

平成22年 3 月 31日現在

研究種目： 基盤研究 (C)
 研究期間： 2007 ~ 2009
 課題番号： 19590588
 研究課題名 (和文) 大分地域の日本脳炎ウイルス流行株の遺伝子変異
 研究課題名 (英文) Molecular evolution of Japanese encephalitis virus isolates circulating in Oita areas.
 研究代表者
 牧野 芳大 (MAKINO YOSHIHIRO)
 大分大学・医学部・教授
 研究者番号： 60039930

研究成果の概要 (和文)： 大分地域で流行している日本脳炎 (日脳) ウイルスの遺伝子変異を解析するため、1980~2009年の30年間に大分地域で流行した35株の日脳ウイルスのエンベロープ遺伝子の塩基配列を決定した。その結果、日脳ウイルスは1990年代中頃に遺伝子型III型からI型へ入れ替り今日に至っている。III型、I型共に自然環境下での遺伝子変異の選択圧はほぼ同じであり、III型からI型へ入れ替った現象は大分地域の自然環境がI型に有利に働いたことではないと思われるコガタアカイエカばかりでなく、アカイエカも日脳ウイルスに感受性を示した。

研究成果の概要 (英文)： In order to identify the patterns of genetic change of Japanese encephalitis virus (JEV) strains circulating in Oita, the complete envelope gene has been sequenced for 35 isolates from swine in a 30-year span. Based on nucleotide and deduced amino acid sequences, the genetic variation was examined, phylogeny was estimated and selection pressures were also analyzed. This study demonstrated that the major genotype (G) of JEV isolates had shifted from GIII to GI in the mid-1990s in Oita. The intensities of selection acting on the Oita GIII and GI strains were found to be almost same. It suggests that the intensity of selection might not be the reason for such a genotype shift observed in Oita. JEV can grow in the *Culex pipiens pallens* as well as *C. tritaeniorhynchus*.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 衛生学

キーワード： 日本脳炎ウイルス, 大分分離株, エンベロープ遺伝子, 分子系統樹.

1. 研究開始当初の背景 | 日本脳炎 (日脳) の予防接種の積極的勧奨が

中止され（平成 17 年），また新たなワクチンの認可も遅れ，日脳ウイルス抗体陰性の小児が増加することが予想された．然るに日脳ウイルスは西日本では依然として毎年夏期に分離され，増幅動物であるブタの抗体保有率も毎年 80%以上になることから，日脳が再流行することが危惧される．我々は，日本国内に分布する日脳ウイルスが 1990 年代中頃を境に遺伝子型 III 型から I 型に入れ替わったことを見出し報告した．

一方，ブタの飼育施設が大規模化したことで，一旦有毒化が豚舎に侵入すると大量のウイルスが長期間産生され，その結果ウイルス遺伝子の変異が速まることが予想された．

2. 研究の目的

(1) 大分地域における日脳ウイルスの流行状況を，哺乳動物における自然宿主であるブタの血清中の日脳ウイルス抗体保有状況から判定する．また，血清からのウイルス分離を行う．

(2) ブタの血液からバフィコート分画（主に単球およびリンパ球）を採取し，これらの細胞分画中の日脳ウイルス遺伝子の検出を行い，血液中でのウイルスの持続感染について検討する．

(3) 過去 30 年間に大分地域で分離された日脳ウイルス株のエンベロープ遺伝子の塩基配列を決定し，定点（大分地域）における日脳ウイルス遺伝子の経時的变化を調べる．

(4) I 型および II 型の日脳ウイルスの遺伝子の選択圧を調べる．

(5) 国内に生息するアカイエカの日脳ウイルスに対する感受性を検討する．

(6) 大分県下でのアルボウイルス媒介蚊の動態を知るために，蚊の活動のモニタリング調査を実施する．

3. 研究の方法

(1) 日脳流行期にと畜場に搬入されたブタ血液から血清を分離し，培養細胞（Vero または C6/36 細胞）に接種しウイルス分離を行った．2000 年以前のウイルス株は大分県衛生環境研究センター（衛環研）で分離したものを用いた．分離ウイルスは日脳ウイルス抗体を用いた免疫染色法（PAP 法）および遺伝子増幅法（RT-PCR）を用いて日脳ウイルスであることを確かめた．ブタ血清中の抗体測定データは衛環研のデータを使用した．

(2) 2008 年に同一飼育場で飼育されたブタの血液を経時的に採取し，バフィコート分画を採取し，遺伝子増幅法（nested-RT-PCR）でウイルス遺伝子の増幅を試みた．増幅された遺伝子は塩基配列を決定し，日脳ウイルスの遺伝子であることを確かめた．

(3) 分離ウイルス（過去 30 年間の 35 株）の感染細胞培養上清から，RNA を精製し，エン

ベロープ遺伝子の全塩基配列（1500 塩基）を決定した．ウイルス株間の相同性を比較した．また，既にジーンバンクに登録されている代表的な日脳ウイルスの塩基配列情報に加え分子系統樹を作成した．コンピュータ解析には MEGA4, PAML, MR BAYES, Datamonkey 等のソフトウェアを用いた．

(4) 日本産アカイエカの日脳ウイルスに対する感受性を検討した．

アカイエカ *Culex pipiens pallens* は，羽化 1 週間後の未吸血アカイエカ雌成虫，日脳ウイルスは，北京株，JaGAr01 株，JaTh160 株，および三重株を用いた．PBS(-)液で洗ったヒト赤血球に等量のウイルス液を加えた液に最終濃度 2%の蔗糖を加え，脱脂綿に含ませて蚊に与えた．経口感染蚊は，14 日間 28°C で飼育した．蚊の感染実験は BSL3 施設で行った．実施に際し，大分大学医学部動物実験委員会から承認を得た．

アカイエカの吸液量を約 3.3ul として，蚊個体毎のウイルス力価を免疫フォーカスカウント法（PAP）で算出した．アカイエカ 1 個体毎に 2%FBS 含 MEM 中でホモジナイズし，その遠心上清の濾過液を，10 倍段階希釈し Vero 細胞に接種して PAP 染色を行った．

(5) 大分県下のアルボウイルス媒介蚊を調査するため，ドライアイス，あるいは小型炭酸ガスボンベを用いた CDC ライトトラップを用いて，人家周辺および牛舎で蚊の採集を行った．

4. 研究成果

(1) 大分地域では毎年 7 月にブタ血清中の日脳ウイルス抗体（IgG，・IgM）保有率が上昇し始めた．抗体保有率は毎年 50%を超えた（図 1）．ブタ血清からウイルスが分離されたのは，年によって異なるが 7 月初旬から 11 月中旬の期間であった．

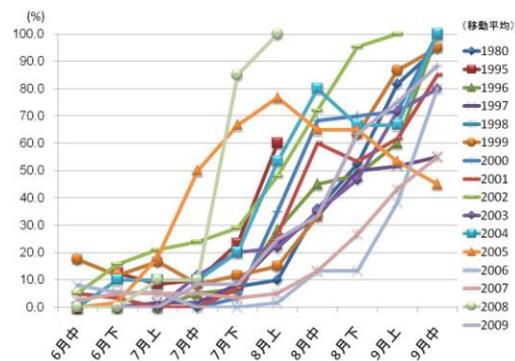


図 1 ブタ血清中の月別，年度別抗体保有率

(2) 2008 年度はブタ血清中の抗体価測定（ELISA 法）と共にバフィコート分画を分離し，nested-RT-PCR を行い，日脳ウイルスの

遺伝子の検索を行った(図2). ELISA法で抗体が検出される直前にウイルスが分離され、またバフイコート分画中の細胞にも日脳の遺伝子が検出された. 詳細にみると、ウイルスが分離されるのはELISA-OD:0の時であるのに対し、バフイコート中の細胞に遺伝子が検出されるのはELISA-OD:0.2以下であった. ELISA-ODが0.2以上になると細胞内の遺伝子は検出されなくなった. ウイルス分離または遺伝子検出ができたのは採集日が7月24日と7月31日の2回のみであった. 健康なブタでは、日脳ウイルスは血液細胞内で持続感染する可能性は低いと思われる. 即ちブタが抗体陽性であれば、蚊は吸血によって日脳ウイルスの感染は起きないと思われる.

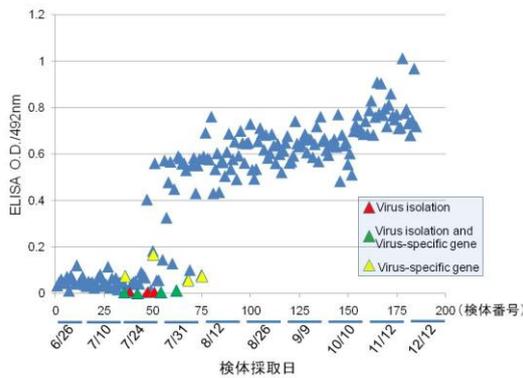


図2 抗体価とウイルスの分離、遺伝子検索結果の経時変化

(3) 30年間に分離されたウイルス35株のエンベロップ遺伝子の塩基配列を決定した. 全て1500塩基からなっていた. 同じ年の分離株で同一の塩基配列を持つ株はそのうちの1株のみを用い、合計30株を用いて以下の研究を行った.

- ① 株間の塩基配列および推測されるアミノ酸配列の相同性:
30株の塩基配列をペアワイズに比較し、その変異数を表にした. 相同性からみると、大分分離株は1980年代のグループと1995年以降のグループの2つに分けることができる. 各グループ内での塩基配列の違いは1ケタ、或いは2ケタであるのに対し、グループ間では3ケタの塩基の変異が見られた(表1).

表1 大分分離株間の塩基・アミノ酸の変異数の比較

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
(1) OT136_1980	1	0	1	4	2	2	1	2	2	2	5	6	6	5	5	6	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
(2) OT205_1980	40	1	0	3	1	1	0	1	1	1	4	4	5	4	4	5	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
(3) OT241_1981	8	40	1	4	2	2	1	2	2	2	5	6	6	5	5	6	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
(4) OT46_1989	185	43	55	3	1	0	1	1	1	1	4	4	5	4	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
(5) OT160_1989	54	44	54	3	4	4	3	2	4	2	7	7	8	7	7	8	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
(6) OC90_1989	54	42	54	1	2	2	1	2	2	2	5	6	6	5	5	6	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
(7) OT131_1989	49	33	49	34	33	1	1	1	1	1	4	4	5	4	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
(8) OT149_1989	55	43	55	2	3	1	3	4	1	1	4	4	5	4	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
(9) OC81_1989	48	32	48	33	34	32	3	3	3	2	5	6	6	5	5	6	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
(10) OC82_1989	56	44	56	3	4	2	3	3	3	4	2	5	6	6	5	5	6	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
(11) OC10_1989	49	33	49	34	33	3	3	3	3	4	2	5	6	6	5	5	6	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
(12) OT99_1995	178	170	178	182	181	181	184	182	183	183	184	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(13) OT167_1995	177	169	177	181	180	180	183	181	182	182	183	3	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(14) OT163_1995	182	172	182	187	186	186	185	187	184	188	185	7	6	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
(15) OT104_1999	181	171	181	186	185	185	184	186	183	187	184	6	5	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(16) OT120_2003	180	172	180	184	183	183	186	184	185	185	186	22	21	27	26	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(17) OT113_2003	181	173	181	185	184	184	187	185	186	186	187	23	22	28	27	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(18) OT101_2003	180	170	180	186	185	185	186	185	186	187	186	23	22	28	27	23	24	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
(19) OT148_2003	181	173	181	185	184	184	187	185	186	186	187	22	21	27	26	4	5	23	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(20) OT189_2003	181	173	181	185	184	184	187	185	186	186	187	26	25	31	30	5	9	27	8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
(21) OT12_2005	176	170	176	184	183	183	186	184	185	185	186	26	25	31	30	24	25	26	24	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(22) OT192_2006	182	172	182	184	183	183	187	184	186	186	187	20	19	25	24	20	21	19	20	24	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(23) OT169_2006	181	171	181	183	182	182	186	183	185	184	186	19	18	24	23	19	20	18	19	23	21	1	0	1	0	0	0	0	0	0
(24) OT181_2006	176	170	176	184	183	183	186	184	185	185	186	26	25	31	30	24	25	26	24	28	0	22	21	1	0	0	0	0	0	0
(25) OT87_2007	178	170	178	184	183	183	186	184	185	185	186	28	27	33	32	26	27	27	26	30	2	24	23	2	1	1	1	1	1	1
(26) OT127_2007	176	170	176	184	183	183	186	184	185	185	186	28	27	33	32	26	27	27	26	30	3	24	23	2	1	1	1	1	1	1
(27) OT27_2008	176	169	176	183	182	182	185	183	184	184	185	27	26	32	31	25	26	26	25	29	1	23	22	1	3	1	0	0	0	0
(28) OT36_2008	176	169	176	183	182	182	185	183	184	184	185	27	26	32	31	25	26	26	25	29	1	23	22	1	3	1	0	0	0	0
(29) OT123_2009	175	169	175	183	182	182	185	183	184	184	185	27	26	32	31	25	26	26	25	29	1	23	22	1	3	1	0	0	0	0
(30) OT141_2009	184	176	184	186	185	185	188	186	187	187	188	30	29	35	34	26	27	19	26	28	30	26	25	30	32	32	31	32	31	

△ No. of nucleotide differences ▽ No. of amino acid differences

② 分子系統樹の作成:

大分分離株30株, ジーンバンクから35株, 日脳ウイルス以外の類縁ウイルスであるマレーバレー脳炎ウイルス(MVE)を加えた66株について、ベイズ法で分子系統樹を作成した(図3).

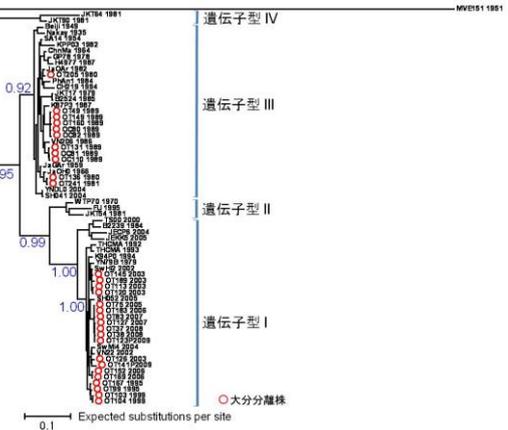


図3 ベイズ法による日本脳炎ウイルスの分子系統樹. (GTR-Iモデルで300万回試行. ○印は大分分離株. ウイルスの株名は短縮した名称. 詳細は参考文献を参照)

1980年代の大分分離株は全て遺伝子型 III型, 1995年以降の株は全て遺伝子型 I型に分類された. 最近流行している遺伝子型 I型の系統を更に詳細に図4に示した. 大分地域で最近流行している7株は独立したグループ(clade7)をつくっている. このグループのウイルスは2005~2009年に大分で分離された株で、互いに0~2個の塩基置換のみである. また、このグループには他のグループには見られない12か所の特有の塩基置換が共通して存在する. このことは、clade7のウイルスは2005年以降大分地域で継代され流行していると思われる. またこのグループには2005年に上海で分離された株(SH052 2005)が含

まれている。この上海株と大分分離株は共通の祖先から分岐している。2009年には Clade6 に属する株 (OT141P2009) が同じ豚舎から分離されている。この株は 2003年に分離された株に最も近縁で、三重株やベトナム株 (VN22 2002) と共通の祖先から分岐している。系統樹から推測すると、大分地域で流行している株は東南アジアから頻りに持ち込まれたものであり、そのような株が近年は土着していると思われる。

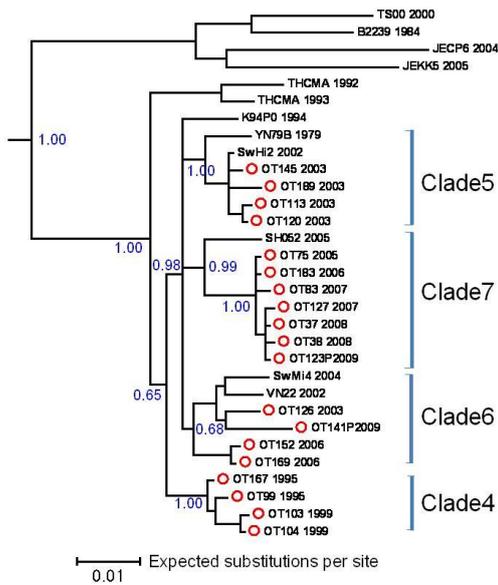


図4 遺伝子型 I 型の系統樹。(根部の数字は系統の信頼性を示す)

遺伝子型 I 型の Clade4~7 の流行パターンを図5に示した。



図5 各 clade の流行パターン。大分株の分離年には色を付けた。

日脳ウイルスは年によって異なった clade に属するウイルスが流行しており、また、年によって複数の clade に属するウイルスが同じ豚舎でも流行していることが明らかとなった。

遺伝子型 I 型のウイルスが III 型のウイルスと入れ替り短期間に日本全土に拡散していったことから、III 型と I 型の自然環境下での両型のウイルスの選択圧をコンピュータで解析 (ソフトウェアは MEGA4 および Datamonkey を用いた) した。遺伝子型 I, II 共に強い負の自然選択を受けている。しかし興味あることに、最近の clade 7 に

属するウイルスは他の clade のウイルスに比べ、負の選択圧は弱いことが判明した。即ち、Datamonkey 解析では全 GI 大分株の dN/dS は 0.022 であるのに対し、clade7 の dN/dS は 0.084 であった。

- (4) アカイエカの日本脳炎ウイルス感受性:
高濃度の日本脳炎ウイルス液を経口摂食した蚊では、いずれの株でも 100% の感染が成立した (表 2)。10 倍希釈したウイルス液では 50% の感染率となり、さらに 10 倍希釈では、いずれの株でも感染は成立しなかった (表 2)

表 2 力価の異なる日脳ウイルスに経口感染したアカイエカのウイルス感染率

ウイルス株	Stock virus 力価 *	経口感染14日後の生存雌蚊	
		感染蚊数/供試数 (%) **	
北京(ワクチン株)	1.0×10^8	4/4 (100%)	
	1.0×10^7	2/4 (50%)	
	1.0×10^6	0/1 (0%)	
Jath16	2.3×10^8	4/4 (100%)	
	1.0×10^7	2/4 (50%)	
	1.0×10^6	0/1 (0%)	
JaGAR01	2.0×10^8	4/4 (100%)	
	1.0×10^7	2/4 (50%)	
	1.0×10^6	0/1 (0%)	
三重41	4.0×10^8	4/4 (100%)	
	1.0×10^7	2/4 (50%)	
	1.0×10^6	0/1 (0%)	

* 蚊は 28°C で 14 日間飼育後にハーベスト

** PAP 法によるウイルス力価 (FFU/ml)

*** 蚊 1 個体の吸液量: 3.3ul ($3.3 \times 10^5 \sim 1.32 \times 10^6$, 3.3×10^4 , 3.3×10^3 FFU 相当)

100% の感染率を示した蚊のウイルス力価は、ほぼ同程度であった (表 3)。しかし、50% 感染率を示したウイルス力価つまり 3.3×10^4 の 4 乗を取り込んだ蚊では、感染が成立した蚊個体間でのウイルスの増殖のバラツキが認められた (表 4)。さらにこのことがウイルス株間での差にも影響した (表 3)。

表3 高濃度の日脳ウイルス液を経口感染したアカイエカ雌成虫体内でのウイルス増殖

ウイルス株	Stock 力価*	経口感染したウイルス力価*
		14日後
北京	1.0 x 10 ⁸	3.6 x 10 ⁸
Jath16	2.3 x 10 ⁸	4.8 x 10 ⁸
JaGAR01	2.0 x 10 ⁸	3.6 x 10 ⁸
三重	4.0 x 10 ⁸	4.2 x 10 ⁸

* 蚊は28℃で14日間飼育後にハーベスト

** PAP法によるウイルス力価 (FFU/ml)

*** 蚊1個体の満腹吸液量は、平均 3.3ul (3.3 x 10⁵ ~ 1.32 x 10⁶ FFU に相当)

表4 比較的低濃度の日脳ウイルス液を経口感染したアカイエカ雌成虫体内でのウイルス増殖*

ウイルス株	Stock virus 力価**	経口感染したウイルス力価***
		14日後
北京(ワカ株)	1.0 x 10 ⁷	2.4 x 10 ⁷
Jath16	1.0 x 10 ⁷	1.5 x 10 ⁷
JaGAR01	1.0 x 10 ⁷	2.4 x 10 ⁷
三重41	1.0 x 10 ⁷	2.0 x 10 ⁷

* 蚊は28℃で14日間飼育後にハーベスト

** PAP法によるウイルス力価 (FFU/ml)

*** 蚊1個体の満腹吸液量は、平均 3.3ul (3.3 x 10⁴ FFU に相当)

蚊4個体中の感染蚊2個体の平均

(5) 大分県下のアルボウイルス媒介蚊調査
ドライアイスまたは、ミニ炭酸ガスポン
プを使用した CDC ライトトラップでの蚊
捕虫を実施した。牛舎で多数のコガタアカ
イエカとシナハマダラカを 2006 年 8 月に
採集した。3 年間の採集蚊数は、2008 年度
が最も少なかった。日本脳炎ウイルスの蚊
からの分離は陰性であった。

アカイエカの日本脳炎ウイルス感染率はウ
イルス力価が高いほど蚊の感染率は高くな
った。50%の蚊が感染するウイルスの取り
込み量は、アカイエカでは約 3.3 x 10⁴ 乗
FFUであった。感染成立の閾値のウイル
ス量を経口感染した蚊では、個体間のバラツ

キとウイルス株間での差が認められた。

2. 大分県内での蚊の活動を知るために、
ライトトラップでの採集を行った。蚊から
のウイルスの分離は陰性であった。

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 7 件)

① Wei-feng Tang, Masao Ogawa, Yuki Eshita, Hiroshi Aono, Yoshihiro Makino, Molecular evolution of Japanese encephalitis virus isolates from swine in Oita, Japan during 1980-2009, Infection, Genetics and Evolution. Vol.10, 2010, 印刷中, 査読有,

② Takuya Yamao, Yuki Kihara, 他 21 名, 9 番目。Novel virus discovery from field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). Archives of Virology, 154(1):153-158. 2008. 査読有, DOI 10.1007/s00705-008-0285-5

③ 在津 誠、小川保徳、黒川憲次、他 5 名、7 番目。浄化槽における犬糸状虫伝搬蚊、チカイエカ *Culex pipiens molestus* Forskal 幼虫の季節的变化、特に夏季における高温の影響。長崎県生物学会誌、(64):4-10.2008, 査読有。

④ Yoshi, M., Mine, M., Kurokawa, K., 他 5 名, 6 番目。Human blood feeding activity of female hybrids between *Culex pipiens pipiens* and *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Bull. Nagasaki Univ. Sch. Health Sci., 20(1): 91-93, 2007. 査読有。

⑤ 江下優樹 海外旅行中に蚊に刺された！蚊が媒介する病気にはどんなものがある？～マラリア、デング熱、日本脳炎、ウエストナイル脳炎～。(特集：意外と知らない！？感染症)。チャイルドヘルス、10(11):764-767。

⑥ Kihara, Y., Satho, T., Eshita, Y., 他 20 名。Rapid determination of viral RNA sequences in mosquitoes collected in the field. J. Virol. Methods, 146(2007): 372-374. 2007. (doi:10.1016/j.jviromet.2007.07.008). 査読有。

⑦ Dieng, H., Satho, T. Miake, F. and Eshita, Y. Copepod predation and arbovirus control: potential thinning with focus on dengue epidemics. House and Household Insect Pest, 29(1): 1-25. 2007. 査読有。

[学会発表] (13 件)

① 湯 偉峰. 大分地域における 1980-2008 年の日本脳炎ウイルスの分子疫学, 第 50 回日本熱帯医学会大会, 2009 年 10 月 22 日、沖縄(沖縄コンベンションセンター)

- ② Yuki Eshita (2008): Arbovirus infection's dynamics of vector mosquitoes in experimental and natural conditions. Parasite Vector Genomics Symposium II in Sapporo, Oct. 21-22, 2008
- ③ 江下優樹. (2008) : アカイエカにおける日本脳炎ウイルスの増殖について. 第43回日本脳炎ウイルス生態研究会、香川県、観音寺市、2008年5月30日-31日. 第43回日本脳炎ウイルス生態研究会
- ④ 湯 偉峰. 大分地域で分離された日本脳炎ウイルスE遺伝子の解析, 第49回日本熱帯医学会大会, 2008年10月25日、東京(国立国際医療センター)
- ⑤ 水谷哲也. ウイルスの網羅的検出法(RDV法)と次世代シーケンサーによる新しいウイルスの発見. 岡山市、岡山コンベンションセンター、2008年10月25日 第15回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会
- ⑥ 湯 偉. 大分地域における日本脳炎ウイルスの活動、第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2008年5月30日 観音寺市(琴弾荘)
- ⑦ 江下優樹. 蚊類のアルボウイルス媒介能(12)アカイエカ体内における日本脳炎ウイルスの増殖. 第60回日本衛生動物学会大会. 2008年4月17-19日、群馬県、自治医科大学
- ⑧ 江下優樹. アカイエカにおける日本脳炎ウイルスの増殖について, 第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2008年5月30日 観音寺市(琴弾荘)
- ⑨ 山尾卓也. 蚊媒介性ウイルス検出を目的としたRDV法の改良. 第60回日本衛生動物学会大会. 2008年4月17-19日、群馬県、自治医科大学
- ⑩ Yuki Eshita . Experimental vectorial capacity of arbovirus-infected mosquitoes. Joint International Tropical Medicine Meeting 2007 "Health Security in the Tropics". 29-30, November, 2007. Imperial Queen's Park Hotel, Bangkok, Thailand. Symposium session on S12 Vector control.
- ⑪ 木原悠希. Rapid Determination of Viral RNA Sequence (RDV) 法による蚊媒介性RNAウイルスの検出. 第60回日本寄生虫学会南日本支部大会・第57回日本衛生動物学会南日本支部大会・合同大会. 2007年10月27-28日、熊本市、熊本市現代美術館アートロフト
- ⑫ 水谷哲也. 新興・再興ウイルスの網羅的検出方法、蚊媒介ウイルスへの応用。第144回日本獣医学会学術集会、北海道江別市、2007年9月2-4日、酪農学園大学
- ⑬ 木原悠希. 未知の蚊媒介性ウイルス検出を目的とした Whole genome amplification の応用。第59回日本衛生動物学会大会

2007年4月3-5日、大阪市、大阪市立大学.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牧野 芳大 (MAKINO YOSHIHIRO)

大分大学・医学部・教授

研究者番号：60039930

(2) 研究分担者

江下 優樹 (ESHITA YUKI)

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：10082223

湯 偉峰 (WEI-FENG TANG)

大分大学・医学部・助教

研究者番号：70404382

(3) 連携研究者

()

研究者番号：