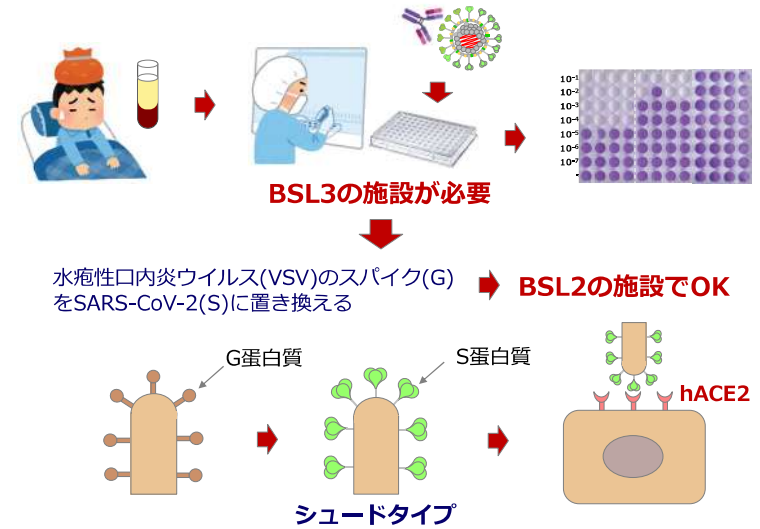


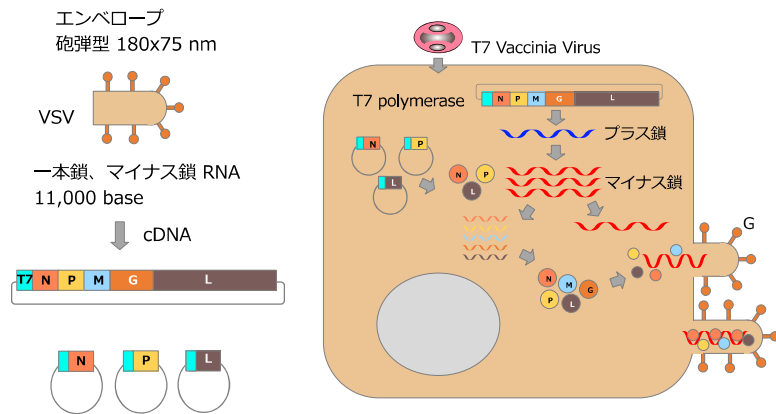
今日のお話

1. 新型コロナウイルスの性状
2. ワクチン開発
- 3. 中和抗体の測定系**
4. ウイルスの人工合成系

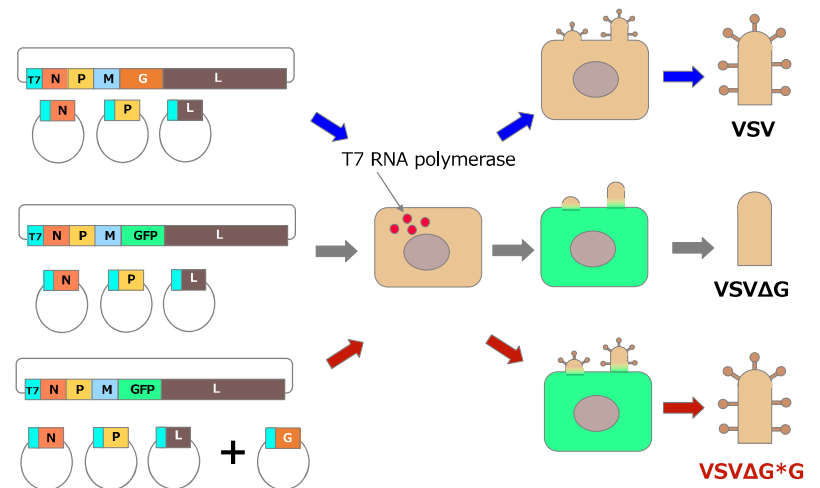
中和抗体の測定法



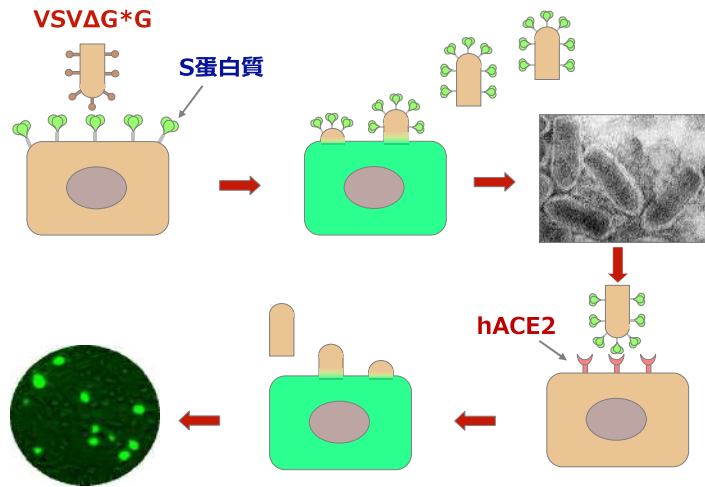
水疱性口内炎ウイルス(VSV)のプラスミドDNAから再構築



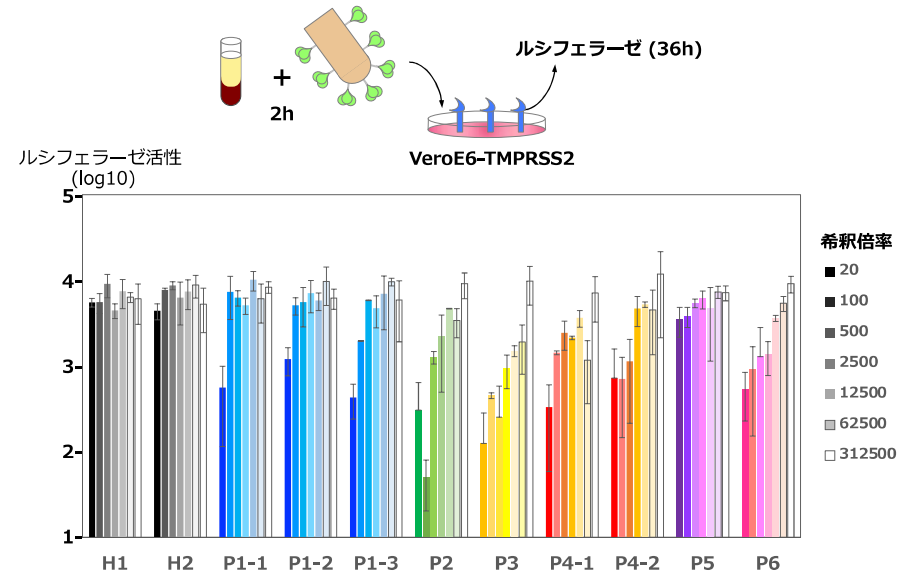
リポーター遺伝子を搭載したVSVの構築



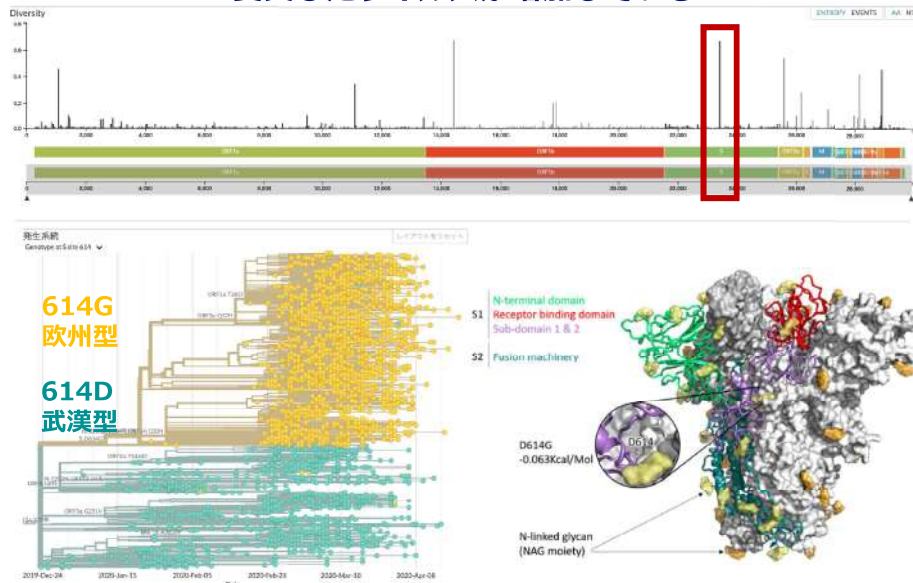
S蛋白質を搭載したシュードタイプVSVの作製



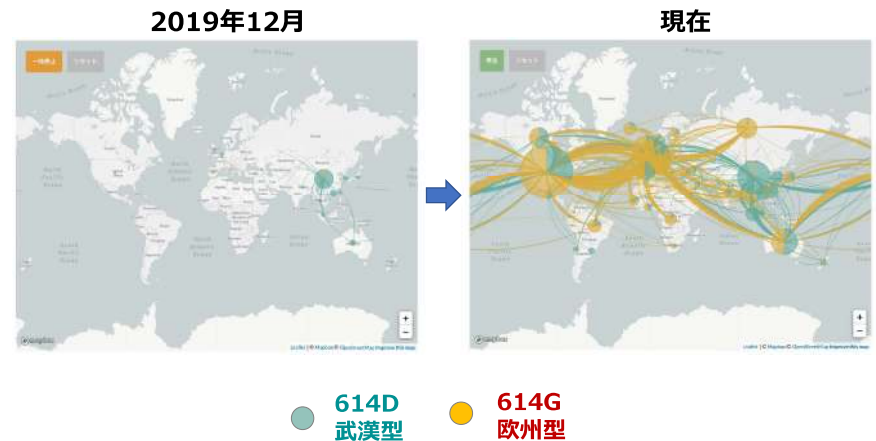
患者血清を用いた中和活性試験



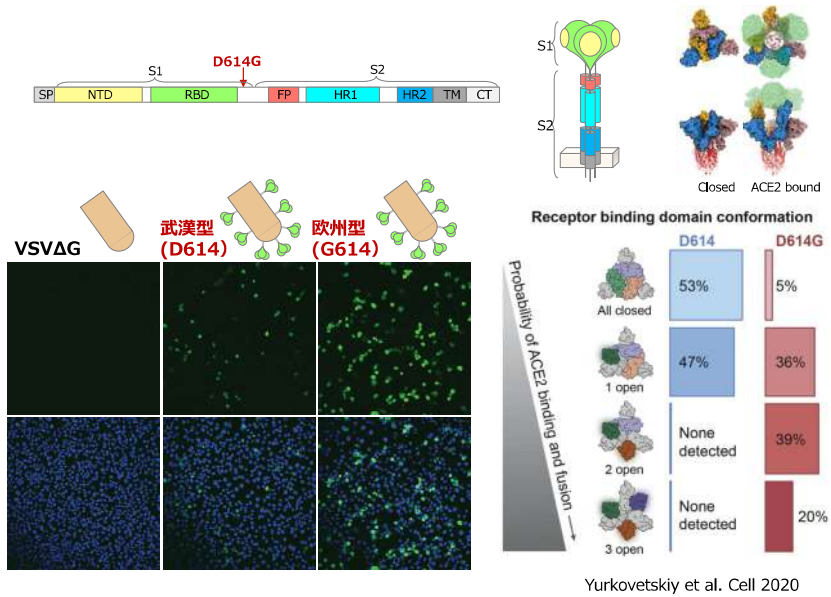
S蛋白質の614番目のアスパラギン酸(D)がグリシン(G)に変異したウイルスが増加している



S蛋白質の614番目のアスパラギン酸(D)がグリシン(G)に変異したウイルスが増加している



D614G変異S蛋白質を搭載したシュードタイプVSV

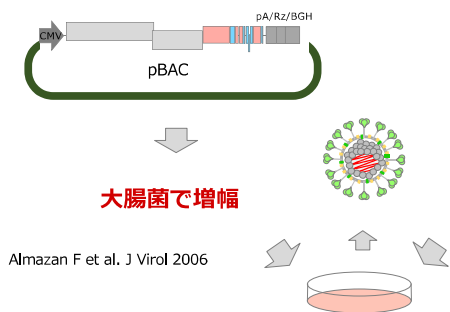


今日のお話

1. 新型コロナウイルスの性状
2. ワクチン開発
3. 中和抗体の測定系
4. ウイルスの人工合成系

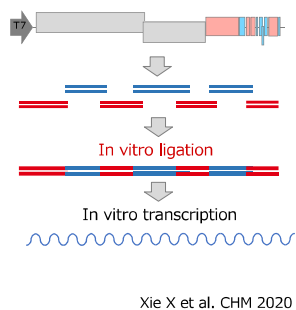
SARS-CoV-2の感染性cDNAクローンの作製

Bacterial Artificial Chromosome



操作が難しい
大腸菌の中で変異が入る

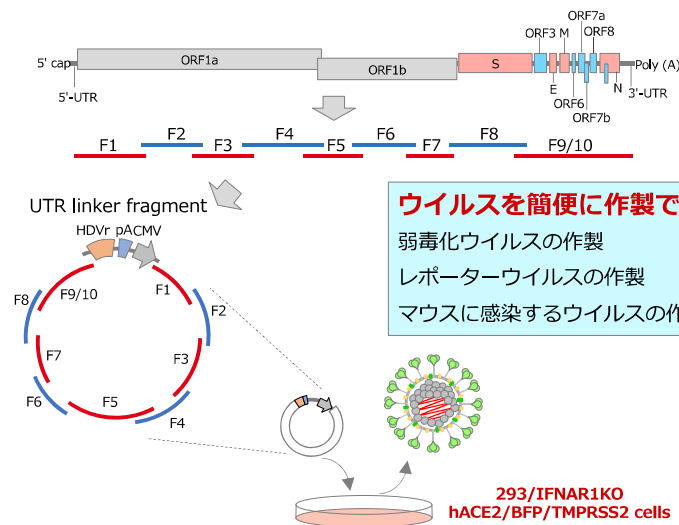
In vitro ligation



習熟を要す
操作が煩雑

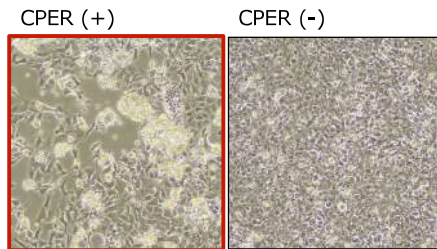
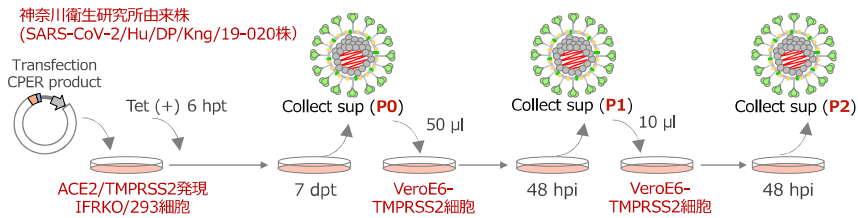
大腸菌を使わない感染性クローンの作製

CPER: Circular Polymerase Extension Reaction



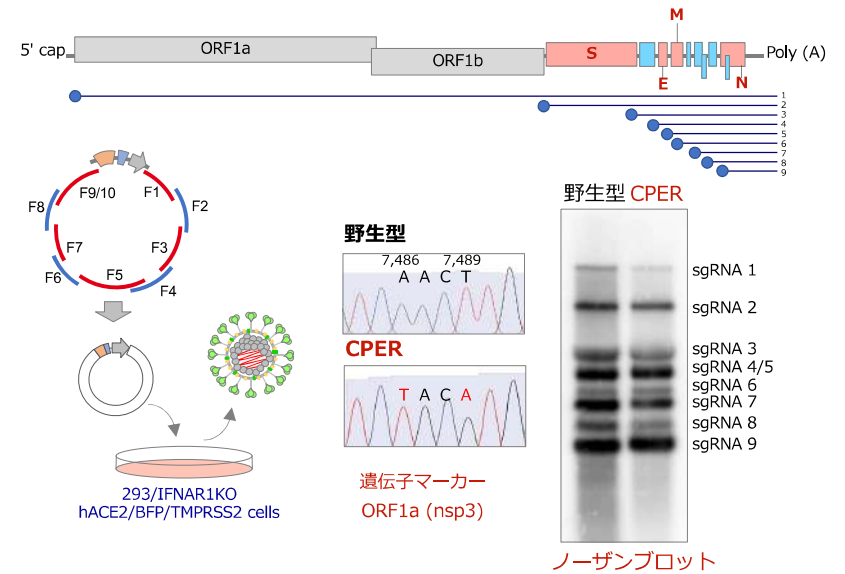
ウイルスを簡単に作製できる
弱毒化ウイルスの作製
レポーターウイルスの作製
マウスに感染するウイルスの作製

CPER法によるウイルス作製

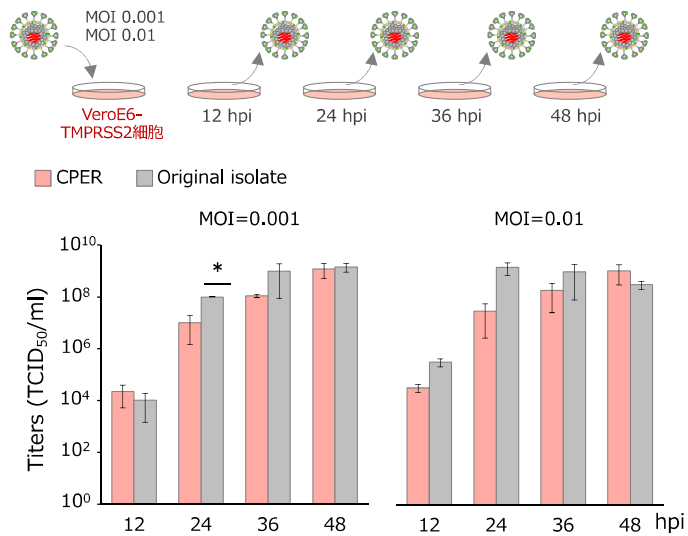


Titers	TCID ₅₀ /ml
P0	10 ^{5.8}
P1	10 ^{6.3}
P2	10 ^{5.8}

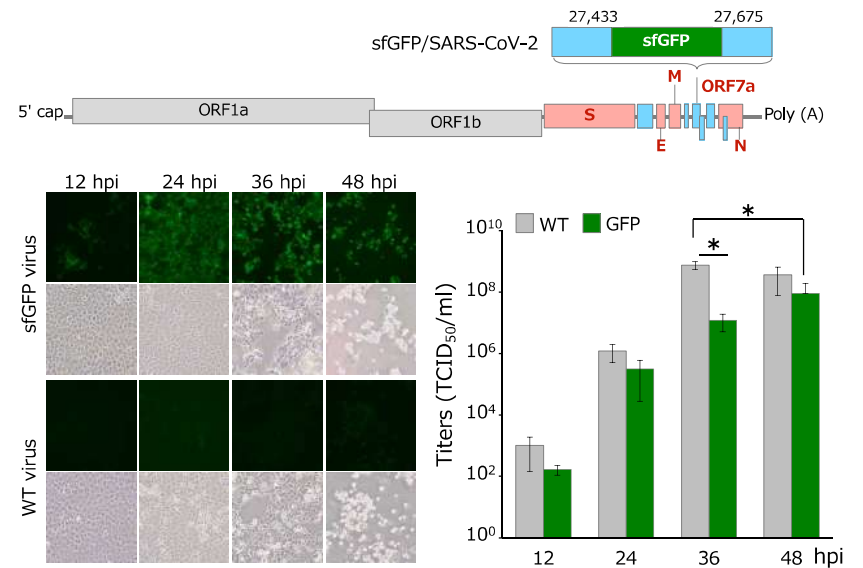
CPER法によるウイルスの性状



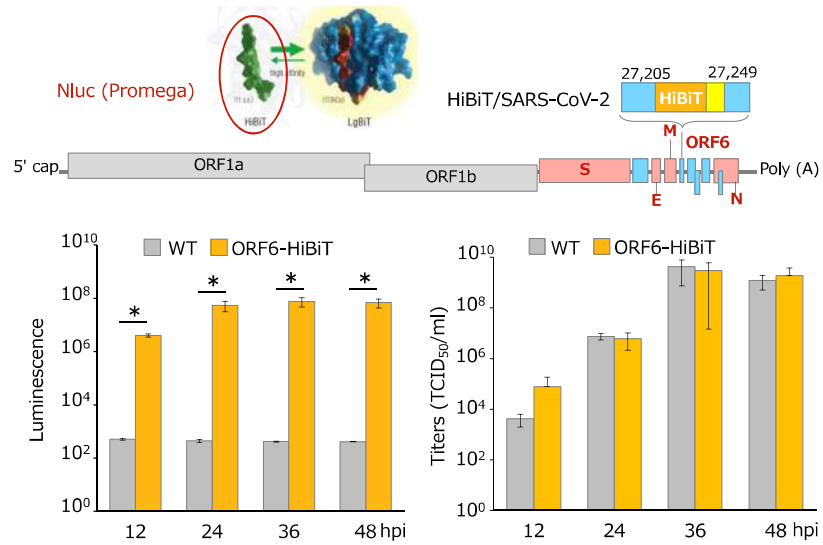
増殖曲線



リポーター遺伝子搭載SARS-CoV-2の作製

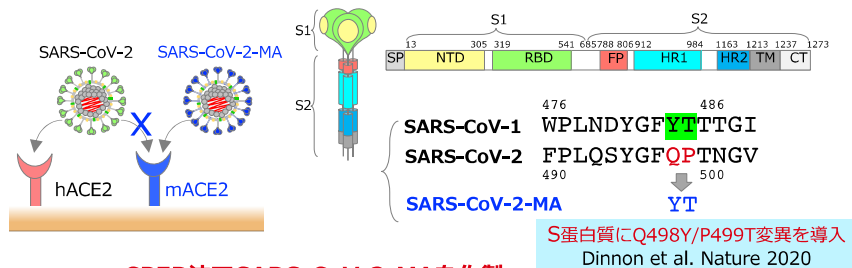


リポーター遺伝子搭載SARS-CoV-2の作製



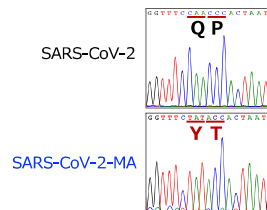
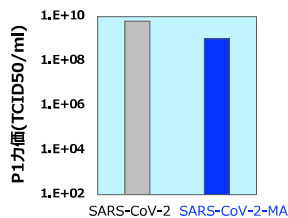
bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.09.23.309849>.

マウスに感染するSARS-CoV-2の作製



CPER法でSARS-CoV-2-MAを作製

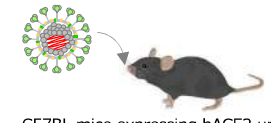
環状DNAの
トランスフェクション
↓
培養上清 (P0)
↓ 感染
培養上清 (P1)



SARS-CoVのマウス感染モデル

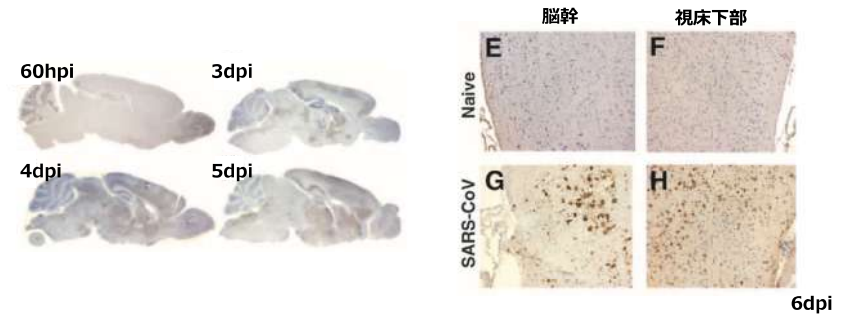
hACE2-Tgマウスが最適でない理由

JVI 2008
Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection Causes Neuronal Death in the Absence of Encephalitis in Mice Transgenic for Human ACE2⁷
Jason Netland,¹ David K. Meyerholz,² Steven Moore,² Martin Cassell,³ and Stanley Perlman^{1,4*}



C57BL mice expressing hACE2 under the control of the **cytokeratin 18 promoter (K18-hACE2)**

hACE2を全身性に発現させると肺以外の組織に病原性を持つ可能性がある



SARS-CoV-2のマウス感染モデル

