3. 学会等名 第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林大介, Astri Nur Faizah, Michael Amoa-bosompem, 室田勝功, 糸川健太郎, 渡辺護, 比嘉由紀子, 前川芳秀, 沢辺京子, 伊澤晴彦
2. 発表標題 次世代シーケンサーを用いたマダニ保有ウイルスのサーベイランス
3. 学会等名 第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊澤晴彦, 江尻寛子, 林昌宏, 藤田龍介, 室田勝功, 小林大介, 楢田龍星, 下田宙, 前田健, 菅美樹, 木村俊也, 四宮博人, 沢辺京子
2. 発表標題 愛媛県で捕集されたマダニから分離された新規トゴトウイルスの性状解析
3. 学会等名 第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤田龍介, 江尻寛子, 山内健生, 糸川健太郎, 伊澤晴彦, 小林大介, 室田勝功, 前川芳秀, 沢辺京子
2. 発表標題 ツシマヤマネコ咬着タカサゴキララマダニからの Jingmen tick virus の分離
3. 学会等名 第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 室田勝功, 白藤浩明, 石井圭子, 小林大介, 伊澤晴彦, 梁瀬徹
2. 発表標題 2014 年から 2017 年の沖縄県八重山諸島における牛アルボウイルスのサーベイランス
3. 学会等名 第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 沢辺京子, 比嘉由紀子, 小林大介, 前川芳秀, 今西望, 林利彦, 伊澤晴彦, 渡辺 護
2. 発表標題 北陸三県の渡り鳥飛来地におけるマダニ相調査
3. 学会等名 第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鳥井駿, 楯田龍星, Spriyono, 下田宙, Thanmaporn Phichitraslip, Sathaporn Jittapalapong, Worawut Rerkamnuaychoke, Upik Kesumawati Hadi, Agus Setiyono, Srihadi Agungpriyono, 糸川健太郎, 伊澤晴彦, 沢辺京子, 前田健
2. 発表標題 蚊ゲノムに内在化したウイルス様配列の遺伝子構造解析
3. 学会等名 第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木年則, 小滝徹, 田島茂, モイ メンリン, 斎藤一三, 林 昌宏, 小林大介, 伊澤晴彦, 高崎智彦, 澤邨京子
2. 発表標題 ヒトスジシマカのデングウイルス感受性に見られる地域性
3. 学会等名 日本比較免疫学会第31回学術集会・第30回日本生体防御学会学術総会合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasutsugu Suzuki, Artem Baidaliuk, Lionel Frangeul, Daisuke Kobayashi, Hervé Blanc, Haruhiko Isawa, Louis Lambrechts, Maria-Carla Saleh
2. 発表標題 Functional investigation of endogenous flaviviral elements in Aedes mosquitoes
3. 学会等名 The 18th Workshop "Cell Biology of Viral Infections" of the German Research Platform for Zoonoses and German Society of Virology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Michael Amodia-Bosompem, Daisuke Kobayashi, Katsunori Murota, Astri Nur Faizah, Kentaro Itokawa, Mitsuko Ohashi, Samuel Dadzie, Kofi J. Bonney, Toshinori Sasaki, Haruhiko Isawa, Kyoko Sawabe, Shiroh Iwanaga
2. 発表標題 COMPARING THE COMPETENCE OF GHANAIAN AND VIETNAMESE Aedes MOSQUITOES AS VECTORS OF THE DENGUE VIRUS
3. 学会等名 ASTMH 68th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Astri Nur Faizah, Daisuke Kobayashi, Michael Amodia-Bosompem, Haruhiko Isawa, Kyeong Soon Kim, Mamoru Watanabe, Kozue Miura, Kazuhiro Hirayama, Kyoko Sawabe
2. 発表標題 DISEASE SURVEILLANCE AND VIROME ANALYSIS STUDY OF JAPANESE ENCEPHALITIS VECTOR, Culex tritaeniorhynchus, COLLECTED FROM THREE PREFECTURES IN JAPAN
3. 学会等名 ASTMH 68th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019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	深澤 征義 (Fukasawa Masayoshi) (20291130)	国立感染症研究所・細胞化学部・部長 (82603)	
研究分担者	駒形 修 (Komagata Osamu) (20435712)	国立感染症研究所・昆虫医科学部・主任研究官 (82603)	
研究分担者	沢辺 京子 (Sawabe Kyoko) (10215923)	国立感染症研究所・昆虫医科学部・主任研究官 (82603)	

	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
研究協力者	糸川 健太郎 (Itokawa Kentaro)		
研究協力者	小林 大介 (Kobayashi Daisuke)		
研究協力者	鎌田 龍星 (Kuwata Ryusei)		

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
---------	---------