

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2011～2015

課題番号：23590761

研究課題名(和文) 新奇アジュバントを用いたCTL誘導性ウエストナイルウイルスワクチンの開発

研究課題名(英文) Development of CTL-inducible West Nile virus vaccine using novel adjuvant

研究代表者

正木 秀幸 (MASAKI, Hideyuki)

近畿大学・生物理工学部・准教授

研究者番号：90247982

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：ウエストナイルウイルス(WNV)は、時に致死性の脳炎・髄膜炎を発症させるヒト感染性ウイルスであるが、未だヒト用の実用ワクチンや治療薬は存在しない。本研究においては、防御免疫を誘導するエンベロープ(E)蛋白に着目し、組換えWNV E蛋白とCTL誘導性新奇アジュバントであるポリグルタミン酸(-PGA)ナノ粒子とを組み合わせたモデルワクチンでマウスを免疫することにより、抗体のみならずCTLが誘導されることを確認した。さらに、組換えWNV E蛋白をスクリーニングプローブとするISAAC法により、日本脳炎(JEV)ワクチン被接種者末梢単核球から、WNV中和活性のあるヒトモノクローナル抗体を樹立した。

研究成果の概要(英文)：West Nile virus (WNV) is the human-infectious virus, which sometimes causes lethal encephalitis / meningitis, and vaccine and therapeutics for human use have not been developed yet. In this study, we focused on the envelope (E)protein, which can induce protective immunity. By immunizing mice with recombinant WNV E protein combined with - polyglutamic acid (-PGA) nano particles that is cytotoxic T lymphocyte (CTL) - inducible novel adjuvant, we confirmed that CTL as well as antibody specific for the epitopes on WNV E protein are efficiently induced. These results indicate that recombinant WNV E protein combined with -PGA nano particles have the potential for candidate of novel WNV vaccine. Furthermore, we have established human monoclonal antibodies, which possess neutralizing and protective activities against WNV, from Japanese encephalitis virus (JEV) vaccine - immunized volunteers, using WNV E protein and ISAAC technology. They may be applicable for antibody-based therapeutics.

研究分野：感染免疫学

キーワード：ウエストナイルウイルス E蛋白質 組換え蛋白質 成分ワクチン cross-presentation CTL 中和抗体 感染防御

1. 研究開始当初の背景

(1) ウエストナイルウイルス(WNV)は、フラビウイルス属に属する日本脳炎ウイルス(JEV)に近縁の蚊媒介性ヒト感染性ウイルスであり、その感染により高齢者層を中心に死亡率が4から14%におよぶ重篤な脳炎・髄膜炎を時に発症させる。自然界においては鳥と蚊によって感染環が成立し維持されているが、このウイルスは広い宿主域を持ち、本来このウイルスが存在しないとされていた北米において、ニューヨーク市での最初の患者の報告から僅か5年余りにて北米大陸全域で発症例が報告されるようになったことから、一旦ウイルスの侵入を許せば、我国においてもその根絶はほぼ不可能と思われ、また現在の国際間の交通事情や来るべき高齢化社会を考えれば、その対策は急務である。WNV 感染に対して抗ウイルス薬は未だ無く、従ってワクチン接種による感染予防が最も効果的と考えられており、現在種々のワクチンの開発が試みられているが、未だヒト用の実用ワクチンは存在していない。近縁の JEV に対する現行ワクチン(不活化全粒子ワクチン)に関する研究で得られた知見よれば、フラビウイルス属のウイルスに対する感染防御免疫を誘導する主体となるウイルス構造蛋白はエンペロープ(E)蛋白質であり、この部分に中和抗体エピトープが存在することが知られている。

(2) ウイルス感染に対する防御免疫としては、中和抗体による宿主細胞への感染阻止と、細胞傷害性T細胞(CTL)によるウイルス感染細胞の破壊が主要なものと考えられている。後者のCTLについては、それが自己MHCクラスI分子と主に細胞質内で合成された蛋白質に由来するペプチドとの複合体を認識することから、ウイルスが細胞に感染することにより、そのウイルス蛋白質が細胞質内で合成される生ワクチンやDNAワクチン接種時においては効率的に誘導されるものの、ウイルス蛋白質が細胞質内で合成され得ない不活化ワクチンや成分ワクチン接種時においては、中和抗体の誘導のみに止まると考えられてきた。しかしながら近年、ある条件下では、本来はCTLを誘導し得ないと考えられて来た不活化ワクチン等の外来性の蛋白質抗原であっても、MHCクラスI分子と外来性の蛋白質抗原に由来するペプチドの複合体が形成され、CTLが誘導される cross-presentation とよばれる現象が注目されるようになってきた。

(3) 以上の知見を基に、防御免疫を誘導する WNV の E 蛋白質と cross-presentation を誘導するアジュバントを組み合わせることで、成分ワクチンながら、中和抗体のみならずCTLをも誘導する、効率的かつ安全な WNV ワクチンの開発研究を計画した。

2. 研究の目的

(1) 以上の背景を基として本研究では、昆

虫細胞発現系により大量発現させた組み換え WNV E 蛋白質を、大阪大学の明石 満らにより開発された cross-presentation を誘導する比較的安全的なアジュバントである -polyglutamic acid (-PGA) ナノ粒子で内包したものをワクチン候補として C57/BL6 マウス(H-2^b)に免疫することにより、生ワクチン同様に中和抗体のみならずCTLも誘導するのか、等について中心に検討を行い、安全かつ効果的な WNV 組み換え成分ワクチンの開発に向けた研究を行う。以上の研究により、組み換え WNV E 蛋白質の免疫により有意な中和抗体の誘導と感染防御能が誘導され、とりわけ cross-presentation 誘導免疫において CTL の誘導と感染防御能の増強が確認されるならば、強毒性に変異する危険が常在する生ワクチンや宿主ゲノムに random integration の恐れがある DNA ワクチンに比べてより安全で、さらに現行の組織培養由来 JEV 不活化全粒子ワクチンの改良と実用 WNV ワクチンの開発につながる有意義な知見となることが期待される。

(2) 一方、WNV E 蛋白質には中和抗体エピトープが存在することから、組み換え WNV E 蛋白質には、WNV に対する中和抗体産生細胞のスクリーニングプローブとしての応用も期待出来る。大阪府立公衆衛生研究所の青山幾子らは、WNV に近縁の JEV ワクチン被接種者一部の血清中に、JEV のみならず WNV に対する中和活性も存在していることを見出した。我国において、WNV 感染者の末梢血単核球の入手は困難であること、また、国産のヒト WNV 中和抗体が無いこと等に鑑み、組み換え WNV E 蛋白質と JEV ワクチン被接種者の末梢血単核球を材料に、富山大学の小澤龍彦らにより開発された抗体産生細胞の high-throughput なスクリーニング法である ISAAC(Immunospot array assay on a chip)法を用いて、完全ヒト型の WNV 中和モノクローナル抗体の樹立を計画した。樹立された完全ヒト型 WNV 中和モノクローナル抗体は、WNV 感染症の予防や治療を目的とした抗体医薬としての応用展開が期待される。

3. 研究の方法

(1) 組換え WNV E 蛋白質の作成の最適化の検討

Drosophila 発現系による組換え WNV E 蛋白質の作成

先行研究で作成した WNV の E 蛋白質 N 末端側 80% (E 蛋白質アミノ酸 1 - 406 番目)を含む融合蛋白質(WNVE(N80%)-V5 エピトープ-His タグ)を培地に硫酸銅を添加することにより発現誘導・分泌する stable transfectant S2.WN を、無血清培地(Express Five)にて拡大培養し、硫酸銅添加・発現誘導後およそ 1 週間培養を続けることにより、培地中に組換え WNV E 蛋白質(WNVE(N80%)-V5 エピトープ-His タグ)の発現・分泌を行なった。遠心分離により培養上清を回収し、その

培養上清を、GEヘルスケア社により新たに開発・発売された HisTrap excel カラムを用いて Ni キレートクロマトグラフィー、続いてゲル濾過法により脱塩後、HiTrap Q HP カラムによりイオン交換クロマトグラフィー、最終ステップとして、HiLoad 16/60 Superdex 200 カラムでゲル濾過を行ない組換え WNV E 蛋白 (WNV E(N80%)-V5 エピトープ-His タグ) を精製した。

バキュロウイルス発現系による組換え WNV E 蛋白の作成

Drosophila 発現系により作成した組換え WNV E 蛋白には、GlaxoSmithKline 社のライセンスが掛かっているため、その後の研究における汎用性を考慮して、High Five 細胞もしくは Sf9 細胞に感染することにより、WNV の PrM 蛋白質の最終 15 アミノ酸残基(内部シグナル配列)から E 蛋白質アミノ酸 1 - 430 番目 (E 蛋白質 N 末端側 80% 相当部) にかけてを含む融合蛋白質 (prM(last 15AA)-WNV E(N80%)-His タグ) を発現・分泌する組換えバキュロウイルス (Bac.WN) を、先行研究にて作成した。Bac.WN を感染させて発現させた組換え WNV E 蛋白 (prM(last 15AA)-WNV E(N80%)-His タグ) を含む培養上清もしくは細胞 lysate 中には、拡散防止措置が求められる Bac.WN が存在しているため、本法により作成した組換え WNV E 蛋白の精製には、Bac.WN の除去もしくは不活化が不可欠である。BEI (Binary ethylenimine) 処理は、蛋白質には影響せずにウイルスの感染性を消失させる手法である。よって、BEI の濃度・処理時間を振り、プラークアッセイ法を用いて Bac.WN が不活化できる条件を検討した。また、融合蛋白質は培養上清に分泌されるように設計したが、Drosophila 発現系によるものより発現量が低かったため、培養上清・細胞 lysate それぞれについて、Western blot により発現量を比較した。

(2) 組換え WNV E 蛋白と -PGA ナノ粒子を用いた CTL および抗体誘導の最適化の検討

組換え WNV E 蛋白内包 -PGA ナノ粒子の免疫による CTL および抗体の誘導

組換え WNV E 蛋白を内包した -PGA ナノ粒子を C57BL/6 マウスに、蛋白量として 1 回当たり 100 µg を 1 週ごとに 3 回皮下免疫を行なった。非免疫マウスを対称とした。最終免疫より 1 週後に、血清および脾臓を採取した。脾臓については、速やかに単一浮遊脾細胞とし、溶血処理を行なった。血清については、GFP-V5 エピトープ-His タグ蛋白質で吸収処理後、組換え WNV E 蛋白を固相化したプレートとアルカリホスファターゼ標識抗マウス IgG 抗体とを用いた ELISA 法により、抗 WNV E 抗体の誘導を検討した。脾細胞については、既知の CTL エピトープペプチド (CD8 陽性 CTL 5 種類、CD4 陽性 CTL 1 種類) それぞれについて、特異的なインターフェロン (IFN-) 産生を ELISPOT 法により測定した。

投与プロトコル最適化の予備的検討

中川らは、蛋白内包 -PGA ナノ粒子の免疫により、抗腫瘍活性を示す CTL が効率良く誘導されることを報告している。一方、森らは、 -PGA ナノ粒子を抗原と混合したものの免疫により、効率良く中和抗体の誘導と感染防御能が誘導されることを報告している。よって、本研究においては、CTL、中和抗体の両者が効率良く誘導される条件を検討するために、モデル蛋白抗原として ovalbumin (OVA) を用い、 -PGA ナノ粒子に内包もしくは混合したものの免疫により、CTL と抗体の誘導効率の違いについて検討を行なった。OVA を内包、もしくは混合した -PGA ナノ粒子を C57BL/6 マウスに、蛋白量として 1 回当たり 100 µg を 1 週ごとに 3 回皮下免疫を行ない、最終免疫より 1 週後に、血清および脾臓・リンパ節細胞を採取した。血清については 2 倍の系列希釈を行い、OVA を固相化したプレートとペルオキダーゼ標識抗マウス IgG 抗体とを用いた ELISA 法により、吸光度が 0.1 を超える最大希釈倍率を抗体価とした。CTL の誘導については、脾細胞を PE 標識 OVA ペプチド/H-2K^b テトラマーと FITC 標識抗マウス CD8 抗体で 2 重染色を行い、両者共に染色される細胞を CTL とした。さらに、皮下、皮内、筋肉内の投与経路の違いについて、OVA を内包した -PGA ナノ粒子の免疫を、1 回当たり 100 µg を 1 週ごとに 3 回行い、最終免疫より 1 週後に所属リンパ節細胞を採取して PE 標識 OVA ペプチド/H-2K^b テトラマーと FITC 標識抗マウス CD8 抗体で 2 重染色を行うことにより、CTL の誘導効率を検討した。(3) ISAAC 法による JEV ワクチン被接種者末梢単核球からのヒト型 WNV 中和モノクローナル抗体の樹立

ヒト型 WNV 中和モノクローナル抗体の樹立
不活化 JEV ワクチン (ジェービック V[®]) 接種後 1 ヶ月の血清で WNV 中和活性 (FRNT₅₀ にて 10 倍以上) が認められたボランティアより末梢単核球を採取し、組換え WNV E 蛋白をコーティングしたマイクロチップを用いて細胞アレイを行い、WNV E 蛋白に結合する抗体を分泌している細胞を同定した。それらの細胞を回収し、5' -RACE 法により抗体の H 鎖および L 鎖の可変部遺伝子を増幅、それらをヒト定常部 (H 鎖および L 鎖) 遺伝子を含むカセットベクターに挿入し、Expi293F 細胞に導入することにより、IgG クラスの WNV E 蛋白特異的ヒト組換えモノクローナル抗体 3 種 (WN_11、WN_39、WN_83) を樹立した。抗体遺伝子導入 Expi293F 細胞の培養上清より、プロテイン G カラムを用いて、これらの組換え抗体を精製した。

ヒト型抗 WNV E モノクローナル抗体の WNV 中和活性および WNV 感染防御能の検討

2 倍の系列希釈を行なった、これら 3 種類の抗体それぞれを WNV NY99-6922 株と混合してインキュベーションした後、単層培養 Vero 細胞に接種し、メチルセルロース含有培地を

重層して培養した。抗体処理していない WNVE 接種のプラーク数より 70% 以上のプラーク数の減少 (PRNT₇₀) をきたす最大希釈により中和抗体価とした。さらに、LD₅₀ 5 倍量の WNVE を C57BL/6 マウスに腹腔内接種し、同日および 2 4 時間後にそれぞれの抗体 0.35mg を皮下投与、その後の生存状態をモニターすることにより、それぞれの抗体の WNVE 感染防御能を検討した。

4. 研究成果

(1) 組換え WNVE 蛋白の作成の最適化の検討

Drosophila 発現系による組換え WNVE 蛋白の作成

従来用いていた Ni キレートクロマトグラフィー用カラムの HisTrap HP は、培養上清を直接カラムに掛けることが出来ず、サンプルのバッファー交換を要したため、リットルオーダーに及ぶ大量のサンプルを処理することは困難であった。新たに発売された HisTrap excel は、培養上清を直接カラムに掛けることが出来るため、これを HisTrap HP に換えて用いることにより、組換え WNVE 蛋白精製の大幅な効率化がもたらされた。HisTrap excel カラムによる Ni キレートクロマトグラフィー HiTrap Q HP カラムによりイオン交換クロマトグラフィー HiLoad 16/60 Superdex 200 カラムでゲル濾過の 3 ステップにより、約 1 L の培養上清から 10 mg 前後の組換え WNVE 蛋白 (WNVE(N80%)-V5 エピトープ-His タグ) が安定して迅速に精製できるようになった。図 1 にクロマトグラムを示す。(赤紫の枠で囲った部分を回収して次のステップに掛け、ゲル濾過に付いては、それを最終精製品とした。)

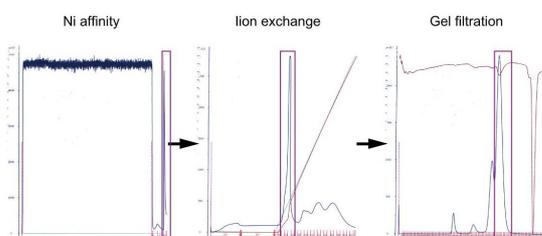
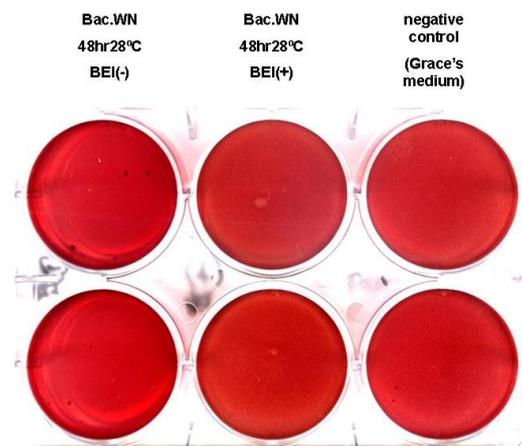


図 1 組換え WNVE 蛋白精製のクロマトグラム

バキュロウイルス発現系による組換え WNVE 蛋白の作成

先に述べたように、バキュロウイルス発現系より作成した組換え WNVE 蛋白の大量精製には、組換えバキュロウイルス Bac.WN の除去もしくは不活化が不可欠である。よって、蛋白質には影響せずウイルスの感染性を消失させる BEI (Binary ethylenimine) の濃度および処理時間を振って、Bac.WN の不活化について調べたところ、図 2 に示すように、1 M の BEI の存在下に 2 8 で 4 8 時間処理することにより、完全に不活化出来ることが確認された。(図 2 BEI 処理有り (+) 無し

(-)、およびネガティブコントロール (Grace 培地のみで、Bac.WN を全く加えていないもの。) をプラークアッセイに掛け、neutral red で染色した。BEI (-) では、Bac.WN の感染により Sf-9 細胞が変性・脱落して透明に見えるが、BEI (+) およびネガティブコントロールでは、細胞が密に増殖しているために濁って見える。)



BEI(+): 1M BEI (Binary ethylenimine)

BEI(-): without BEI

図 2 BEI 処理による組換えバキュロウイルスの不活化

さらに、バキュロウイルス発現系による組換え WNVE 蛋白の発現量は、予測していたものよりも低かったため、培養上清・細胞 lysate それぞれについて、Western blot により発現量を比較し、発現最適化の予備検討をおこなった (図 3 1 次抗体に抗フラビウイルス E 蛋白マウスモノクローナル抗体 (IgG)、2 次抗体にアルカリホスファターゼ標識抗マウス IgG 抗体を用いた Western blot)。



1; Drosophila 発現系上清

2; Bac.WN 感染 3 日目 High Five 細胞上清

3; Bac.WN 感染 3 日目 High Five 細胞 lysate

4; Bac.WN 感染 4 日目 High Five 細胞上清

5; Bac.WN 感染 4 日目 High Five 細胞 lysate

6; Bac.WN 感染 7 日目 High Five 細胞上清

7; Bac.WN 感染 7 日目 High Five 細胞上清

(ウシ胎児血清 0.05% 含有)

図 3 Western blot による組換え WNVE 蛋白発現量の比較

バキュロウイルス発現系では、Bac.WN 感染後 3 日目・4 日目の細胞 lysate 中に最も発現量が高いが、それより長期間の培養では、恐

らく内在性プロテアーゼ等により、組換え WNVE 蛋白が分解される傾向が観られた(レーン6・7参照)。しかしながら、Drosophila 発現系に比べれば発現量は低く、同一容積の原末から精製を開始しても、精製蛋白の収量は、Drosophila 発現系のその約100分の1程度であった。よって、収率の改善には、plaque purification 法等による Bac.WN の high producer の選択の必要性が示唆された。

(2) 組換え WNVE 蛋白と -PGA ナノ粒子を用いた C T L および抗体誘導の最適化の検討

組換え WNVE 蛋白内包 -PGA ナノ粒子の免疫による C T L および抗体の誘導
 Drosophila 発現系で作成した組換え WNVE 蛋白を内包した -PGA ナノ粒子を C57BL/6 マウスに、蛋白量として1回当たり 100 μg を1週ごとに3回皮下免疫を行ない、最終免疫より1週後の脾細胞を採取して、WNV 感染により C57BL/6 マウスに誘導される E 蛋白上に存在する既知の C T L エピトープペプチド (CD8 陽性 C T L について5種類、CD4 陽性 C T L について1種類) それぞれについて、それらに反応して特異的に IFN- を産生する細胞群が誘導されるかについて ELISPOT 法により検討した。(図4、表1・2)(図4の1~3列は非免疫マウスの脾細胞のスポット、4~6列は WNVE 蛋白内包 -PGA ナノ粒子免疫マウスの脾細胞のスポット。スポット1つ1つは、IFN- 産生細胞を示す。)

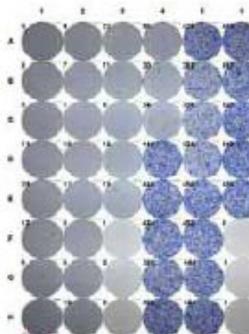


図4 スポットの
写真

表1
ペプチドの種類と
図4のアライメント

peptide	Immunization	
	(-)	(+)
(-)	A1-G1	A4-G4
E4-12	D1-F1	D4-F4
E57-64	G1,H1,A2	G4,H4,A5
E231-239	B2-D2	B5-D5
E357-364	E2-G2	E5-G5
E6-14	H2,A3,B3	H5,A6,B6
E351-365	C3-E3	C6-E6

表2 それぞれのペプチドに対するスポット数

	peptide						
	(-)	E4-12 ^a	E57-64 ^a (E17-24)	E231-239 ^a	E357-364 ^a (26-59-1)	E6-14 ^a (26-59-2)	E351-365 ^a
Non-immunized	5	17	7	6	7	15	12
Immunized w. WNVE/γ-PGA	54	437	427	310	449	441	519

^aMHC class I-restricted
^bMHC class II-restricted

図4、表1・2に示すように、組換え WNVE 蛋白内包 -PGA ナノ粒子免疫により、非免疫マウスと比べて有意に、種々の C T L エピトープペプチドに対して反応して IFN- を産生する細胞群が誘導されることから、WNVE 蛋白内包 -PGA ナノ粒子免疫による C T L の誘導が示された。さらに、最終免疫より1週後の血清採取し、WNVE 蛋白に結合する抗

体を ELISA 法で調べたところ、図5に示すように、WNVE 蛋白内包 -PGA ナノ粒子免疫マウスには、WNVE 蛋白特異的抗体の誘導が確認された。

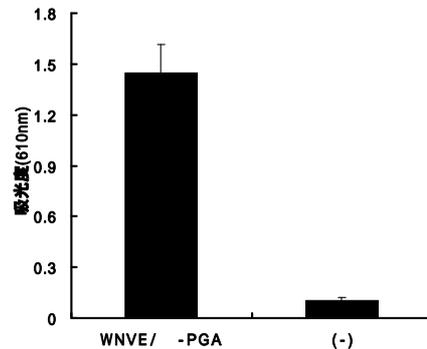


図5 WNVE 蛋白内包 -PGA ナノ粒子免疫による抗 WNVE 蛋白抗体の誘導 (横軸の WNVE/ -PGA は、WNVE 蛋白内包 -PGA ナノ粒子免疫マウス血清を、(-)は非免疫マウスの血清を示す。)

以上より、組換え WNVE 蛋白内包 -PGA ナノ粒子免疫により、WNVE 蛋白に対する C T L と抗体の両者が誘導されることが示された。

投与プロトコール最適化の予備的検討

-PGA ナノ粒子に内包もしくは混合したものの免疫により、C T L と抗体の誘導効率の違いが報告されているため、モデル蛋白抗原として OVA を用い、C T L と抗体の誘導効率の違いについて検討を行なった。OVA(100 μg)を -PGA ナノ粒子に内包もしくは混合して1週ごと3回皮下免疫し、最終免疫より1週後の特異的 C T L の誘導と抗体価を、それぞれテトラマーアッセイと ELISA で測定した。図6に示すように、C T L の誘導については内包の方が優位であるが、抗体については混合の方が優位であった(図7)(/ -PGA は -PGA ナノ粒子に内包を、 -PGA +は混合を表す。)

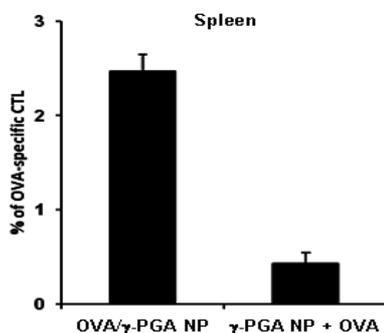


図6 OVA 特異的 C T L の誘導

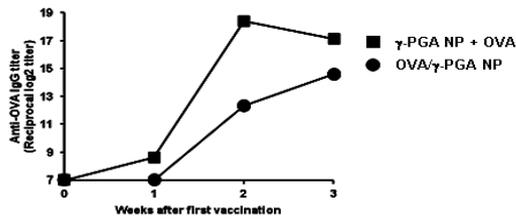


図7 OVA 特異的 I g G 抗体価

さらに、 γ -PGA ナノ粒子に内包 OVA について、皮下、皮内、筋肉内投与のそれぞれについて C T L の誘導効率をテトラマーアッセイで検討したところ、皮内投与が最も優位であった(図8)。

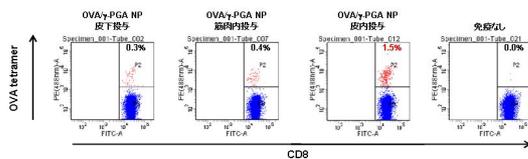


図8 免疫ルートによる C T L 誘導効率

以上の結果に基づき、今後は WNV E 蛋白内包 γ -PGA ナノ粒子と WNV E 蛋白を混合したものをモデルワクチンとし、皮内投与を中心として、WNV 感染に対する防御効果の検討を進める。

(3) ISAAC 法による JEV ワクチン被接種者末梢単核球からのヒト型 WNV 中和モノクローナル抗体の樹立

ヒト型 WNV 中和モノクローナル抗体の樹立不活化 JEV ワクチン被接種者の末梢単核球から、組換え WNV E 蛋白をプローブとして ISAAC 法により、3 種類の IgG クラスの WNV E 蛋白特異的ヒト組換えモノクローナル抗体(WN_11, WN_39, WN_83)を樹立した。これらは、それぞれ独立した抗体可変部遺伝子を用いており、競合阻害 ELISA によりエpiteope の共有を観たところ、互いに独立したエpiteope を認識していた。

ヒト型抗 WNV E モノクローナル抗体の WNV 中和活性および WNV 感染防御能の検討

プラーク減少法により、これらの抗体の WNV に対する中和活性を検討したところ、全ての抗体が中和活性を有しており、WN_83 が最も強い中和活性を有していた(図9)。

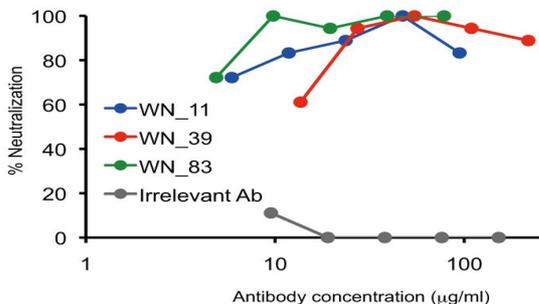


図9 抗体の WNV に対する中和活性

さらに、WNV を接種した C57/BL6 マウスに各

抗体を投与して防御効果を検討したところ、いずれの抗体も生存期間の延長効果を認めしたが、WN_83 が最も効果的であった(図10)。

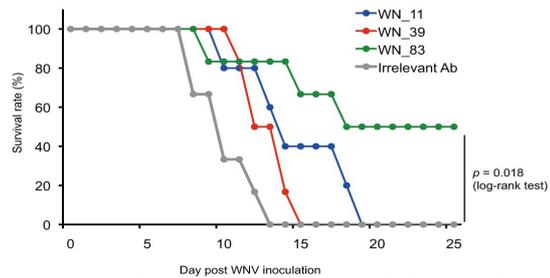


図10 抗体の WNV に対する感染防御効果

今後は、これら完全ヒト型抗体の抗体医薬としての可能性の検討を進める。

5. 主な発表論文等

(学会発表)(計5件)

正木秀幸 . I S A A C 法による日本脳炎ワクチン被接種者末梢単核球からのヒト抗ウエストナイルウイルス中和モノクローナル抗体の樹立 . 第 6 3 回日本ウイルス学会学術集会, 平成 2 7 年 1 1 月 2 3 日, 福岡国際会議場 (福岡県福岡市)

正木秀幸 . I S A A C 法による日本脳炎ワクチン被接種者末梢単核球からのヒト抗ウエストナイルウイルス中和モノクローナル抗体の樹立 (第 2 報) . 第 2 2 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会, 平成 2 7 年 1 1 月 2 1 日, 福岡国際会議場 (福岡県福岡市)

Masaki, H. Establishment of West Nile virus - neutralizing human monoclonal antibodies derived from the individuals vaccinated with inactivated Japanese encephalitis virus by ISAAC technology (2nd). 第 4 4 回日本免疫学会総会・学術集会, 平成 2 7 年 1 1 月 1 8 日, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)

Masaki, H. Establishment of West Nile virus - neutralizing human monoclonal antibodies derived from the individuals vaccinated with inactivated Japanese encephalitis virus by ISAAC technology. 第 4 3 回日本免疫学会総会・学術集会, 平成 2 6 年 1 2 月 1 1 日, 国立京都国際会館 (京都府京都市)

正木秀幸 . I S A A C 法による日本脳炎ワクチン被接種者末梢単核球からのヒト抗ウエストナイルウイルス中和モノクローナル抗体の樹立 . 第 2 1 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会, 平成 2 6 年 1 1 月 9 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

6. 研究組織

研究代表者

正木 秀幸 (MASAKI Hideyuki)

近畿大学・生物理工学部・准教授

研究者番号: 9 0 2 4 7 9 8 2