

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461010

研究課題名(和文) B型肝炎ウイルスの増殖能を規定する要因：ポリメラーゼ蛋白アミノ酸変異の意義

研究課題名(英文) The aa15-17 amino acid sequence in the terminal protein domain of HBV polymerase as a viral factor affecting in vivo as well as in vitro replication activity of the virus.

研究代表者

持田 智 (Mochida, Satoshi)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：20219968

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：核酸アナログ中止後に血清HBV-DNAの上昇が速やかな症例は、HBVポリメラーゼterminal protein domainのaa15-17がDDEで、酸性アミノ酸が連続しているが、遅い症例では何れかが中性アミノ酸に置換していた。そこで、aa15-17の配列が異なるHBV株を選択し、Huh7細胞に導入し、上清中HBV-DNA濃度を測定することで、同部位が増殖速度を規定していることを証明した。同部位の配列はB型慢性肝疾患の病態評価に有用で、その測定法としてサイクリング・プローブ法に注目した。先ず、HCVのNS5A-Y93H変異を判定する方法を確立し、これをHBVに応用することを検討している。

研究成果の概要(英文)：In patients with HBV infection, serum HBV-DNA levels increased more rapidly after discontinuation of nucleoside analogs in those with HBV showing DDE motif at aa15-17 in terminal protein domain of polymerase than in those with HBV in which either of amino acids of the motif was replaced to neutral amino acids. Thus, HBV strains manifesting different sequences at aa15-17 were transfected into Huh7 cells, and HBV-DNA levels in the culture medium were measured. Consequently, the motif was shown to be responsible for replication activity of HBV in vitro as well as in vivo. To develop a simple assay system to determine amino acid sequence of the motif, which may be useful to predict clinical features of patients with HBV, we adopted cycling probe real-time PCR. We established the system to determine NS5A-Y93H mutation in HCV, and the project to apply this method for the motif in HBV is now in progress.

研究分野：消化器内科学

キーワード：HBV HCV polymerase terminal protein domain nucleoside nucleotide analogs cycling probe real-time PCR

1. 研究開始当初の背景

B型肝炎ウイルス(HBV)はアジアを中心として全世界に蔓延しており、我が国では約150万人のHBs抗原陽性のキャリア、約1,000万人のHBs抗原陰性、HBc抗体ないしHBs抗体陽性の既往感染例が存在する。キャリアの約10%は、慢性肝炎および肝硬変へと進展し、この過程で肝癌を併発する場合がある。また、キャリアのみならず既往感染例は、免疫抑制療法ないし抗悪性腫瘍薬による化学療法を実施すると、HBV再活性化を生じ、重症肝炎を発症するリスクがある。しかし、HBVに対する抗ウイルス療法は核酸アナログ製剤の導入によって大きく変貌した。2000年にlamivudine、2004年にadefovir、2006年にはentecavirが保険認可され、2014年にtenofovirも利用できるようになる予定である。これら核酸アナログ製剤とインターフェロン製剤を使い分けることで、HBVキャリアにおける肝癌および重症肝炎を発症リスクは大幅に軽減した。また、HBVの既往感染例に免疫抑制・化学療法を実施する際は、血清HBV-DNAのモニタリングを月1回実施し、再活性化を生じた際に核酸アナログを投与することで、重症肝炎の発症を予防できることが、厚生労働省の研究班によって検証されている。

しかし、核酸アナログ製剤の治療を受けているHBVキャリアでは、医療経済的観点から、中止できる症例を見出すことが求められる。この目的で、厚生労働省研究班は血清HBV-DNA量とHBe抗原・抗体系のみならず、血清HBs抗原量およびHBVコア関連抗原量を指標とした中止基準を発表した。しかし、治療中止に関わるウイルスの遺伝子学的要因は明らかになっていない。また、HBV既往感染例は免疫抑制・化学療法を実施する際に血清HBV-DNAの測定を毎月実施する必要があるが、これに要する経費は膨大である。特に免疫抑制療法を受けている症例はモニタリングを実施する期間は長く、これが生涯に亘ることも稀でない。関節リウマチに限定しても、約70万人の患者のうち25%が免疫抑制療法を実施されており、血清HBV-DNAの測定に年間20億円以上の経費を要する。再活性化を生じる症例は3~4%であり、これに関わるウイルス側の要因を解明することも求められている。

HBVのキャリアにおける核酸アナログ製剤の投与中止および既往感染例における再活性化に関与するウイルス側の要因を明らかにするためには、ウイルスの増殖能を規定する遺伝子要因を解明する必要がある。HBVの増殖には、そのgenotype、プレコアないしコア・プロモーター変異などの関与を示す成績が*in vitro*実験によって報告されている。しかし、これらにのみで、核酸アナログ製剤の投与中止ないし既往感染例における再活性化など、生体内の現象を説明することはできない。そこで申請者らは、核酸アナログ製剤の投与によってHBVの複製が十分抑制された症例で、その投与を中止した後の血清HBV-DNA量の増加速度を計測することによって、HBVの増殖能を生体内で評価する実験系を考案した。

申請者らが採用した投与中止基準は、「HBe抗原陰性かつ血清HBV-DNA量2.1 Log copies/mL未滿が1年以上継続し、さらに血清HBVコア関連抗原量3.0 Log IU/mL未滿」を満たすことである。核酸アナログ製剤による治療を

実施しているB型慢性肝炎患者203例のうち、この基準を満たす症例は34例(16.7%)であった。これら症例を対象に、病院IRBの承認を得て、文書による同意を得た上で治療を中止した。そのうち26例(76.5%)では、中止48週後までに血清HBV-DNA量が4.0 Log copies/mL以上に上昇して、核酸アナログ製剤の投与を再開した。しかし、これら症例における血清HBV-DNA量の増加速度は多彩であり、4.0 Log copies/mL以上に達するまでに期間が2週以内の症例から、12週以降の症例まで多彩であった。そこで、核酸アナログ中止後に検出されたHBV株の遺伝子を解析して全アミノ酸配列を同定し、生体内におけるウイルス増殖速度との関連を検討した。その結果、HBV株の増殖速度によって、nt2,349からnt2,357の塩基配列が大きく異なることを見出した。この領域はコアおよびプレコアのORFではコア蛋白のaa151からaa153、ポリメラーゼのORFでは同蛋白terminal protein domainのaa15からaa17の転写に関与しており、大部分のHBV株では前者はRRG、後者はDDEのアミノ酸配列を呈していた。これらのうち、ポリメラーゼ蛋白のterminal protein domainはHBV-DNA結合して、複製に際してprimerとして作用することが明らかになっているが、生体内で増殖能が遅いHBV株では、酸性アミノ酸が連続するaa15からaa17に、D16N or E17G/Nなど中性アミノ酸への変異が認められた。これらのアミノ酸の変異は、極性の差異からペプチドの立体構造を変化させると考えられ、ウイルスの増殖能を規定している可能性がある。

2. 研究の目的

HBV株をHuh7細胞に感染させる実験系で、ポリメラーゼ蛋白terminal protein domainのaa15からaa17のアミノ酸配列が、ウイルス増殖能を規定していることを*in vitro*で検証する。また、ポリメラーゼ蛋白のHBV-DNA複製におけるprimer機能が、aa15からaa17のアミノ酸配列によって差異があることも明らかにして、HBVの増殖を規定するウイルス要因としての同領域の意義を明確にする。その上で、同領域のアミノ酸配列に差異のあるHBV株を検出する検査系を確立し、同領域のアミノ酸配列に関する情報を、核酸アナログ製剤の投与中止ないし免疫抑制・化学療法による再活性化に関与するウイルス側の要因として、臨床応用することを目指す。

3. 研究の方法

(1) Huh7細胞を用いた各種HBV株の増殖能の検討

生体内での増殖速度の異なるHBV株のゲノムDNAを当該症例の血清から抽出し、制限酵素SapIの認識配列を付加して、PCR法でゲノム全長を増幅する。これをベクターpUC118またはpMD20-Tに組み込み、大腸菌DH5αを形質転換する。遺伝子組み換え大腸菌を培養してプラスミドを抽出し、SapIで酵素消化することで、HBVゲノム全長を分離し、直鎖状2本鎖DNAをHuh7細胞にトランスフェクションする。細胞と上清を経時的に回収しHBV-DNA量をreal-time PCR法で、HBs抗原量をCLIA法で定量することで、*in vitro*におけるHBVの増殖能を

評価する。

上記の実験に際して、PCR 法で増幅した HBV ゲノムのポリメラーゼ領域 aa15 ~ aa17 に関して、個々のアミノ酸を酸性から中性に変える変異を導入することで、*in vitro* における HBV 増殖能の変化を評価する。

以上の実験成績を、生体内における血清 HBV-DNA 量の増加速度と比較することで、HBV 増殖に関わるポリメラーゼ蛋白 aa15 ~ aa17 のアミノ酸変異の意義を明確にする。

(2) ポリメラーゼ蛋白のアミノ酸配列の差異を判定する診断系の確立

アミノ酸配列の差異を生じる nt2,349 から nt2,357 のオリゴヌクレオチドに関して、各 genotype に対応する primer を設計する。上記の primer を用いた real-time PCR の系を確定し、その genotype を判別する正診率を direct sequencing 法との比較で評価する。

4. 研究成果

(1) Huh7 細胞を用いた各種 HBV 株の増殖能の検討

核酸アナログ投与中止後に血清 HBV-DNA の増加が速かった症例の HBV 株は、何れもポリメラーゼ領域の terminal protein domain の aa15-17 が DDE で酸性アミノ酸が連続していた。しかし、遅かった症例では何れかが中性アミノ酸に変異した HBV 株が見られた。治療中止後に血清 HBD-DNA 量が 4.0 Log copies/mL 以上になるまでの期間が 4 週末満 (A 群)、4~12 週 (B 群)、12 週以降 (C 群) であった HBV 株から genotype が Bj で terminal protein domain の aa15-17 のアミノ酸配列は異なるが、同一塩基から転写されるコア領域のアミノ酸配列は共通しているものを選択して、Huh7 細胞に導入し、培養上清の HBV-DNA 濃度を測定した。C 群の HBV 株のみが terminal protein domain の aa15-17 のアミノ酸に酸性から中性への置換が見られ、培養 6 時間後の HBV-DNA 濃度は C 群に比して B 群は 5 倍、A 群は 10 倍高値であった。以上より、terminal protein domain の aa15-17 のアミノ酸配列は生体内のみならず *in vitro* でもその増殖速度を規定していることが明らかになった。なお、増殖速度が遅いことが知られている genotype Ae の HBV 株は、同領域のアミノ酸配列がほぼ全例で DDG であることが、自験例での検討およびデータベースの解析から判明した。従って、genotype Bj ないし C の HBV 株であっても、同領域の塩基配列が genotype Ae と同様に変異すると、増殖速度が低下する可能性がある。

Terminal protein domain における aa15-17 の意義を化学療法で再活性化した HBV 既往感染例および劇症肝炎例で評価した。治療開始 3 ヶ月で HBV-DNA 量が 5.4 Log copies/mL まで増加した症例から単離した株は、genotype C でプレコアとコア・プロモーター領域はともに野生株であったが、ポリメラーゼ領域は DDE で増殖速度の速い型であった。一方、HBV の急性感染例で劇症化した症例から単離した genotype C の HBV 株は、プレコア領域は変異株で、ポリメラーゼ領域は同様に DDE の配列を示していた。

そこで厚生労働省の認可を得て、HBV genome の組み換え実験を開始した。nt2,349 から nt2,357 のオリゴヌクレオチドを組替えて、ポリメラーゼ蛋白 aa15 ~ aa17 のアミノ酸配列が DDE から DDG に、また、DDG から DDE に変化した HBV 株の作成に成功した。しかし、現状では、これら組替え HBV 株の huH7 細胞への感染効率が低く、複製速度を評価する実験は pending となっている。

(2) ポリメラーゼ蛋白のアミノ酸配列の差異を判定する診断系の確立

HBV の terminal protein domain における aa15-17 のアミノ酸配列を簡便に同定する方法として、cycling-probe 法に注目した。通常、PCR に用いる probe には oligonucleoside を用いる。しかし、標的とする塩基の周辺に変異が多い場合には、単一の probe セットでは、PCR がかからない場合がある。しかし、probe の塩基の 1 つを nucleotide に置換した cycling probe を用いると、標的塩基の周辺に変異があっても効率的な PCR が可能になる場合がある。Cycling probe 法は一般的にヒト遺伝子の SNP 解析に用いられているが、その肝炎ウイルスへの導入を検討した。

まず、モデルとして、塩基の変異に富む C 型肝炎ウイルス (HCV) の NS5A 領域での検討を開始した。NS5A 領域の Y73H 変異は、NS5A 阻害薬を用いた抗ウイルス療法の効果を規定するアミノ酸変異であり、p277 の塩基が T ないし C の何れかで、アミノ酸変異が規定される。同塩基の周辺には多彩な塩基の変異が見られ、NS5A 領域の Y93H 変異を PT-PCR 法で同定するのは困難と考えられてきた。この問題を克服するために、1b 型の HCV 株の database から想定される塩基配列を標的とした primer と 10 種類の cycling probe セットを設計し、このうち最も効率の高い cycling probe セットを抽出し、これを用いた real-time PCR を確立した。

Y93 野生株と Y93H 変異株の塩基配列を含む人工合成遺伝子を作成し、変異遺伝子を 0, 5, 10, 30, 50, 70, 90, 100% の比率で混合した溶液で PCR を行った。同系の測定感度は野生株、変異株とも 2.0 Log copies/mL で、変異遺伝子の比率は 10% 以内の誤差範囲で定量可能であった。そこで、埼玉医科大学病院 IRB の認可の基 genotype 1b の HCV に感染した 332 例の血清で、同方法を用いた RT-PCR を実施した。295 例 (88.9%) で NS5A 領域 aa93 のアミノ酸を同定可能であった。また、その成績は direct sequencing と一致していた。

以上より、cycling probe 法は肝炎ウイルスのアミノ酸変異の解析にも有用であることが明らかになり、現在、HBV のポリメラーゼ領域 terminal protein domain の解析への応用を進めている。

5. 主な発表論文

[雑誌論文] (計 5 件)

1. Uchida Y, Kouyama J, Naiki K, Sugawara K, Inao M, Imai Y, Nakayama N, Mochida S. Development of rare RAVs that are extremely tolerant against NS5A inhibitors during daclatasvir/asunaprevir therapy via a two-hit mechanism. *Hepatol Res*

2016 Feb 15. Doi: 10.1111/hepr.12673. [Epub ahead of print].
査読有

2. **Mochida S**, Nakao M, **Nakayama N**, Uchida Y, Nagoshi S, Ido A, Mimura T, Harigai M, Kaneko H, Kobayashi H, Tsuchida T, Suzuki H, Ura N, Nakamura Y, Bessho M, Dan K, Kusumoto S, Sasaki Y, Fujii H, Suzuki F, Ikeda K, Yamamoto K, Takikawa H, Tsubouchi H, Mizokami M. Nationwide prospective and retrospective surveys for hepatitis B virus reactivation during immunosuppressive therapies. *J Gastroenterol* 2016 Feb 1 [Epub ahead of print]. 査読有

3. Uchida Y, Kouyama J, Naiki K, **Sugawara K**, Ando S, Nakao M, Motoya D, Inao M, Imai Y, **Nakayama N**, **Mochida S**. Significance of variants associated with resistance to NS5A inhibitors in Japanese patients with genotype 1b hepatitis C virus infection as evaluated using cycling-probe real-time PCR combined with direct sequencing. *J Gastroenterol* 2016; 51 (3): 260-270. 査読有

4. Uchida Y, Kouyama J-I, Naiki K, **Mochida S**. A novel simple assay system to quantify the percent HCV-RNA Levels of NS5A Y93H mutant strains and Y93 wild-type strains relative to the total HCV-RNA levels to determine the indication for antiviral therapy with NS5A inhibitors. *PLoS One* 2014 Nov 14; 9 (11): e112647. doi: 10.101371/journal.pone.0112647. 査読有

5. Uchida Y, Kouyama J, Naiki K, **Sugawara K**, Inao M, **Nakayama N**, **Mochida S**. A Possible Novel Genotype HBV Strain Developing Due to Recombination between Genotypes H and B Strains Isolated from a Japanese Patient. *Hepatol Res* 2014 Oct; 44(11): 1130-1141. 査読有

[学会発表] (計 24 件)

1. 内田義人, **中山伸朗**, **持田 智**. NS5A 阻害薬を用いた DAA 治療における RAVs の成立機序: DCV/ASV 併用療法から得られたオセロ仮説. シンポジウム「C 型肝炎治療の新時代に向けて」, 第 52 回日本肝臓学会総会, 2016 年 5 月 19~20 日 幕張 ホテルニューオータニ幕張

2. 内田義人, **中山伸朗**, **持田 智**. DAA 治療に高度耐性変異株の発生機序: DCV/ASV 併用療法から得られた 2-ヒット仮説. パネルディスカッション「C 型肝炎治療の問題点」, 第 52 回日本肝臓学会総会, 2016 年 5 月 19~20 日 幕張 ホテルニューオータニ幕張

3. 内田義人, **中山伸朗**, **持田 智**. C 型慢性肝疾患における DAA 治療の課題. シンポジウム「C 型肝炎治療の新時代と将来への展望」, 第 102 回日本消化器病学会総会, 2016 年 4 月 21~23 日 東京. 京王プラザホテル

4. Uchida Y, Kouyama J, Naiki K, **Sugawara K**, Inao M, Imai Y, **Nakayama N**, **Mochida S**. "Othello Hypothesis" Involved in the Development of RAVs Tolerant to NS5A Inhibitors in Patients with Genotype 1b HCV Infection. The International Liver Congress, The Annual EASL Meeting 2016, April, 13-17 Barcelona, SPAIN.

5. **Mochida S**, **Nakayama N**, Uchida Y, Nakao M. Acute liver failure and late-onset hepatic failure in Japan. 25th Conference of the Asian Pasific Association for the Study of the

Liver, 2016, Feb, 20-24 Tokyo. Japan Grand Prince New Takanawa.

6. Nakao M, **Nakayama N**, Uchida Y, Mizokami M, **Mochida S**. Nationwide prospective survey in Japan to clarify the incidence of viral reactivation in patients with prior HBV infection receiving immunosuppressive therapies. The Liver Meeting, AASLD, 2015 Nov, 13-17 St Francisco USA.

7. **Nakayama N**, Uchida Y, Nakao M, Tsubouchi H, Takikawa H, **Mochida S**. Clinical features and outcome of patients with acute liver failure and LOHF due to HBV reactivation during and after immunosuppressive and/or anticancer therapies enrolled in nationwide survey in Japan. The Liver Meeting, AASLD, 2015 Nov, 13-17 St Francisco USA.

8. Uchida Y, **Nakayama N**, Kouyama J, Naiki K, Uemura H, **Sugawara K**, Inao M, **Mochida S**. Frequent emergences of rare RAVs showing extreme resistance to NS5A inhibitors during dual oral therapy with daclatasvir plus asunaprevir in patients previously receiving triple therapy with simeprevir. The Liver Meeting, AASLD, 2015 Nov, 13-17 St Francisco USA.

9. 内田義人, 菅原通子, **持田 智**. NS5A 領域のアミノ酸変異に基づいた IFN フリー治療の戦略: サイクリング・プローブ法を用いた検討. シンポジウム「C 型肝炎治療の新たな展開: IFN-free 時代の幕開け」. JDDW2015, 2015 年 10 月 8~11 日 東京. グランドプリンスホテル新高輪

10. **中山伸朗**, 内田義人, **持田 智**. NS5A アミノ酸変異を考慮した C 型慢性肝疾患の治療戦略とダクラタスビル・アスナプレビル併用療法の有用性. シンポジウム「C 型肝炎の最新治療と今後の展開」. 第 51 回日本肝臓学会総会, 2015 年 5 月 21~22 日 熊本. ホテル日航熊本

11. 中尾将光, 中山伸朗, **持田 智**. B 型肝炎の治療におけるテノホビルの意義. シンポジウム「B 型肝炎に対する治療戦略と今後の展望」. 第 51 回日本肝臓学会総会, 2015 年 5 月 21~22 日 熊本. ホテル日航熊本

12. 内田義人, 神山淳一, **持田 智**. NS5A アミノ酸変異を有する HCV 感染例に対するアスナプレビル・ダクラタスビル経口 2 剤併用療法の有効性を規定する要因. パネルディスカッション「難治性ウイルス性肝疾患の治療戦略」. 第 51 回日本肝臓学会総会, 2015 年 5 月 21~22 日 熊本. ホテル日航熊本

13. 中尾将光, **中山伸朗**, **持田 智**. 免疫抑制・化学療法によって発症する B 型急性肝不全の実態とその対策. シンポジウム「B 型肝炎治療の課題と将来への展望」. 第 101 回日本消化器病学会総会, 2015 年 4 月 23~25 日 仙台 仙台国際センター

14. 内田義人, 神山淳一, **持田 智**. NS5A の Y93H と L31M 変異に基づいた C 型慢性肝疾患の治療戦略: サイクリング・プローブ法とダイレクトシークエンス法を併用した検討. パネルディスカッション「C 型肝炎ウイルス治療の進化と残された課題: C 型肝炎撲滅を目指して」. 第 101 回日本消化器病学会総会, 2015 年 4 月 23~25 日 仙台 仙台国際セ

ンター

15. **中山伸朗**, 内田義人, **持田 智**. わが国の B 型急性肝不全の実態から見た治療戦略の問題. パネルディスカッション「急性肝不全: 診断と治療における問題点」. 第 101 回日本消化器病学会総会, 2015 年 4 月 23~25 日 仙台 仙台国際センター

16. 内田義人, 神山淳一, **持田 智**. HCV の NS5A 領域 Y93H 変異に寄与する宿主要因: 簡易迅速検出法による検討. シンポジウム「C 型肝炎治療の進歩」. 第 40 回日本肝臓学会東部会, 2014 年 11 月 27~28 日 東京 京王プラザホテル

17. 中尾将光, 内田義人, **持田 智**. 核酸アナログ多剤耐性の HBV 変異株: 新たな遺伝子変異の可能性. パネルディスカッション「B 型肝炎の新展開」. 第 40 回日本肝臓学会東部会, 2014 年 11 月 27~28 日 東京 京王プラザホテル

18. Uchida Y, Kouyama J, Naiki K, **Mochida S**. The significance of NA5A-Y93H mutation evaluated by a novel simple assay system using cycling probe-based real-time PCR in patients with HCV infection. The Liver Meeting, AASLD, 2014 Nov, 7-11 Boston USA.

19. **Nakayama N**, Tsubouchi H, **Mochida S**. The etiology, clinical features and outcome of acute liver failure in Japan. The Liver Meeting, AASLD, 2014 Nov, 7-11 Boston USA.

20. 内田義人, 神山淳一, **持田 智**. NS5A 領域の Y93H 簡易迅速測定法を利用した C 型慢性肝疾患の治療戦略. シンポジウム「C 型肝炎に対する DAA を用いた治療戦略」. 第 50 回日本肝臓学会総会, 2014 年 5 月 29~30 日 東京 ホテルニューオータニ

21. 内田義人, **持田 智**. HBs 抗原量を規定する可能性のある新たなウイルス要因: HBV ポリメラーゼ領域 Terminal Protein Domain aa15-17 の変異. ワークショップ「B 型肝炎抗ウイルス療法の進歩と課題」. 第 50 回日本肝臓学会総会, 2014 年 5 月 29~30 日 東京 ホテルニューオータニ

22. Uchida Y, Yoshino K, Sugawara K, Kouyama J, Naiki **K**, **Nakayama N**, **Mochida S**. The aa15-17 amino acid sequence in the terminal protein domain of HBV polymerase as a viral factor affecting *in vivo* as well as *in vitro* replication activity of the virus.. The Liver Meeting, AASLD, 2013 Nov, 1-5 Washington DC USA.

23. 中尾将光, **中山伸朗**, **持田 智**. わが国における *De novo* B 型急性肝不全の実態と免疫抑制療法実施例におけるガイドラインの見直し. シンポジウム「B 型肝炎ウイルス再活性化の予防, 治療の現状と課題」. JDDW2013, 2013 年 10 月 9~12 日 東京 グランドプリンスホテル新高輪

24. 内田義人, 神山淳一, **持田 智**. B 型肝炎の病態を規定する可能性がある新たなウイルス要因: ポリメラーゼ領域 aa15-17 の変異. シンポジウム「B 型肝炎—概念の変遷とその臨床的意義」, 第 49 回日本肝臓学会総会, 2013 年 6 月 6~7 日 東京 京王プラザホテル

[産業財産権] (計 1 件)

名称: C 型肝炎ウイルスの NS5A タンパク質の 93 番目アミノ酸変異の検査方法とキット

発明者: 持田 智、内田 義人、神山 淳一、
内木 佳代子

権利者: 埼玉医科大学

種類: 特許 (PCT)

番号: PCT/JP2014/082773

出願年月日: 2014/12/11

国外

6. 研究組織

(1) 研究代表者

持田 智 (Mochida Satoshi)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号: 20219968

(2) 研究分担者

中山 伸朗 (Nakayama Nobuaki)

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 40202015

(3) 研究分担者

菅原 通子 (Sugawara Michiko)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号: 20406458