

20. 病原体ゲノム解析研究センター

センター長 黒田 誠

概要

病原体ゲノム解析研究センターは、ウイルス感染症の発症に係わる宿主遺伝子の探索・解析を行う第一室、病原性ウイルスのゲノム解析を行う第二室、病原性細菌のゲノム解析を行う第三室から構成されている。

第一室では、主に子宮頸癌の原因となるヒトパピローマウイルス(HPV)の増殖とそれを支える細胞因子の研究およびHPVによる発癌メカニズムの解析、ならびにHPV感染実態の疫学調査を行った。HPVは表皮や粘膜の微小な傷から侵入し、上皮基底細胞の核内にエピゾームとして潜伏・持続感染する。感染細胞が分化し表皮形成に至る過程でウイルスの増殖が起こるが、この生活環を支える分子機構は不明である。抗HPV薬の開発基盤とするため、HPV生活環と感染・発癌における宿主応答・防御機構の詳細な解析を継続した。HPV疫学調査については、WHOにて標準化されたHPVジェノタイプング法を用いて、我が国のHPV感染実態の調査を行った。さらに製剤担当室として、HPVワクチンの国家検定を担当した。

第二室では、新興・再興感染症の病原となる易変異性RNAウイルスの基礎・応用研究を推進している。計算科学の解析環境の整備・強化を進めながら、ウイルス学、病原体サーベイランス組織、有機合成化学等の専門家と連携して学際研究を展開することにより、研究の質と速度の向上を図っている。特に変異が生体高分子の構造・機能に及ぼす影響をコンピュータシミュレーションする技術を重点的に強化し、様々な感染現象の構造原理の解明、創薬シーズ探索、変異病原体のリスク評価などに役立てている。令和元年度は、分子モデリングと分子動力学シミュレーションを用いて、ウイルスの感染、複製、中和、適応進化の構造生物学研究を進め、成果を関連部署・研究グループに提供した。

第三室は次世代シーケンサーを用いて病原体ゲノム情報の取得と情報解析に係る基盤整備を遂行している。病原体分離株の全ゲノム解析で病原性・薬剤耐性因子を同定するとともに、全ゲノム情報を基盤にしたゲノム分子疫学の基盤データベースの構築に取り組んでいる。また、各種病原体検査法で陰性であった感染症疑いの不明症例についてメタゲノム解析にて病原体検出を行っている。臨床検体に内在

する全容を核酸配列として網羅的に検出するため、混合感染など総合的な病原体検査法として有効である。本年度は、大規模細菌ゲノム比較解析および完全長細菌ゲノム解析を行うための基盤作成および改良、および、ゲノムデータベース作成を中心に業務を展開した。バイオインフォマティクス解析を検査現場でも有効に執り行うことができるよう、ゲノムデータベース管理および次世代シーケンサーデータ解析を同時に行えるシステム GenEpid-J (Genomics and Epidemiology in Japan)をこれまでに構築し、継続して運用している。本システムを用いて、病原細菌、薬剤耐性菌、ウイルスのゲノム解析及びデータベース管理を実施している。それらデータベース上のゲノム情報を用いて、大規模ゲノム比較解析およびゲノム分子疫学解析も遂行した。また、細菌感染症において重要な生物種の公開ゲノム配列および生解読データを回収し、gGENEPIDデータベースの開発・運用している。薬剤耐性細菌のワンヘルスアプローチの一環として、下水処理放流水由来の薬剤耐性因子および耐性菌の分離およびゲノム解析も進めている。衛生害虫を中心に昆虫ゲノム解析を実施した。本年度末は、SARS-CoV-2のゲノム解析に重点を置き、地方自治体と協力して積極的疫学調査の支援として感染リンクの推定を実施した。

業績 調査・研究

1. HPVに関する研究

1. HPVの感染増殖機構の研究

(1) HPV細胞侵入機構の解明

HPV感染の初期過程に関わる細胞内因子を網羅的に同定するために、HSV-TK遺伝子を一過性に発現するHPV18偽ウイルス(18PsV-TK)を作成した。この偽ウイルスをCRISPR-Cas9による遺伝子ノックアウト HeLa細胞ライブラリーに感染させ、ガンシクロビル存在下で生き残る細胞を回収した。染色体に組み込まれたsgRNA配列とリード数を次世代シーケンサーで解析した。細胞表面に局在するタンパク質GJC1とF11RのsgRNAが顕著に濃縮されていた。2次スクリーニングに、ルシフェラーゼをレポーターにもつ偽ウイルス(18PsV-Luc2)による感染実験を行った。1次スクリーニング

の結果と異なり、GJC1 と F11R のノックダウン細胞は 18PsV-Luc2 に対し抵抗性を示さなかった。HSV-TK とガンシクロビルによる細胞致死を利用した 1 次スクリーニングが正しく機能していない可能性が示唆された。(石井克幸、関塚剛史、山地俊之[細胞化学部])

(2) HPV 持続感染機構の解明

NIKS 細胞は分化能を維持しているヒト不死化角化細胞であり、子宮頸外部細胞 (Ect 細胞) や子宮頸内部細胞 (End 細胞) に比べ高い HPV ゲノム保持能を有する。HPV ゲノム保持能は HPV 初期プロモーター活性と相関することから、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析により、NIKS 細胞に多く発現している転写因子を特定した。さらにこの中から HPV 初期プロモーター制御領域 (LCR) との結合が予測される転写因子を抽出した。siRNA によるノックダウン解析から、HOXC13 が HPV の初期遺伝子発現とゲノム保持に重要であることが明らかとなった。また、クロマチン免疫沈降により HOXC13 は LCR に結合することがわかった。未分化状態の NIKS 細胞において HOXC13 は HPV の初期遺伝子発現とゲノム複製を正に制御していると考えられた。(石井克幸)

(3) HPV ゲノム維持に関わる細胞タンパク質の探索

子宮頸部における HPV 潜伏感染は子宮頸癌の発症を引き起こすが、感染細胞での HPV ゲノム維持の分子機構はこれまでほとんど解明されていない。HPV16 ゲノムを安定に保持するヒト骨肉腫細胞 U2OS を用いて、HPV ゲノム維持に影響を与える宿主タンパク質の siRNA スクリーニングを行った。宿主細胞の抗ウイルス因子 (173 タンパク質) の siRNA ライブラリーを細胞にトランスフェクトして培養し、三日後の細胞内 HPV16 ゲノム量をリアルタイム PCR で定量した。その結果、HPV16 ゲノム量を低下させる宿主タンパク質として MOV10、増加させるタンパク質として IFI16、SQSTM1、IRF3、PPHLN1、SP1、XRCC5、RC3H1、FAM208A を見出した。(田中恒成、終元 巖、若江亨祥[ウイルス2部]、村松正道[ウイルス2部])

(4) HPV 感染細胞のホスホイノシチド動態解析

細胞内セカンドメッセンジャーとして働く重要な内在性分子であるホスホイノシチドの HPV ゲノム複製への関与を検討した。HPV16 ゲノムを保持する U2OS/HPV16 細胞及び親株 U2OS 細胞から、クロロホルム/メタノール/HCl 混合液の添加により、脂質画分を有機溶媒層に抽出し、逆相カラムクロマトグラフィーによる脂質分子の分離と質量分析装置による LC-MS/MS 質量分析によって、細胞内のホスホイノシチド分子種の検出・定量を行った。その結果、U2OS/HPV16 では

U2OS と較べて、8 種類のホスホイノシチド分子の内、PIP₃ レベルが低下していることが示された。(終元 巖、佐々木雄彦 [東京医科歯科大学])

2. HPV 感染状況についての調査・研究

(1) 子宮頸癌および前癌病変での HPV 遺伝子型分布の調査

子宮頸癌及び前癌病変 (CIN2/3) の擦過細胞検体を慶應大学病院にて定期的に収集して、HPV DNA 検出と HPV ジェノタイプングを継続的に行った。本年度は 398 検体の HPV タイピングを実施した。解析の結果、最も高頻度に検出されたのは HPV16 (34.2%) で、以下、HPV52 (21.4%)、HPV58 (13.8%)、HPV31 (10.1%) HPV18 (7.3%) の順序であった。年ごとの HPV 型分布に大きな変動は認められなかった。(中村浩美、終元 巖、岩田 卓[慶應大学])

(2) 日本人女性の HPV18 ゲノム配列解析

HPV18 は HPV16 に次いで頻繁に子宮頸癌で検出され、他の HPV 型と比べ扁平上皮癌 (SCC) よりも腺癌 (AC) での検出頻度が高いことが知られている。日本人の 84 例の HPV18 陽性検体 (SCC, n=22; AC, n=39; 子宮頸部異形成, n=7; その他の組織型; n=8, 細胞診正常, n=8) の HPV18 ゲノム配列を決定したところ、82 例 (97.6%) が lineage A、2 例 (2.4%) が lineage B に属していた。82 例の lineage A 検体のうち、70 例が sublineage A1、12 例が sublineage A3/A4 に属していた。組織型ごとのバリエーション分布には有意な差は認められなかった。日本人患者からの臨床検体において、HPV18 のバリエーション分布は lineage A、特に sublineage A1 に著しく偏っていることが分かった。また、癌の組織型は特定のバリエーションとは関連しないことが示唆された。(中 摩佑子、終元 巖、岩田 卓 [慶應大学]、小貴麻美子 [昭和大学]、松本光司 [昭和大学])

(3) HPV ワクチン効果を検証するための疫学研究

人口レベルの HPV ワクチン導入効果を検証するために、40 歳未満の日本人女性からの前癌病変及び子宮頸癌における HPV 型分布を経年的に調べることを計画している。そのために全国 21 か所の拠点病院にて子宮頸部擦過細胞検体を収集し、感染研ゲノムセンターに検体を集約して、精度・信頼度がバリデートされた HPV タイピングを実施する。今年度は、本研究の以前の研究期間に用いられていた HPV タイピング法 (リニアアレイ) と、今回新たに採用する HPV タイピング法 (PGMY-CHUV) との間の結果の一致度を検討するために、同一の DNA 検体 (CIN2/3、100 検体) に対するタイピング結果の比較を行ったところ、HPV16/18 の検出に関して二つの方法は完全一致を示した。11 月から臨床検体の登録が開始

され、感染研にて擦過細胞検体からの DNA 抽出と HPV タイピングを開始した。登録症例 318 例のうち、3 月末までに検体が送付された症例 256 例の HPV タイピングを行った。(中村浩美、柗元 巖、小貫麻美子[昭和大学]、松本光司[昭和大学])

3. HPV 感染による発癌機構の研究

(1) HPV の遺伝子発現機構に関する研究

細胞の転写因子 TEAD は DNA に結合するが転写活性はなく、転写共役因子と複合体を形成して転写を調節する。TEAD が HPV の遺伝子発現に関わることが報告されているが、共役因子などの詳細は不明である。昨年度までに、TEAD1 とその共役因子である VGLL1 が HPV 初期遺伝子の転写に必要なこと、VGLL1 は TEAD1 を介して HPV ゲノムの LCR に結合することを明らかにした。今年度は LCR 上の TEAD1 結合部位を詳細に調べた。TEAD1 は LCR の 11 か所に結合し、そのうち 8 か所の TEAD1 結合配列が転写活性に必要であった。これらの結果から、VGLL1/TEAD1 複合体が LCR の複数の部位に結合し、HPV 初期遺伝子の転写を誘導することが示唆された。TEAD1 が広範な細胞種で発現しているのに対し、VGLL1 は主に上皮系の細胞で発現していることが報告されている。VGLL1 は HPV の上皮特異的な遺伝子発現に関わる宿主因子の 1 つと推測される。また、VGLL1 をノックダウンすると子宮頸癌細胞の増殖が抑制されたことから、子宮頸癌治療の新たな標的分子となり得る。(森清一郎、柗元 巖)

(2) 正常子宮頸部オルガノイド培養系の確立

扁平上皮細胞層と円柱上皮細胞層が接する子宮頸部 SC junction は HPV 感染への感受性が高く、子宮頸癌の原発部位と考えられているが、SC junction を再現した細胞培養系はこれまでに確立されていない。マトリゲルによる三次元培養技術を用いて、正常子宮頸部由来の SC junction からオルガノイド培養を試みた。免疫染色により扁平上皮細胞群に接して mucin を産生する円柱上皮細胞の小集団が認められ、トランスクリプトーム解析により多くの SC junction マーカー遺伝子の発現が確認された。この SC junction オルガノイド培養系は、HPV による発癌過程を研究するための有用な *in vitro* 実験系となりうる。(石井克幸、柗元 巖、田口 歩[東京大学]、筆宝義隆[千葉県がんセンター研究所])

(3) マウス抗 E7 モノクローナル抗体の作成

HPV16 E7 タンパク質は子宮頸癌やその前癌病変で高レベルに発現が認められることから、子宮頸癌の早期診断バイオマーカーとして有用である。子宮頸部上皮内腫瘍や子宮

頸癌の診断用の新たな抗 E7 モノクローナル抗体を作成するために、マウスを免疫する抗原として、HPV16 及び HPV6 の E7 タンパク質をコムギ無細胞系で合成・精製した。(田中恒成、柗元 巖)

4. 次世代 HPV ワクチンの開発

現行の HPV ワクチンは主要キャプシドタンパク質 L1 を抗原としており、型特異的な感染予防効果を示す。副キャプシドタンパク質 L2 には型共通の中和エピトープが複数あり、マウス抗 L2 モノクローナル抗体 24B は、少なくとも 8 つの発癌性 HPV を中和できる。アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを用いた抗体遺伝子の導入により 24B を生体内で長期間、安定に発現させて幅広い型の HPV 感染を防ぐ受動免疫ワクチンの開発を試みた。ベクターをマウスの骨格筋に接種後 1 年以上にわたって血中に 24B が分泌され、複数の型の HPV 感染が阻害されることをこれまでに確認した。一方、ヒト細胞株で発現させた 24B(hu24B)の *in vitro* の中和活性は、ハイブリドマ由来の 24B(hy24B)よりも約 10 倍高かった。レクチンの結合性の違いから、hy24B は hu24B より多くの N-アセチルガラクトサミンをもつことがわかった。酵素処理によって hy24B から糖鎖を除去すると、L2 ペプチドへの結合活性に変化はなかったが、中和活性は約 10 倍上昇した。L2 はウイルス粒子表面に露出していないと考えられていることから、L2 エピトープへの 24B のアクセスが糖鎖によって制限される可能性が示唆された。糖鎖が結合しないように 24B を改変することで、より中和活性が高くなると思われる。(森 清一郎)

II. 相同配列を避けた iPS 細胞のゲノム編集

ヒトウイルス感受性にはヒト FUT2 遺伝子の関与が想定されているが、それを明らかにするには FUT2 遺伝子のみが異なるアレルであるようなアイソジェニックな細胞を用いてヒトウイルス感受性を調べることが望ましい。FUT2 遺伝子には近傍(23kb 上流)に SEC1P 偽遺伝子が存在するため、感受性を規定すると想定される FUT2 遺伝子上の SNP を CRISPR/Cas9 法により直接置換変異する(オリゴヌクレオチドを鋳型とする homology directed repair (HDR)による)ことはできなかった。そのため FUT2 遺伝子特異的なゲノム編集を 2 段階で行う計画を立てた。long ssDNA を用いてマーカー遺伝子とともに置換変異を HDR によりノックインし、その後マーカー遺伝子のみを欠失させる方法を試みることにした。ヒトゲノム上に相同配列の少ない人工スパーサーを選択し、蛍光タンパク質遺伝子と薬剤耐性遺伝子とともに HDR のドナーとなる配列を設計した。PCR および酵素処理によって HDR ドナーを作製し、第一段階として薬剤耐性コロニーの出現を調べた。コロニー数が少数であることは予想されたが、出現した

コロニーでは同時に発現するはずの蛍光マーカーが確認できなかった。long ssDNA の導入効率が低く、long ssDNA 作製過程の薬剤耐性遺伝子 PCR 産物のキャリーオーバーのみがランダムに組み込まれていることが考えられた。long ssDNA の導入効率を上昇させる条件検討を行った。(竹内隆正)

III. 臨床応用されたウイルスベクターの安全性・有効性に関する情報の収集

我が国での遺伝子治療臨床試験計画を審査する作業部に適切な意見を提供するため、Human Gene Therapy、Gene Therapy、Molecular Therapy、Journal of Gene Medicine、及び Nature Medicine 等の遺伝子治療専門誌の論文、日本遺伝子治療学会での講演等からウイルスベクターの安全性・有効性に関する情報を収集・検討する作業を継続して行った。特記すべき有害事象は認められなかった。(竹内隆正、森 清一郎、石井克幸、終元 巖)

IV. *in silico* 解析を用いた構造生物学研究

1. カプシドタンパク質の構造生物学研究

(1) エンテロウイルスの感染制御に向けた構造生物学的研究

エンテロウイルスA71(EV-A71)粒子最外殻タンパク質カプシドVP1の145番目アミノ酸置換は、様々な生物活性(受容体親和性、抗体感受性、神経病原性)の変化を生む。しかし、カプシド変異が構造に与える影響はほとんどわかっていない。今年度は、VP1-145変異が受容体との親和性に与える影響について、分子動力学法(MD)を用いて解析した。既知のEV-A71カプシドタンパク質(CA)と感染受容体(Scavenger receptor class B member 2; SCARB2)の複合体構造情報(PDB ID: 6I2K)を鋳型にして、ホモロジーモデリング法によりVP1-145G及び145EのCA/SCARB2モデルをそれぞれ構築した。それらのモデルを用いてMDシミュレーションを実施し、得られた全原子時系列情報(151-200ns)を用いて、MM-GBSA法によりCA/SCARB2間の結合エネルギー値を算出した。その結果、VP1-145EはVP1-145Gと比べて、SCARB2を親和性が高めることが示唆された(VP1-145E: -47.6 kcal/mol, VP1-145G: -36.7kcal/mol)。したがって、VP1-145アミノ酸残基は、細胞への感染効率に影響を与える部位であると考えられる。(小谷 治、横山 勝、小林郷介[東京都医学総合研究所]、小池 智[東京都医学総合研究所]、清水博之[ウイルス第二部]、佐藤裕徳)

(2) HIV-1 Gag前駆体分子の構造制御部位の予測

HIV-1粒子形成過程の鍵を握る構造タンパク質はGag前駆体タンパク質(Pr55Gag)である。しかし、Pr55Gag全長構造

情報がないため、粒子形成過程の素過程(折畳み、二量体化、細胞膜輸送)の分子基盤はほとんど分かっていない。これまで、我々は*in silico* 構造解析技術を用いて、既知のPr55Gag部分構造と整合性の高いPr55Gag全長構造を予測した。今年度は、この構造を用いて、変異によるPr55Gagの折畳みへの影響について調べた。HIV-1株間で高度に保存されたMajor homology region 領域(20箇所)のPr55Gagアラニン置換体(20モデル)を構築した。すべてのモデルのMDシミュレーションを実施したところ、折畳み様式に影響を与えるアミノ酸部位を5箇所同定した。今後は、これら変異部位の情報をもとに、*in silico*と実験の双方向からPr55Gag構造機能に重要な機能部位を明らかにする。(小谷 治、横山 勝、中村浩美、片平正人[京都大学]、野間口雅子[徳島大学]、村上 努[エイズ研究センター]、小野 陽[ミシガン大学]、佐藤裕徳)

(3) ノロウイルス VP1 の血液型抗原結合部位に結合する化合物候補の探索

ノロウイルス VP1 蛋白質の血液型抗原(HBGA)結合部位に結合する化合物候補の探索を、インシリコスクリーニングにより行った。HBGAの中でも、Lewis Y 抗原が VP1 蛋白質と最も結合エネルギーが大きいことから、Lewis Y 抗原の結合様式をもとにインシリコスクリーニングを行うと、より結合エネルギーの大きい抗ウイルス薬を見出すことができると考えられた。そこで、カプシド蛋白質と Lewis Y 抗原の複合体構造のProtein Ligand Interaction Fingerprint (PLIF) 解析の情報もとに、ファーマコフォアモデルを構築し、Lewis Y 抗原と同様の相互作用を持つ化合物のインシリコスクリーニングを行なった。インシリコスクリーニングに用いたデータベースは、ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>) から入手した、ChEMBL database 24_1 (1,820,035 化合物)である。インシリコスクリーニングの結果、Lewis Y 抗原と同様の相互作用を持つ化合物として、46 化合物が得られた。得られた化合物を見てみると、多くがフコースに似た分子構造を持っていた。(横山 勝、小谷 治、中村浩美、佐藤裕徳)

2. エンベロープタンパク質の構造生物学研究

(1) 拡張アンサンブル法によるHIV-1 エンベロープ三量体の解析

ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)の粒子表面上のエンベロープタンパク質は、三量体を形成することで主要中和エピトープを遮蔽することが知られている。しかし、遮蔽構造の発現・維持の分子メカニズムは未だ明らかにされていない。我々は、中和抵抗性株と中和感受性株のエンベロープタンパク質三量体の構造的特徴を、拡張アンサンブル法の一つ

であるGaussian Accelerated Molecular Dynamics (GaMD) シミュレーションにより調べた。MDシミュレーションはAmber16のpmemd.cudaモジュールにより実行した。計算条件は、温度310K、圧力1 bar、塩濃度150 mM NaClとした。2 nsのConventional MD後、248 nsのGaMDを実行した。GaMDにより得られたトラジェクトリーはAmberTools17のcpptrajにより解析した。その結果、GaMDにより得られたエンベロップタンパク質三量体の平衡構造は、中和感受性株のエンベロップタンパク質三量体が、中和抵抗性株よりも緩い構造となっていることを示唆した。この構造的特徴が、抗体中和と逃避能を制御していると考えられる。(横山 勝、小谷 治、中村浩美、佐藤裕徳)

(2) HIV-1 エンベロップにおける脆弱部位の推定

HIV-1 は易変異性ウイルスであり、変異を許容し難い脆弱部位は明らかでない。ウイルス粒子表面に位置するエンベロップの脆弱部位を知ることができれば、その部位はウイルスにとって致命的な治療標的となる。本研究では、HIV-1 エンベロップにおける脆弱部位の推定を行った。統計的カップリング行列から、ランダム行列理論によりノイズに起因する成分を取り除くと、統計的カップリング行列は、Clade B では 16、Clade C では 21 の主成分からなることが明らかになった。Clade Bにおいて27、Clade Cにおいて33のセクターが推定された。最大固有値のセクターを HIV-1 エンベロップ三量体の立体構造に表示すると、Clade BとClade Cのどちらにおいても、C-C loop に位置していた。最大固有値のセクターの多様性解析を行うと、アミノ酸残基は極めて保存されていた。さらに、このセクターに *in silico* 変異導入解析を実行すると、最も構造を安定にするアミノ酸が選択されていることが明らかになった。(横山 勝、小谷 治、土肥直哉[徳島大]、駒 貴明[徳島大]、野間口雅子[徳島大]、佐藤裕徳)

(3) デングウイルスエンベロップと中和単抗体の相互作用の分子動力学解析

デング熱研究の基盤強化を目的として、ウイルスエンベロップ (E) と抗体の *in silico* 相互作用解析系構築に着手した。デングウイルス感染では、抗体存在下で感染が促進される現象が生じる(抗体依存性感染増強: ADE)。本研究の推進により、抗体がウイルスを中和するとき、および ADE を誘発するときの E・抗体相互作用様式の情報が蓄積される。これらは、デング熱ワクチンの安全性と有効性を高め、デング熱の流行と重症化を効果的に阻止する方法を開発するための基盤情報となる。#19 と #54 単抗体 Fab は、いずれも、E の fusion loop 近傍に、熱力学的に安定な状態で結合した。いずれの抗体も、中和感受性の低下を招く逃避変異の場所を含む様

式で結合した。Fab/E 複合体境界面の解析より、この相互作用は、複数のアミノ酸残基間のファンデルワールス力により維持されると考えられた。実験結果と整合性がある結果が得られた。(横山 勝、佐藤裕徳、塩田達雄[阪大微研])

(4) 抗 HA ステム抗体による中和と中和逃避の構造生物学的研究

有効なインフルエンザワクチンや抗体医薬の開発に向けて、様々な亜型ウイルスの感染を阻止し得る広域中和能を有する抗ヘマグルチニン(HA) ステム抗体の研究開発は必須である。しかし、抗 HA ステム抗体による中和と中和逃避の分子メカニズムは不明な点が多い。HA タンパク質三量体(HAs)/抗 HA ステム抗体 Fab(sAb)の複合体モデルを用いて、耐性変異が HAs と sAb 間の分子間相互作用にどのような影響をもたらすかについて検討した。まず、Protein Data Bank(PDB)に登録されている既知の sAb/HAs の複合体構造 17 件を用いて、sAb が相互作用する HA 領域の構造特性を調べた。その結果、相互作用部位は Hydrophobic Groove(HG)とその周囲に位置し、疎水性に富む領域であった。特に HA2 の 42 番目のグルタミン(Q)は複数の sAb が HA と相互作用するアミノ酸残基であり、ウイルス株間で高度に保存された部位であった。次に齊藤らが単離した抗 HA ステム抗体 F11 について HAs との結合様式を予測した。既知の HAs/sAb 複合体構造情報(PDB ID: 5JW4)を鋳型にし、ホモロジーモデリング法を用いて HAs/F11-sAb 複合体モデルを構築した。このモデルを用いて MD シミュレーションにより構造最適化を行った。得られた構造情報より、F11 抗体は初期構造の結合様式とは異なり HAs の HG 上部と安定に結合することがわかった。今後、*in silico* と実験の変異導入解析手法を併用して、F11 抗体の中和及び中和逃避に重要な機能部位を明らかにする。(小谷 治、齊藤慎二[インフルエンザウイルス研究センター])

3. アクセサリータンパク質の構造生物学研究

(1) HIV-2 Vpx/SAMHD1 複合体の分子動力学シミュレーション

ヒト免疫不全ウイルス 2 型(HIV-2)は、宿主因子である SAMHD1 から逃れるために Vpx を獲得するように進化したと考えられている。この Vpx の 13 番目のアミノ酸であるセリンが PIM キナーゼによりリン酸化されるが、リン酸化が実際に SAMHD1 への活性をどのように調節するか未だ明らかでない。このセリンを他のアミノ酸に置換すると、Vpx のリン酸化が起きなくなり、ウイルスの増殖が顕著に減少する。Vpx Ser13 のリン酸化が複合体形成に何らかの影響を明らかにするために、Ser13 非リン酸化型およびリン酸化型 Vpx/SAMHD1

複合体の分子動力学シミュレーションを実行した。その結果、この Ser13 のリン酸化は Vpx と SAMHD1 との相互作用を増強することが予測された。この予測は生化学実験により実証された。PIM キナーゼが Vpx の SAMHD1 に対する働きを制御するウイルス調節因子であることを明らかになった。(横山勝、宮川 敬[横浜市大]、梁 明秀[横浜市大]、佐藤裕徳)

V. バイオテロ・新興再興感染症・薬剤耐性菌対策のための病原体ゲノム解析

1. 超高速ゲノム解読・解析システムの構築

バイオテロ・新興再興感染症による非常事態に対応するため、「迅速・網羅的・正確」を兼ね備えた次世代シーケンサー(NGS)による超高速ゲノム解読システムをこれまで構築してきた。また、完全長ゲノム配列を取得することは、病原細菌の保有する病原因子及び薬剤耐性遺伝子の伝達様式を明確にする際に重要となり、ゲノム分子疫学解析の際の参照配列にもなる。今年度は、昨年度に引き続き、完全長ゲノム配列を作成するための自動解析パイプラインを改良した。ロングリードを取得する NGS PacBio もしくは MinION、さらに Illumina の解読データから完全長ゲノム配列を確定し、本年度までに、合計、289 株の病原細菌の完全長ゲノム配列を取得した。一部配列は、既に公開データベース上にて公開済みである。

(関塚剛史、稲嶺由羽、田中里奈、谷津弘仁、糸川健太郎、黒田 誠)

2. 多剤耐性菌感染症の疫学と国内における対応策に関する研究

薬剤耐性(AMR)感染症が世界的に拡大しており、2015 年には WHO から AMR グローバルアクションプランが提唱され、サーベイランス・研究を通じた実態把握の強化が急務となっている。これまでに、ゲノムセンターでは所内および所外の研究者との共同研究で、多数の薬剤耐性菌のゲノム解析を行ってきた。それらデータを管理・運用し、且つ、多検体の解析を簡便に行うためのシステム GenEpid-J (Genomics and Epidemiology in Japan)を構築した。GenEpid-J には、臨床・動物・環境由来の多種にわたる細菌のゲノムデータが蓄積されており、今年度までに合計、約 5000 株、約 8300 プラスミド配列を決定し、データベースを作成した。

(関塚剛史、稲嶺由羽、田中里奈、谷津弘仁、橋野正紀、黒田 誠、松井真理[薬剤耐性菌センター]、鈴木里和[薬剤耐性菌センター]、秋庭正人[国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構])

3. 結核菌全ゲノム薬剤耐性マーカー検出と感受性予測の構

築

未だ先進国内において罹患率が高く、世界的にも多剤耐性が問題になっている結核菌のためのゲノム分子疫学解析パイプライン TGS-TB v2 (Total Genotyping Solution for Mycobacterium tuberculosis (TB))を構築し、運用している。薬剤耐性予測データベースの改良と特異度・感度の高い薬剤感受性予測ツールも開発し、運用している。本年度は、結核菌の国内分離株の大規模分子系統解析を円滑に行うための基盤を作成した。

(関塚剛史、谷津弘仁、黒田 誠、村瀬良朗[公益財団法人結核予防会結核研究所]、瀧井猛将[公益財団法人結核予防会結核研究所]、岩本朋忠[神戸市環境保健研究所]、御手洗 聡[公益財団法人結核予防会結核研究所]、加藤誠也[公益財団法人結核予防会結核研究所])

4. 大規模ゲノム解析のための自動解析パイプラインの開発

NGS 解読リードを用いた *de novo assemble*、解析対象サンプルの生物種推定、血清型推定、コンタミネーションの確認、MLST によるタイピング、薬剤耐性遺伝子・病原遺伝子検索、プラスミド検索、遺伝子抽出および遺伝子のアノテーションを全て自動で行うためのパイプライン Automatic Microbial Genome Annotation (AMiGA)を構築している。本年度は、生物種推定および薬剤耐性遺伝子データベースの拡充を行った。また、細菌ゲノムの NGS データを公開データベースより回収し、本プログラムにて解析を行い、データベース gGENEPID (Global pathogen Genome Epidemiology Database) を構築し情報公開している (<https://gph.niid.go.jp/ggenepid/>)。現在、公衆衛生上重要となる病原細菌 35 種、合計約 60 万サンプルのゲノム解析データを格納している。

(関塚剛史、谷津弘仁、黒田 誠)

5. 薬剤耐性プラスミドの由来をトレースする情報解析システムの開発

ブラウザ経由で次世代シーケンスデータを用いた網羅的なプラスミド解析ツールを開発した。これまで、Global Plasmidome Analyzing Tool: GPATを作成し運用を行っていたが、より汎用が高く、簡便に解析が可能のように改変し、AMiGA に内包した。また、得られたプラスミド情報からプラスミド間の関係性をネットワークとして表示するシステム (inter Plasmid Analyzing Tool: iPAT)を引き続き改良し、web 上にプラスミド間の類似性の3次元プロット、および、階層的クラスタリング解析を行うための基盤を構築した。

(関塚剛史、谷津弘仁、糸川健太郎、黒田 誠)

6. 院内感染事例に係る原因細菌の比較ゲノム解析

国内で発生した1例の院内感染事例由来分離株の比較ゲノム解析を行った。これら解析の大部分は、GenEpid-J 上で解析を行った。ゲノム分子系統解析の結果、コアゲノム領域には数塩基の差異しか認められなかった。プロフェージ領域の脱落が一部の分離株で認められたが、同一クローンによる院内感染であることが強く示唆された。また、国外分離株のゲノムデータとも比較した結果、過去に東南アジア近辺で分離されたゲノム配列と近縁であることが明らかとなった。

(関塚剛史、稲嶺由羽、田中里奈、黒田 誠、松井真理[薬剤耐性菌センター]、鈴木里和[薬剤耐性菌センター]、菅井基行[薬剤耐性菌センター])

7. 環境中に存在する薬剤耐性腸内細菌科細菌に関する研究

昨年度に引き続き、薬剤耐性菌研究のワンヘルスアプローチの一環として、国内の下水処理水を採取し、メタゲノム解析を行った。また、ESBL およびカルバペネム耐性腸内細菌科細菌を分離後、完全長ゲノム配列を決定し、比較ゲノム解析を行った。2年間の継続的なモニタリングにより、下水処理水中の細菌叢および薬剤耐性遺伝子の存在比率は、季節性に相関することが示唆された。また、*bla*_{KPC-2} 保有の *Aeromonas* 属細菌、*bla*_{NDM-5} 保有大腸菌も下水処理水より分離され、*Aeromonas* 属菌は、*bla*_{KPC-2} とその他薬剤耐性遺伝子の潜在的なリザーバーとなる可能性があること、NDM-5 産生大腸菌の *bla*_{NDM-5} 保有 *IncX3* プラスミドは、東アジアの大腸菌と *Klebsiella* 属細菌の臨床分離株に関連することが明らかとなった。

(関塚剛史、糸川健太郎、橋野正紀、瀬川孝耶、稲嶺由羽、田中里奈、谷津弘仁、黒田 誠)

8. 病原真菌の比較ゲノム解析に関する研究

多剤抗真菌剤耐性 *Candida auris* が院内真菌感染症として世界的に問題となっている。本真菌による感染患者の致死率も高く、国外では、アウトブレイクの報告も認められる。本真菌は、国内でも分離されているものの、主に外耳道感染由来であり、大部分の分離株では、薬剤耐性は認められていない。国内で分離された *C. auris* の全ゲノム解読を行い、国外株との比較ゲノム解析を行った。Copy number variation 解析の結果、遺伝子重複が、抗真菌薬耐性に寄与していることが示唆された。

(関塚剛史、黒田 誠、梅山 隆[真菌部]、宮崎義継[真菌部]、榎村浩一[帝京大学大学院医学研究科 医真菌学]、井口成一[東京女子医科大学 医学部]、菊池 賢[東京女子医科大学 医学部])

VI. 脳膿瘍患者由来 *Streptococcus intermedius* における7型分泌装置依存的細胞傷害性の解析

小児脳膿瘍患者の膿瘍サンプルより原因菌として分離された *Streptococcus intermedius* (Si)TYG1620 株の病原性解明を目的に、全ゲノム解読・*in vivo* 実験・*in vitro* 実験を実施した結果、Type 7 Secretion System (T7SS)が重要な役割を担っていることが示唆された。より詳細な病態誘導におけるT7SSの機能解明を目的とした *in vitro* 実験により、上皮細胞株に対する T7SS 依存的な細胞傷害性の保有が明らかとなった。また、TYG1620 株と TYG1620 株を親株とした T7SS 変異株の培養上清を用いた Secretome 解析によりT7SS 依存的分泌タンパク質候補が複数同定された。本年度は、細胞傷害性に対する菌体側責任因子の探索を目的に、TYG1620 株の培養上清を限外濾過膜により 5 分画(≥ 100 kDa、50 – 100 kDa、30 – 50 kDa、10 – 30 kDa、3 – 10 kDa)に分け、各分画による細胞傷害性を検討した。その結果、菌体側責任因子が培養上清中の 50 – 100 kDa の分画に含まれることが示唆された。さらに T7SS 関連遺伝子群を保有していない Type strain である Si JCM12996^T 株を供試し、細胞傷害性について TYG1620 株との比較解析を行なった結果、JCM12996^T 株では、細胞傷害活性が有意に低いことが確認された。これらの研究成果から、TYG1620 株の保有する上皮細胞株に対する傷害性は、50 – 100 kDa の大きさの T7SS 依存的分泌毒素に起因することが示唆された。

(橋野正紀、田中里奈、糸川健太郎、関塚剛史、黒田 誠)

VII. 病原性及び感染成立に関与する宿主因子の探索に関する研究

CRISPR/Cas9 システムを用いた、培養細胞ノックアウトライブラリーにより、細菌毒素、ウイルスタンパク質と結合及び相互作用する宿主側因子を把握することが可能となる。NGS を用いた deep sequencing による網羅的な解析が必須であり、これまで、解析用 web アプリケーションを開発してきた。昨年度に引き続き、解析用 web アプリケーションの改良を実施し、結果の描画、及び、関連遺伝子の二次解析 (GeneOntology、KEGG pathway、Reactome 解析) が web 上で行えるようにした。また、パラミクソウイルスを接種した際の CRISPR/Cas9 KO システムの解析も行い、本ウイルスの感染に関与する宿主因子を抽出した。

(関塚剛史、黒田 誠、山地俊之[細胞化学部]、花田賢太郎[細胞化学部]、加藤大志[ウイルス第三部]、直 亨則[ウイルス第三部]、竹田 誠[ウイルス第三部])

VIII. 衛生害虫等の昆虫ゲノム解析

1.ニホンサンショウバエおよび共生二種のゲノムアセンブリ

2019年に新潟県佐渡市で採集されたニホンサンショウバエ *Sergentomyia squamirostris* 一頭を用いてゲノムアセンブリを試みた。その結果、サンショウバエ自身のゲノムの他にリケッチャ一種とボルバキア一種の完全長ゲノムがそれぞれアセンブリされた。16S 系統解析の結果から今回見つかったリケッチャ (RiSSQ) は広範な無脊椎動物種 (ヒル、昆虫) やアメバから見つかる TORIX 群と呼ばれる系統群に属している種であることが分かった。今回得られたゲノムアセンブリは、TORIX 群のリケッチャとしてはこれまでのところ唯一の完全長ゲノムである。佐渡ヶ島で採集された他のサンショウバエ個体を更に調査した結果 RiSSQ は 69% (20/32) のメス個体中に検出され、このリケッチャはニホンサンショウバエの共生微生物であると考えられる。一方で、オスのサンショウバエ個体 (0/13) からは RiSSQ は検出されなかった。これら結果から、RiSSQ は宿主であるサンショウバエに対してオス殺しあるいはメス化といった何らかの性比操作を行っている可能性が示唆された。今回用いた手法は、微小で、尚且、飼育が困難な節足動物のゲノム解析を目的としているが、同時に、それら節足動物に存在し分離培養が困難な微生物についても完全長ゲノムのアセンブリといった詳細なゲノム解析を行える可能性を示している。

(糸川健太郎、関塚剛史、黒田 誠、小林大介[昆虫医科学部]、伊澤晴彦[昆虫医科学部]、澤邊京子[昆虫医科学部]、葛西真治[昆虫医科学部]、三條場千寿[東京大学]、黒木章弘[東京大学])

2.ナミカ亜科汎用 SNPs 解析法の開発

ナミカ亜科 Culicinae はイェカ属 (*Culex*) やシマカ属 (*Aedes*) とした重要なアルボウイルス媒介種の蚊を多く含むグループである。このグループの蚊に汎用的に用いることができる変異解析ツールとして高度に保存されたゲノム配列領域をもとにハイブリダイゼーションプローブを開発した。このプローブセットは NGS ライブラリから蚊の種類を問わず約 3000 箇所の標的ゲノム領域を濃縮することができ、集団遺伝学や量的形質遺伝子座 (QTL) 解析に有用な SNPs 遺伝子型の情報を得ることが可能である。開発したプローブセットを用いて野外から採集したアカイエカ、チカイエカ、ヒトスジシマカ及び他のゲノム情報が未知な数種類の蚊について実際に実験を行い、標的領域を効率的に解析することができることを確認した。

(糸川健太郎、黒田 誠、前川芳秀[昆虫医科学部]、比嘉由紀子[昆虫医科学部]、高岡安希[昆虫医科学部]、渡辺

護[昆虫医科学部]、澤邊京子[昆虫医科学部]、金 京純[鳥取大])

3.ガーナ産およびベトナム産ネッタイシマカにおけるデングウイルス感受性の比較解析

デングウイルス感染に起因するデング熱は、熱帯地域を中心として公衆衛生上大きな問題となっている。特に東南アジアでは、毎年のように大規模な流行が発生している。その一方で、アフリカにおいては、ウイルスのベクターであるネッタイシマカが分布しているものの、東南アジアのようなデング熱の大きな流行はほとんど確認されていない。本研究では、上述のデングウイルス流行の規模を規定する要因として、媒介蚊のウイルス感受性に着目し、両地域で採集したネッタイシマカを用いたウイルス感染実験を行った。その結果、ベトナム産ネッタイシマカは、デングウイルス I 型に対してガーナ産よりも有意に高い感受性を示した。現在、デングウイルスの感受性に関与する遺伝子を特定するため、ベトナム産とガーナ産のネッタイシマカを交配して得られた子世代のウイルス感受性の解析を実施している。

(糸川健太郎、Michael Amo-Bosompem[昆虫医科学部]、小林大介[昆虫医科学部]、Astri Nur Faizah[昆虫医科学部]、澤邊京子[昆虫医科学部]、伊澤晴彦[昆虫医科学部]、太田伸生[東京医科歯科大]、岩永史朗[東京医科歯科大])

IX. 新型コロナウイルス SARS-CoV-2 ゲノム情報解析

1.SARS-CoV-2 ゲノム配列解読プロトコルの開発

2019年12月より世界的に流行している新型コロナウイルス SARS-CoV-2 について、患者検体 RNA から効率的にウイルスの全ゲノム配列を決定するための実験プロトコルの改良・開発を行った。英国の ARTIC Network が公表したマルチプレックスプライマーセットを基に、ダイマー形成により増幅効率の著しく悪いペアを特定しプライマーの再デザインを行った。また、Illumina 社のショートリードシーケンサーで対応可能にするためのライブラリ作成プロトコルを開発し公表した。(糸川健太郎、関塚剛史、橋野正紀、田中里奈、黒田 誠)

2.SARS-CoV-2 比較ゲノム分子疫学解析

2019年12月より2020年3月末までに本ウイルスの全長ゲノム配列を約 350 配列決定した。本ウイルスの自動ゲノム解析パイプラインを作成し、ネットワーク解析結果を描画・閲覧する web サイトも構築した。2020年2月に発生したダイヤモンド・プリンセス号クルーズ船内でのアウトブレイク対応も迅速

に行った。比較ゲノム分子疫学解析の結果、検疫を実施する以前に船内で行われたレクリエーションにより感染拡大が主に生じており、隔離後の同室内でも感染伝播が継続していたことが強く示唆された。また、海外より帰国した有症者から検出された本ウイルスのゲノム比較解析も実施し、欧州で拡大していた系統であることを明らかにした。

(関塚剛史、糸川健太郎、橋野正紀、田中里奈、谷津弘仁、黒田 誠、影山 努[インフルエンザウイルス研究センター]、齊藤慎二[インフルエンザウイルス研究センター]、高山郁代[インフルエンザウイルス研究センター]、浅沼秀樹[インフルエンザウイルス研究センター]、長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター]、松山州徳[ウイルス第三部]、白戸憲也[ウイルス第三部]、直 亨則[ウイルス第三部]、竹田 誠[ウイルス第三部]、高橋琢理[感染症疫学センター]、神谷 元[感染症疫学センター]、山岸拓也[感染症疫学センター]、柿本健作[感染症疫学センター]、鈴木 基[感染症疫学センター]、鈴木忠樹[感染病理部]、脇田隆字[国立感染症研究所]、他多数の地方衛生研究所・保健所・検疫所関係者)

X. 不明症例に係る網羅的病原体検索の行政・依頼検査への対応

針刺し損傷の後に重度の血球貪食症候群を呈する患者が発生した。当初、原因不明であったことから患者臨床検体のメタゲノム解析を行った。その結果、患者血清中に多数の *Candidatus Mycoplasma haemohominis* が存在することが明らかとなり、電子顕微鏡検査でも本菌種が観察された。そのメタゲノムデータより、本菌種のドラフトゲノム配列を世界で初めて決定し報告した。抗菌薬治療過程でキノロン耐性が認められたため、再度メタゲノム解析を行い、*gyrA* 遺伝子の QRDR に変異が生じていることが明らかになり、抗菌薬治療方針を変更して患者は快方へ向かった。*Candidatus M. haemohomini* は、血液向性性マイコプラズマに属し、動物の一般的な病原体であるが、生命にかかわる多臓器感染をヒトにも呈することが明らかとなり、一般に認識されているよりも頻繁に発症している可能性が示唆された。

(関塚剛史、黒田 誠、片野晴隆[感染病理部]、長谷川秀樹[感染病理部・インフルエンザウイルス研究センター]、脇田隆字[国立感染症研究所]、伊藤敬義[昭和大学江東豊洲病院]、渡邊裕之[昭和大学江東豊洲病院]、野村憲弘[昭和大学江東豊洲病院]、江口潤一[昭和大学江東豊洲病院]、服部憲路[昭和大学医学部]、詫間隆博[昭和大学医学部]、荒井奈々[昭和大学医学部]、柳井 亮[昭和大学医学部]、石井 翔[昭和大学医学部]、三浦瑤子[昭和大学医学部]、徳永剛広[昭和大学医学部]、中牧 剛[昭和大学医学部]、二木芳人[昭和大学医学部])

品質管理に関する業務

HPV ワクチンの国家検定

HPV ワクチン(2 価ワクチンおよび 4 価ワクチン)の検定を製剤担当室として担当した。検定試験項目の内、VLP 力価試験を試験担当室として実施した。また HPV ワクチンの製造・試験記録等要約書(summary lot protocol)の審査を実施した。(石井克幸、竹内隆正、終元 巖、黒田 誠)

国際協力関係業務

WHO HPV ラボラトリーネットワーク活動

WHO によって結成された HPV ラボラトリーネットワーク(HPV ラボネット)の、西太平洋地域リファレンスラボとしての活動を行った。HPV DNA proficiency panel study に参加し、送られてきた検体の HPV タイピングを行い、その結果を報告して、十分な HPV タイピング能力を持つラボとしての認定を受けた。(中村浩美、終元 巖)

発表業績一覧

I. 誌上発表

- 欧文発表
 - Hirose Y, Onuki M, Tenjimbayashi Y, Yamaguchi-Naka M, Mori S, Tasaka N, Satoh T, Morisada T, Iwata T, Kiyono T, Mimura T, Sekizawa A, Matsumoto K, Kukimoto I. Whole-genome analysis of human papillomavirus type 16 prevalent in Japanese women with or without cervical lesions. *Viruses*, 11(4), 2019.
 - Otani S, Fujii T, Kukimoto I, Yamamoto N, Tsukamoto T, Ichikawa R, Nishio E, Iwata A. Cytokine expression profiles in cervical mucus from patients with cervical cancer and its precursor lesions. *Cytokine*, 120:210-219, 2019.
 - Masuda Y, Saeki Y, Arai N, Kawai H, Kukimoto I, Tanaka K, Masutani C. Stepwise multipolyubiquitination of p53 by the E6AP-E6 ubiquitin ligase complex. *J Biol Chem*, 294(41):14860-14875, 2019.
 - Hirao N, Iwata T, Tanaka K, Nishio H, Nakamura M, Morisada T, Morii K, Maruyama N, Katoh Y, Yaguchi T, Ohta S, Kukimoto I, Aoki D, Kawakami Y. Transcription factor homeobox D9 is involved in the malignant phenotype of cervical cancer through direct binding to the human papillomavirus oncogene promoter. *Gynecol Oncol*, 155(2):340-348, 2019.
 - Ishii Y, Taguchi A, Kukimoto I. The homeobox

- transcription factor HOXC13 upregulates human papillomavirus E1 gene expression and contributes to viral genome maintenance. *FEBS Lett*, 594(4):751-762, 2020.
- 6) Mori S, Takeuchi T, Ishii Y, Kukimoto I. The transcriptional cofactor VGLL1 drives transcription of human papillomavirus early genes via TEAD1. *J Virol*, 94:e01945-19, 2020.
- 7) Baba S, Taguchi A, Kawata A, Hara K, Eguchi S, Mori M, Adachi K, Mori S, Iwata T, Mitsuhashi A, Maeda D, Komatsu A, Nagamatsu T, Oda K, Kukimoto I, Osuga Y, Fujii T, Kawana K. Differential expression of human papillomavirus 16-, 18-, 52-, and 58-derived transcripts in cervical intraepithelial neoplasia. *Virol J*, 17(1):32-32, 2020.
- 8) Maru Y, Kawata A, Taguchi A, Ishii Y, Baba S, Mori M, Nagamatsu T, Oda K, Kukimoto I, Osuga Y, Fujii T, Hippo Y. Establishment and molecular phenotyping of organoids from the squamocolumnar junction region of the uterine cervix. *Cancers*, 12(3), 2020.
- 9) Miyakawa K, Matsunaga S, Yokoyama M, Nomaguchi M, Kimura Y, Nishi M, Kimura H, Sato H, Hirano H, Tamura T, Akari H, Miura T, Adachi A, Sawasaki T, Yamamoto N, Ryo A. PIM kinases facilitate lentiviral evasion from SAMHD1 restriction via Vpx phosphorylation. *Nat. Commun.*, 10(1):1844, 2019.
- 10) Matsumoto T, Shirakawa K, Yokoyama M, Fukuda H, Sarca AD, Koyabu S, Yamazaki H, Kazuma Y, Matsui H, Maruyama W, Nagata K, Tanabe F, Kobayashi M, Shindo K, Morishita R, Sato H, Takaori-Kondo A. Protein kinase A inhibits tumor mutator APOBEC3B through phosphorylation. *Sci. Rep.*, 9(1):8307, 2019.
- 11) Koma T, Kotani O, Miyakawa K, Ryo A, Yokoyama M, Doi N, Akio Adachi A, Sato H, Nomaguchi M. Allosteric regulation of HIV-1 capsid structure for Gag assembly, virion production, and viral infectivity by a disordered interdomain linker. *J. Virol.*, 93(17):e00381-19, 2019. (The first two authors contributed equally)
- 12) Ushioda W, Kotani O, Kawachi K, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Hasegawa H, Shimizu H, Takahashi K, Nagata N. Neuropathology in Neonatal Mice After Experimental Coxsackievirus B2 Infection Using a Prototype Strain, Ohio-1. *J Neuropathol Exp Neurol*, 79: 209-225, 2020.
- 13) Ishii H, Matsuoka S, Ikeda N, Kurihara K, Ueno T, Takiguchi M, Naruse TK, Kimura A, Yokoyama M, Sato H, Matano T. Determination of a T cell receptor of potent CD8+ T cells against simian immunodeficiency virus infection in Burmese rhesus macaques. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 521:894-899, 2020.
- 14) Yamaji T, Sekizuka T, Tachida Y, Sakuma C, Morimoto K, Kuroda M, Hanada K. A CRISPR Screen Identifies LAPT4A and TM9SF Proteins as Glycolipid-Regulating Factors. *iScience*. 11:409-424, 2019.
- 15) Iwamoto T, Murase Y, Yoshida S, Aono A, Kuroda M, Sekizuka T, Yamashita A, Kato K, Takii T, Arikawa K, Kato S, Mitarai S. Overcoming the pitfalls of automatic interpretation of whole genome sequencing data by online tools for the prediction of pyrazinamide resistance in Mycobacterium tuberculosis. *PLoS One*. 14(2):e0212798, 2019.
- 16) Sekizuka T, Inamine Y, Segawa T, Hashino M, Yatsu K, Kuroda M. Potential KPC-2 carbapenemase reservoir of environmental *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* isolates from the effluent of an urban wastewater treatment plant in Japan. *Environ Microbiol Rep*. 11(4):589-597, 2019.
- 17) Yamaji T, Hanamatsu H, Sekizuka T, Kuroda M, Iwasaki N, Ohnishi M, Furukawa JI, Yahiro K, Hanada K. A CRISPR Screen Using Subtilase Cytotoxin Identifies SLC39A9 as a Glycan-Regulating Factor. *iScience*. 15:407-420, 2019.
- 18) Katoh H, Sekizuka T, Nakatsu Y, Nakagawa R, Nao N, Sakata M, Kato F, Kuroda M, Kidokoro M, Takeda M. The R2TP complex regulates paramyxovirus RNA synthesis. *PLoS Pathog*. 15(5):e1007749, 2019.
- 19) Arai N, Sekizuka T, Tamamura Y, Kusumoto M, Hinenoya A, Yamasaki S, Iwata T, Watanabe-Yanai A, Kuroda M, Akiba M. *Salmonella* Genomic Island 3 Is an Integrative and Conjugative Element and Contributes to Copper and Arsenic Tolerance of *Salmonella enterica*. *Antimicrob Agents Chemother*. 63(9):e00429-19, 2019.
- 20) Kikuchi K, Lee K, Ueno H, Tomari K, Kobori S, Kaetsu A, Matsui M, Suzuki S, Sekizuka T, Kuroda M, Miyazaki M, Ohnishi M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O121:H19

- acquired an extended-spectrum beta-lactamase gene during the development of an outbreak in two nurseries. *Microb Genom.* 5(7):e000278, 2019.
- 21) Nindita Y, Cao Z, Fauzi AA, Teshima A, Misaki Y, Muslimin R, Yang Y, Shiwa Y, Yoshikawa H, Tagami M, Lezhava A, Ishikawa J, Kuroda M, Sekizuka T, Inada K, Kinashi H, Arakawa K.
The genome sequence of *Streptomyces rochei* 7434AN4, which carries a linear chromosome and three characteristic linear plasmids. *Sci Rep.* 9(1):10973, 2019.
- 22) Sekizuka T, Inamine Y, Segawa T, Kuroda M. Characterization of NDM-5- and CTX-M-55-coproducing *Escherichia coli* GSH8M-2 isolated from the effluent of a wastewater treatment plant in Tokyo Bay. *Infect Drug Resist.* 12:2243-2249, 2019.
- 23) Kuroda M, Sekizuka T, Matsui H, Ohsuga J, Ohshima T, Hanaki H.
IS256-Mediated Overexpression of the WalKR Two-Component System Regulon Contributes to Reduced Vancomycin Susceptibility in a *Staphylococcus aureus* Clinical Isolate. *Front Microbiol.* 10:1882, 2019.
- 24) Takii T, Seki K, Wakabayashi Y, Morishige Y, Sekizuka T, Yamashita A, Kato K, Uchimura K, Ohkado A, Keicho N, Mitarai S, Kuroda M, Kato S.
Whole-genome sequencing-based epidemiological analysis of anti-tuberculosis drug resistance genes in Japan in 2007: Application of the Genome Research for Asian Tuberculosis (GReAT) database. *Sci Rep.* 9(1):12823, 2019.
- 25) Ikuta Y, Oba K, Nai E, Katori T, Hashino M, Inamine Y, Matsunaga S, Yamaoka Y, Sekizuka T, Ryo A, Kuroda M.
Aseptic meningitis caused by torque teno virus in an infant: a case report. *J Med Case Rep.* 13(1):302, 2019.
- 26) Sekizuka T, Lee K, Kimata K, Isobe J, Kuroda M, Iyoda S, Ohnishi M, Sata T, Watahiki M.
Complete Genome Sequence of an Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111:H8 Strain Recovered from a Large Outbreak in Japan Associated with Consumption of Raw Beef. *Microbiol Resour Announc.* 8(40):e00882-19, 2019.
- 27) Sekizuka T, Iguchi S, Umeyama T, Inamine Y, Makimura K, Kuroda M, Miyazaki Y, Kikuchi K.
Clade II *Candida auris* possess genomic structural variations related to an ancestral strain. *PLoS One.* 14(10):e0223433, 2019.
- 28) Masuda K, Ooka T, Akita H, Hiratsuka T, Takao S, Fukada M, Inoue K, Honda M, Toda J, Sugitani W, Narimatsu H, Ishioka T, Hirai S, Sekizuka T, Kuroda M, Morita Y, Hayashi T, Kimura H, Oishi K, Ohnishi M, Fujimoto S, Murakami K.
Epidemiological Aspects of *Escherichia albertii* Outbreaks in Japan and Genetic Characteristics of the Causative Pathogen. *Foodborne Pathog Dis.* 17(2):144-150, 2020.
- 29) Kubota H, Suzuki Y, Okuno R, Uchitani Y, Ariyoshi T, Takemura N, Mihara F, Mezaki K, Ohmagari N, Matsui M, Suzuki S, Sekizuka T, Kuroda M, Yokoyama K, Sadamasu K.
IMP-68, a Novel IMP-Type Metallo- β -Lactamase in Imipenem-Susceptible *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere.* 4(5):e00736-19, 2019.
- 30) Sekizuka T, Niwa H, Kinoshita Y, Uchida-Fujii E, Inamine Y, Hashino M, Kuroda M.
Identification of a *mecA/mecC*-positive MRSA ST1-t127 isolate from a racehorse in Japan. *J Antimicrob Chemother.* 75(2):292-295, 2020.
- 31) Yamagishi J, Hayashida K, Matsuo J, Okubo T, Kuroda M, Nagai H, Sekizuka T, Yamaguchi H, Sugimoto C.
Complete genome and bimodal genomic structure of the amoebal symbiont *Neochlamydia* strain S13 revealed by ultra-long reads obtained from MinION. *J Hum Genet.* 65(1):41-48, 2020.
- 32) Murakami K, Kimura S, Nagafuchi O, Sekizuka T, Onozuka D, Mizukoshi F, Tsukagoshi H, Ishioka T, Asai T, Hirai S, Musashi M, Suzuki M, Ohnishi M, Oishi K, Saruki N, Kimura H, Iyoda S, Kuroda M, Fujimoto S.
Flagellum expression and swimming activity by the zoonotic pathogen *Escherichia albertii*. *Environ Microbiol Rep.* 12(1):92-96, 2020.
- 33) Hattori N, Kuroda M, Katano H, Takuma T, Ito T, Arai N, Yanai R, Sekizuka T, Ishii S, Miura Y, Tokunaga T, Watanabe H, Nomura N, Eguchi J, Hasegawa H, Nakamaki T, Wakita T, Niki Y.
Candidatus *Mycoplasma haemohominis* in Human, Japan.

- Emerg Infect Dis. 26(1):11-19, 2020.
- 34) Kubomura A, Sekizuka T, Onozuka D, Murakami K, Kimura H, Sakaguchi M, Oishi K, Hirai S, Kuroda M, Okabe N.
Truncated Class 1 Integron Gene Cassette Arrays Contribute to Antimicrobial Resistance of Diarrheagenic *Escherichia coli*.
Biomed Res Int. 2020:4908189, 2020.
- 35) Takayama Y, Sekizuka T, Matsui H, Adachi Y, Eda R, Nihonyanagi S, Wada T, Matsui M, Suzuki S, Takaso M, Kitasato H, Kuroda M, Hanaki H.
Characterization of the IncFII-IncFIB(pB171) Plasmid Carrying *bla*_{NDM-5} in *Escherichia coli* ST405 Clinical Isolate in Japan.
Infect Drug Resist. 13:561-566, 2020.
- 36) Yamagishi T, Matsui M, Sekizuka T, Ito H, Fukusumi M, Uehira T, Tsubokura M, Ogawa Y, Miyamoto A, Nakamori S, Tawa A, Yoshimura T, Yoshida H, Hirokawa H, Suzuki S, Matsui T, Shibayama K, Kuroda M, Oishi K.
A prolonged multispecies outbreak of IMP-6 carbapenemase-producing Enterobacterales due to horizontal transmission of the IncN plasmid.
Sci Rep. 10(1):4139, 2020.
- 37) Matsuyama S, Nao N, Shirato K, Kawase M, Saito S, Takayama I, Nagata N, Sekizuka T, Katoh H, Kato F, Sakata M, Tahara M, Kutsuna S, Ohmagari N, Kuroda M, Suzuki T, Kageyama T, Takeda M.
Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells.
Proc Natl Acad Sci U S A. 117(13):7001-7003, 2020.
- 38) Shigemura H, Sakatsume E, Sekizuka T, Yokoyama H, Hamada K, Etoh Y, Carle Y, Mizumoto S, Hirai S, Matsui M, Kimura H, Suzuki M, Onozuka D, Kuroda M, Inoshima Y, Murakami K.
Food Workers as a Reservoir of Extended-Spectrum-Cephalosporin-Resistant *Salmonella* Strains in Japan.
Appl Environ Microbiol. 86(13):e00072-20, 2020.
- 39) Yoshida S, Iwamoto T, Arikawa K, Sekizuka T, Kuroda M, Inoue Y, Mitarai S, Tsuji T, Tsuyuguchi K, Suzuki K.
Bacterial population kinetics in heteroresistant *Mycobacterium tuberculosis* harbouring rare resistance-conferring mutations in *gyrA* and *rpoB* imply an epistatic interaction of mutations in a pre-XDR-TB patient.
J Antimicrob Chemother. 75(7):1722-1725, 2020.
- 40) Takahashi K, Sato Y, Sekizuka T, Kuroda M, Suzuki T, Hasegawa H, Katano H.
High expression of JC polyomavirus-encoded microRNAs in progressive multifocal leukoencephalopathy tissues and its repressive role in virus replication.
PLoS Pathog. 16(4):e1008523, 2020.
- 41) Shirakawa T, Sekizuka T, Kuroda M, Suzuki S, Ozawa M, Abo H, Furuya Y, Akama R, Matsuda M, Shimazaki Y, Kijima M, Kawanishi M.
Comparative Genomic Analysis of Third-Generation-Cephalosporin-Resistant *Escherichia coli* Harboring the *bla*_{CMY-2}-Positive IncI1 Group, IncB/O/K/Z, and IncC Plasmids Isolated from Healthy Broilers in Japan.
Antimicrob Agents Chemother. 64(7):e02385-19, 2020.
- 42) Adachi T, Chong JM, Nakajima N, Sano M, Yamazaki J, Miyamoto I, Nishioka H, Akita H, Sato Y, Kataoka M, Katano H, Tobiume M, Sekizuka T, Itokawa K, Kuroda M, Suzuki T.
Clinicopathologic and Immunohistochemical Findings from Autopsy of Patient with COVID-19, Japan.
Emerg Infect Dis. 26(9), 2020.
- 43) Shimizu A, Tsukagoshi H, Sekizuka T, Kuroda M, Koizumi A, Fujita M, Yamada Y, Saruki N.
Meningitis and bacteremia by nonhemolytic Group B *Streptococcus strain*: A whole genome analysis.
Microbiol Immunol. doi:10.1111/1348-0421.12826, 2020.
- 44) Sekizuka T, Kuramoto S, Nariai E, Taira M, Hachisu Y, Tokaji A, Shinohara M, Kishimoto T, Itokawa K, Kobayashi Y, Kadokura K, Kamiya H, Matsui T, Suzuki M, Kuroda M.
SARS-CoV-2 Genome Analysis of Japanese Travelers in Nile River Cruise.
Front Microbiol. 11:1316, 2020.
- 45) Itokawa K, Sekizuka T, Yatsu K, Maekawa Y, Komagata O, Tomita T, Kuroda M, Sawabe K, Kasai S.
High-throughput genotyping of full voltage gated sodium channel gene from genomic DNA using target capture sequencing and analytical pipeline MoNaS to discover novel insecticide resistance mutations.

PLoS Neglected Tropical Diseases, 13(11): e0007818.

- 46) Faizah, A.N., Kobayashi, D., Isawa, H., Amoa-Bosompem, M., Murota, K., Higa, Y., Futami, K., Shimada, S., Kim, K.S., Itokawa, K., Watanabe, M., Tsuda, Y., Minawaka, N., Miura, K., Hirayama, K., Sawabe, K.

Deciphering the virome of *Culex vishnui* subgroup mosquitoes, the major vectors of Japanese encephalitis, in Japan.

Viruses, 12(3): 264, 2020.

- 47) Amoa-Bosompem, M., Kobayashi, D., Murota, K., Faizah, A.N., Itokawa, K., Fujita, R., Osei, J.H.N., Agbosu, E., Pratt, D., Kimura, S., Kwofie, K.D., Ohashi, M., Bonney, J.H.K., Dadzie, S., Sasaki, T., Ohta, N., Isawa, H., Sawabe, K., Iwanaga, S.

Entomological assessment of the status and risk of mosquito-borne arboviral transmission in Ghana.

Viruses, 12(2): 147, 2020.

2. 和文発表

- 1) 柗元 巖 ヒトパピローマウイルス、臨床検査法提要(改訂第 35 版)、1263-1265, 2020.
- 2) 黒田 誠 薬剤耐性菌問題における環境の重要性。水環境学会誌 2020 年 3 月 特集企画 81-84 「水環境中の薬剤耐性菌: 現状と対策」
- 3) 黒田 誠 次世代シーケンサーの細菌検査への応用と展望。臨床病理 Vol.67 No.12 (2020 年 01 月 10 日発売)

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Hirose Y, Tenjimbayashi Y, Yamaguchi-Naka M, Mori S., Onuki M, Matsumoto K, Kukimoto I. Identification of unique HPV16 variants prevalent in Japanese women with or without cervical lesions, DNA Tumour Virus Meeting 2019 (2019 年 7 月、トリエステ)
- 2) Kukimoto I. Molecular epidemiology of high-risk HPV infection in Japan, U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, Cancer Panel Meeting (2020 年 2 月、バンコク)
- 3) Sumner C, Kotani Q., Olson E, Musier-Forsyth K, Sato H., Ono A. MA-tRNA Interactions and their Role in Regulating the Plasma Membrane Specificity of HIV-1 Gag. Cold spring harbor 44th annual meeting on

Retroviruses. (2019 年 5 月、アメリカ合衆国、Cold spring harbor)

- 4) Sano K, Saito S, Suzuki T, Kotani Q., van Riet E, Ainai A, Tabata K, Takahashi Y, Yokoyama M., Sato H., Hasegawa H. HA-Stalk Reactive Secretory IgA Antibodies Exhibit Anti-Viral Activity By Steric Hindrance Of Viral HA And NA. 10th edition of Options for the Control of Influenza. (2019 年 8 月、シンガポール)

- 5) Toshiyuki Yamaji, Tsuyoshi Sekizuka., Hisatoshi Hanamatsu, Makoto Kuroda., Jun-ichi Furukawa, Kinnosuke Yahiro, Kentaro Hanada

Genome-wide CRISPR screens identify novel glycan regulators.

25th International Symposium on Glycoconjugates (2019 年 8 月 イタリア・ミラノ)

- 6) Masanori Hashino., Tsuyoshi Sekizuka., Yuba Inamine., Makoto Kuroda

CHARACTERIZATION OF THE CYTOTOXICITY BY *STREPTOCOCCUS INTERMEDIUS* TYPE SEVEN SECRETION SYSTEM.

MICROBIAL PATHOGENESIS & HOST RESPONSE (2019 年 9 月 アメリカ・ニューヨーク)

- 7) Amoa-Bosompem, M., Kobayashi, D., Murota, K., Faizah, A.N., Itokawa, K., Ohashi, M., Dadzie, S., Bonney, K.J., Sasaki, T., Isawa, H., Sawabe, K., Iwanaga, S.

COMPARING THE COMPETENCE OF GHANAIAN AND VIETNAMESE AEDES MOSQUITOES AS VECTORS OF THE DENGUE VIRUS,

American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH) 68th Annual Meeting, (2019 年 11 月 米国)

2. 国内学会

- 1) 柗元 巖、竹内史比古 ゲノムワイド関連解析による子宮頸癌感受性遺伝子の探索、第 18 回生命科学研究会 (2019 年 6 月、東京)
- 2) 廣瀬佑輔、天神林友梨、小貫麻美子、岩田 卓、清野透、松本光司、柗元 巖 HPV16 バリエントと子宮頸癌の進展リスクの関連、第 78 回日本癌学会総会 (2019 年 9 月、京都)
- 3) 森 清一郎、柗元 巖 転写因子 TEAD1 とその共役因子 VGLL1 による HPV16 初期遺伝子の転写、第 67 回日本ウイルス学会学術集会 (2019 年 10 月、東京)
- 4) Ishii Y., Taguchi A, Kukimoto I. The

- homeobox-transcription factor HOXC13 up-regulates the human papillomavirus early promoter and contributes to viral genome maintenance, 第 67 回日本ウイルス学会学術集会 (2019 年 10 月、東京)
- 5) Yamaguchi-Naka M, Tenjimbayashi Y, Hirose Y, Onuki M, Iwata T, Matsumoto K, Kukimoto I. Sequence analysis of human papillomavirus genotype 18 isolated from Japanese women, 第 67 回日本ウイルス学会学術集会 (2019 年 10 月、東京)
- 6) 宋 致宏、戸高玲子、横山 勝、宮崎直幸、岩崎憲治、片山和彦、村田和義 クライオ電子顕微鏡により明らかになったノロウイルスの動的構造変化. 日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会. (2019 年 6 月、名古屋)
- 7) 駒 貴明、小谷 治、土肥直哉、宮川 敬、梁 明秀、横山 勝、佐藤裕徳、足立昭夫、野間口雅子 HIV-1 Gag-CA リンカードメインの複製後期過程の役割. 第 34 回中国四国ウイルス研究会. (2019 年 6 月、香川)
- 8) ソン チホン、戸高玲子、横山 勝、宮崎直幸、岩崎憲治、片山和彦、村田和義 クライオ電子顕微鏡により明らかになったノロウイルスの動的構造変化. 第 57 回日本生物物理学会年会. (2019 年 9 月、宮崎)
- 9) 佐藤裕徳、塩田達雄、横山 勝 デングウイルスエンベロープと中和単抗体の相互作用の分子動力学解析. (Molecular dynamics simulations of interactions between dengue virus envelope and neutralizing monoclonal antibody) 第 60 回日本熱帯医学会大会. (2019 年 11 月、沖縄)
- 10) 小谷 治、横山 勝、中村浩美、佐藤裕徳 VP1-145 変異によるエンテロウイルス A71 カプシド蛋白質相互作用表面のアロステリック制御機構. (Allosteric regulation of the interaction surfaces of enterovirus A71 capsid protein by VP1-145 substitution) 第 60 回日本熱帯医学会大会. (2019 年 11 月、沖縄)
- 11) 小谷 治、横山 勝、小野 陽、佐藤裕徳 分子動力学計算を用いた Gag 前駆体蛋白質の構造機能予測. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (2019 年 11 月、東京)
- 12) 佐野 芳、齊藤慎二、鈴木忠樹、小谷 治、van Riet Elly、相内 章、田畑耕史郎、高橋宜聖、横山 勝、佐藤裕徳、長谷川秀樹 経鼻インフルエンザワクチンで誘導された抗 HA stalk 抗体の HA および NA の立体障害による抗ウイルス効果の発現. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (2019 年 11 月、東京)
- 13) 横山 勝、小谷 治、中村浩美、佐藤裕徳 ノロウイルスカプシドの血液型抗原結合部位に結合する化合物のインシリコスクリーニング. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会. (2019 年 11 月、東京)
- 14) 小谷 治、駒 貴明、宮川 敬、梁 明秀、横山 勝、土肥直哉、足立昭夫、野間口雅子、佐藤裕徳 HIV-1 カプシド “disorder” 領域の構造機能解析. 第 33 回日本エイズ学会学術集会・総会. (2019 年 11 月、熊本)
- 15) 横山 勝、小谷 治、土肥直哉、駒 貴明、野間口雅子、佐藤裕徳 HIV-1 エンベロープにおける脆弱部位の推定. 第 33 回日本エイズ学会学術集会・総会. (2019 年 11 月、熊本)
- 16) 横山 勝、小谷 治、土肥直哉、駒 貴明、野間口雅子、佐藤裕徳 アミノ酸配列の統計解析により推定された HIV-1 エンベロープのセクター. 第 42 回日本分子生物学会年会. (2019 年 12 月、福岡)
- 17) 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 コガタアカエイカ NIID-CTR 細胞の新規全ゲノムアセンブリ. 第 71 回日本衛生動物学会大会 (山口市、2019 年 4 月)
- 18) 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 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. 第 71 回日本衛生動物学会大会 (山口市、2019 年 4 月)
- 19) 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 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. 第 71 回日本衛生動物学会大会 (山口市、2019 年 4 月)
- 20) 鳥井 駿、鍛田龍星、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 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. 第 71 回日本衛生動物学会大会 (山口市、2019 年 4 月)
- 21) 葛西真治、糸川健太郎、高岡安希、駒形 修、富田隆史、津田良夫、沢辺京子 2013 年から 2015 年に成田空港で一時繁殖が確認されたネットアイシマカ 3 集団の殺虫剤抵抗性遺伝子. 第 71 回日本衛生動物学会大会 (山口市、2019 年 4 月)
- 22) 富田隆史、皆川恵子、小松謙之、駒形 修、糸川健太郎、葛西真治 ネットイトコジラミのアセチルコリンエステラーゼ阻害剤

- 抵抗性に関連する作用点変異。
第71回日本衛生動物学会大会 (山口市、2019年4月)
- 23) 駒形 修、糸川健太郎、富田隆史、葛西真治
バキュロウイルス発現系を用いたトコジラミ変異型アセチルコリンエステラーゼの殺虫剤に対する感受性低下の検証。
第71回日本衛生動物学会大会 (山口市、2019年4月)
- 24) 黒木章弘、糸川健太郎、駒形 修、葛西真治、沢辺京子、Sarkar Santana Rani, Shyamal Kumar Paul、松本芳嗣、三條場千寿
バングラデシュにおけるサンショウバエの殺虫剤抵抗性遺伝子変異の探索。
第71回日本衛生動物学会大会 (山口市、2019年4月)
- 25) 山地俊之、関塚剛史、花松久寿、黒田 誠、古川潤一、八尋錦之助、花田賢太郎
ゲノムワイドスクリーニングによって同定された糖鎖発現制御因子の解析
第38回日本糖質学会年会(名古屋市、2019年8月)
- 26) 白川崇大、小澤真名緒、阿保 均、古谷ゆかり、赤間亮子、松田真理、木島まゆみ、嶋崎洋子、川西路子、関塚剛史、黒田 誠
ブロイラー由来第3世代セファロスポリン耐性大腸菌が保有する blaCMY-2 陽性 Inc11、IncB/O/K/Z 及び IncA/C2 の海外由来株との比較解析
第162回日本獣医学会学術集会(つくば市、2019年9月)
- 27) 関塚剛史
感染症対策におけるゲノム情報活用の重要性
第59回日本臨床化学学会年次学術集会 (仙台市、2019年9月)
- 28) Naganori Nao, Toshiyuki Yamaji, Tsuyoshi Sekizuka, Kazuya Shirato, Shutoku Matsuyama, and Makoto Takeda.
Genome-wide CRISPR/Cas9 screen identifies host factors important for Pneumovirus replication.
第67回日本ウイルス学会学術集会 (江戸川区、2019年10月)
- 29) 糸川健太郎、駒形 修、関塚剛史、葛西真治、黒田 誠
ネットアイエカ雄性決定領域の解析。
第42回日本分子生物学会年会 (福岡市、2019年12月)
- 30) 関塚剛史、佐久間智理、糸川健太郎、花田賢太郎、黒田 誠、山地俊之
ゲノムワイド CRISPR/Cas9 スクリーニングシステムの *in silico* 解析 web アプリケーション
第42回日本分子生物学会年会 (福岡市、2019年12月)
- 31) 関塚剛史、谷津弘仁、糸川健太郎、橋野正紀、黒田 誠
ゲノミクスを用いた環境中の薬剤耐性菌問題への取り組み
第93回日本細菌学会総会 (名古屋市、2020年2月)
- 32) 関塚剛史、谷津弘仁、糸川健太郎、黒田 誠
細菌ゲノミクスを支援する Global Genome Epidemiology Database (gGENEPID) の開発
第93回日本細菌学会総会 (名古屋市、2020年2月)
- 33) 糸川健太郎、黒木章弘、三條場千寿、関塚剛史、田中里奈、小林大介、伊澤晴彦、葛西真治、沢辺京子、黒田 誠
ニホンサンショウバエ共生リケッチアの完全長ゲノムアセンブリ。
第93回日本細菌学会総会 (名古屋市、2020年2月)
- 34) 橋野正紀、関塚剛史、黒田 誠
Characterization of the T7SS-dependent cytotoxicity in *Streptococcus intermedius* pathogenicity.
第93回日本細菌学会総会 (名古屋市、2020年2月)
- 35) 田中里奈、橋野正紀、関塚剛史、黒田 誠
ヒト・口腔常在フローラ内での *Streptococcus intermedius* の生存戦略解析
第93回日本細菌学会総会 (名古屋市、2020年2月)
- 36) 新井暢夫、関塚剛史、玉村雪乃、楠本正博、日根野谷淳、山崎伸二、岩田剛敏、渡部綾子、黒田 誠、秋庭正人
我が国における単相変異型 *Salmonella* Typhimurium の小進化
第93回日本細菌学会総会 (名古屋市、2020年2月)
- 37) 本田尚子、佐藤法仁、中山真彰、松村隆之、関塚剛史、黒田 誠、阿戸 学、小林和夫、石井孝司、大原直也
Streptomycin dependent *Mycobacterium bovis* BCG possessing a 513 cytosine insertion in 16S rRNA gene
第93回日本細菌学会総会 (名古屋市、2020年2月)