

課題番号 :26指202  
研究課題名 :医師主導治験マラリアワクチンFIHに向けた開発研究  
主任研究者名 :狩野 繁之  
分担研究者名 : -  
キーワード :AD22, enolase, plasminogen, merozoite, gametocyte, ookinete  
研究成果 :

当該研究では、国立国際医療研究センター (NCGM) の開発医療において、マラリア原虫エノラーゼの部分ペプチドである“AD22” (アラニンからアスパラギン酸までの 22 アミノ酸残基 (AD22 領域) の人工合成抗原) を用いたマラリアワクチンで First in Human 試験を達成するために、新しく GMP 基準に対応するように分子構造を最適化した抗原を用いて、マラリア原虫の生活史における3つのステージでのワクチン効果を示す POC (proof of concept)を得ることを目的として研究を行った。

即ち、原薬としては、新規に「株式会社ペプチド研究所」に受託・製造された“AD22”を用いた。製剤としては、「東洋紡株式会社」に受託・製造された“AD22 微粒子ワクチン”を用いた。そのワクチンで賦活される免疫系で、“AD22”に対する抗体により、1)メロゾイトの赤血球への侵入阻害(発症防御/重症化阻止)に加え、2)スポロゾイトの肝細胞への侵入阻害(感染防御)、さらには3)オーキネートの蚊の中腸への侵入阻害(伝播阻止)効果を裏付ける POC を得ること、すなわち“AD22”微粒子ワクチンが、マラリア原虫の生活史の3箇所有効であることを実証し、“トリプルブロックワクチン”として、いまだ世界で報告のないポテンシャルのあるマラリアワクチンとして、既存のワクチン候補との差別化を明瞭化させることが目的である。本研究課題の成果である POC の取得は、当該ワクチンのライセンスアウトに必須であり、本ワクチン開発事業が“死の谷”を乗り越える効果を持つこととなる。

このコンセプトの着想に至った経緯であるが、ジョンズ・ホプキンス大学の Marcelo らが、蚊の中腸内ステージの原虫(オーキネート)に関し、原虫表面に局在するエノラーゼ蛋白が Plasminogen binding protein としての multi-function を発揮してプラスミン活性を得ることで、原虫の中腸への侵入を促進することを報告した (Proc Natl Acad Sci USA. 108: 17153-8, 2011) ことをヒントとしている。この報告を受けて、エノラーゼに対する抗体が宿主(ヒト)にあれば、赤内期原虫(メロゾイト)の赤血球への侵入や、蚊からヒトに刺入された原虫(スポロゾイト)の肝細胞への侵入も阻害できるのではないかとこの着想に至った。そこで、以下に全体計画として 3 つの柱を立てて行った。

#### 1) メロゾイトの赤血球への侵入阻害(発症防御/重症化阻止)効果

メロゾイトの赤血球への侵入に関しては、*in vitro* 培養系で熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) を用いてアッセイを行った。重症化阻止効果、ならびに抗体による治療効果については、マウスの感染実験でローデントマラリア原虫 (*Plasmodium berghei*) を用いて行った。

#### 2) スポロゾイトの肝細胞への侵入阻害(感染防御)効果

蚊からヒトへ感染したマラリア原虫ステージであるスポロゾイト期において、抗体による原虫表面エノラーゼ阻害により、感染成立阻止効果を解析した。スポロゾイトの肝細胞への侵入阻害効果について、*in vitro* と *in vivo* 両側面から機能評価を実施した。本実験では、ローデントマラリア原虫 (*Plasmodium berghei*) を用い、スポロゾイトの動態観察を容易にするため、蛍光タンパク質 (GFP または DsRed) を恒常的に発現する遺伝子組換えマラリア原虫を適宜使用した。

#### 3) オーキネートの蚊の中腸への侵入阻害(伝播阻止)効果

蚊の中腸内におけるオーキネート形成阻害、オーキネートの中腸への侵入阻害によるオーシストの形成阻害について、*in vitro* と *in vivo* 両側面から解析した。本実験でも、ローデントマラリア原虫 (*P. berghei*) を用い、オーキネートの蚊の中腸内動態観察を容易にするため、蛍光タンパク質 (GFP または DsRed) を恒常的に発現する遺伝子組換えマラリア原虫を適宜使用した。

本研究で得られた結果と考察を、以下にマラリア原虫の生活史 (life cycle) のそれぞれのステージ毎に具体的に記載する。

#### 1) メロゾイト (merozoite) ステージ

##### a) 抗 AD22 モノクローナル抗体の作成と精製

抗 AD22 モノクローナル抗体は、業者に外注して 8 クローンを得ることができた。このうち 2 クローンは、新たにハイブリドーマをヌードマウスに接種し増殖させ (NCGM では動物実験倫理上、ハイブリドーマをマウスに投与出来ないので業者に委託している)、得られた腹水よりプロテイン A カラムを用いて IgG を精製した。残りの 6 クローンは、ハイブリドーマを培養して上清より IgG を精製して得た。

#### b) 抗 AD22 モノクローナル抗体を用いた *in vitro* 原虫増殖阻害試験

上記で作製した各クローンについて、5~6mg の IgG を調整し、*in vitro* 原虫増殖阻害試験を行った。培養上清中の抗体が、原虫が分裂体 (schizont) に増殖するのを阻害する効果が顕微鏡下に観察された。コントロールと比較して、それぞれのモノクローナル抗体で、40% 前後の増殖阻害が定量的に観察できた。

#### c) plasminogen binding protein としての enolase の表面ペプチド配列

enolase の plasminogen 結合部位は、マラリア原虫の enolase のアミノ酸配列に換算して 260 番目から 285 番目のループ部分であると構造上推定された。抗 AD22 抗体に反応する抗原エпитープである 8 残基の配列 -NKTYDLDF- は、まさにこの部分に含まれる。そこでペプチドライブラリーを作成し、ELISA 法および Dot-blot 法で plasminogen が結合するアミノ酸配列の探索を行った。その結果、260 番目からの 5 残基-NKTYD- に強い結合性が認められた。

#### d) *in vivo* (マウスマラリア challenge infection) におけるワクチン効果

東洋紡株式会社に外注した AD22 微粒子抗原が完成したので、その効果を裏付ける実験を行った。50  $\mu$ g/匹の抗原量を 3 週間隔で 3 回免疫するマウス群と 150  $\mu$ g/匹で 1 回免疫だけ免疫するマウス群と比較した。それぞれの群で、6 週間まで着実な抗体の上昇を確認した。第 7 週に攻撃的感染 (challenge infection) を行ったところ、感染 10 日目でコントロール群は 60% のマウスが死亡したが、150  $\mu$ g/匹の 1 回免疫群では 100% 生存、50  $\mu$ g/匹の 3 回免疫群では 85% の生存率を示した。そしてコントロール群では 13 日目に全匹死亡、免疫群では 150  $\mu$ g/匹の 1 回免疫群では 19 日目、50  $\mu$ g/匹の 3 回免疫群では 20 日目で全匹死亡と、優位に延命効果が認められた。

### 2) スポロゾイト (sporozoite) ステージ

#### a) スポロゾイト表面におけるエノラーゼの発現解析

ハマダラカ (*Anopheles stephensi*) を *P. berghei* 感染マウスから吸血させ、数週間後にその唾液腺からスポロゾイトを回収した。分離したスポロゾイトは、上記で作成した抗 AD22 モノクローナル抗体を用いて免疫染色に供した。共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて観察し、スポロゾイト表面におけるエノラーゼの発現解析を行い、その局在を確認することができた。

#### b) スポロゾイトの肝細胞侵入におけるエノラーゼの関与 (*in vitro*)

原虫感染蚊の唾液腺より回収したスポロゾイトを、培養ヒト肝細胞 (HepG2) と共培養し、細胞侵入を誘導した。数日間の共培養後、細胞を回収し、顕微鏡観察下によるカウントで、抗 AD22 モノクローナル抗体による中和処理スポロゾイト群、および未処理群について原虫の細胞侵入効率を算出した。その結果、侵入効率を 65.7% 阻害することが確認できた。

#### c) *Plasmodium berghei* エノラーゼ部分ペプチド (AD22) の合成と免疫

熱帯熱マラリア原虫 *P. falciparum* とネズミマラリア原虫 *P. berghei* での AD22 に 2 残基の違いがあるので、*P. berghei* の AD22 を合成して、免疫実験、ウサギでのポリクローナル抗体の作成を行った。作製したポリクローナル抗体を用いて、*P. berghei* のスポロゾイト上での AD22 の局在を IFAT を行って共焦点レーザー走査顕微鏡で観察したが、明確な局在が確認できなかった。また、そのスポロゾイトの培養ヒト肝細胞 (HepG2) への侵入阻害実験を、作製した抗 *P. berghei* ポリクローナル抗体を用いて行ったが、dose dependent な侵入阻害効果を得ることができなかった。ネズミマラリア原虫 *P. berghei* の部分ペプチドを用いた系における POC は得ることができなかった。

### 3) オーキネート (ookinete) ステージ

中腸ステージのマラリア原虫に対する AD22 特異的抗体の発育阻害効果を解析するに当たり、オーキネートに対する抗体の結合能の解析をおこなった。ハマダラカ (*Anopheles stephensi*) に、マラリア原虫 (*Plasmodium berghei*) ガメトサイトを含む血液をメンブレン・フィーディングにより吸血させ、20~24 時間後にこれを回収した。マラリア原虫は、蚊中腸内での動態の観察を容易にするため、蛍光タンパク質 GFP を恒常的に発現する遺伝子組換えマラリア原虫を用いた。オーキネートが細胞内に侵入した状態の中腸を蚊から取り出し、抗 AD22 モノクローナル抗体 2 種、抗 AD22 ポリクローナル抗体 1 種、アクチンプローブ (Phalloidin)、核プローブ

(TO-PRO-3)を用いて、免疫染色をおこなった。次に、共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて中腸断面を観察し、中腸細胞内のオーキネートと抗 AD22 抗体の局在について、詳細な解析を行った。その結果、抗 AD22 ポリクローナル抗体を使用した染色により、中腸細胞内を通過中のオーキネートが部分的に染色される像が得られた。この結果から、抗 AD22 ポリクローナル抗体が蚊ステージのマラリア原虫に結合することが示された。

#### GLP 基準における微粒子製剤の安全性・安定性試験

微粒子ワクチン製剤の製法が規格化されたので、製剤を3ロット追加して東洋紡株式会社に受託・作製した。その結果、微粒子の径の分布が 100  $\mu$ m 以下で正規分布をし、直径のピークが1~10 マイクロメートルにある GMP 基準の製剤が完成したことが確認できた。

そして、その製剤の 安全性試験 を、株式会社シミック BRC に委託した。その結果(1)マウスを用いた6週間間歇皮下投与毒性試験及び4週間回復性試験では、一部試験が GLP として不足(信頼性基準)したが、血液生化学試験では特記すべき異常値は認められなかった。しかし、高容量反復毒性で死亡するマウスが認められた。病理学的には何の変化も認められず、IgE の上昇も無かったが、アナフィラキシー様のショック死に相似していると報告がされた。(2)安全性薬理試験(サル Telemetry 試験、中枢神経系:Irwin 変法)では異常値は認められなかった。

製剤の 安定性試験 は東洋紡株式会社に連続してその試験を依頼したところ、数ヶ月で一定の構造的崩壊が観察された。

合わせて、原薬の規格および安定性に関する試験 は、株式会社ペプチド研究所に依頼した結果、3ヶ月後におけるまでの苛酷・加速試験で、その安定性が認められた。

この様に、微粒子ワクチン製剤の安定性および安全性に一定の懸念が明らかとなり、同製剤によって FIH 試験に移行することは断念せざるを得なかった。そこで対応方法として、下記の代替製剤の開発に切り替えて、上記 POC の成果を活かすことのできる開発研究にギアを切り替えた。

#### AD22+アラムアジュヴァントによるマラリアワクチン開発

アラムアジュヴァントは、ヒトへの投与に関して、その安全性が例証されていて使用可能な唯一なアジュヴァントであるので、これを用いて、原薬 AD22 でワクチン製剤とすることにした。微粒子製剤には、PVA や SPAM など、皮下投与における安全性が確定していない賦形剤も含まれていたため、本方針の転換は FIH へ進むための選択としては近道となる。

そこで改めて、マラリア原虫ワクチンの AD22(ペプ研最終ロット)について薬効を確認するために、免疫マウスに対する攻撃感染試験を行った。

試験群は以下の通り、

- |  |     |
|--|-----|
| 1. 試験群 AD22 アラム(150 $\mu$ g/匹 X3 回、3 週間隔)皮下投与        | 5 匹 |
| 2. 試験群 AD22 アラム(300 $\mu$ g/匹 X3 回、3 週間隔)皮下投与        | 5 匹 |
| 3. 試験群 AD22 アラム(150 $\mu$ g/匹 X3 回、3 週間隔)筋注投与        | 5 匹 |
| 4. 試験群 AD22 アラム(300 $\mu$ g/匹 X3 回、3 週間隔)筋注投与        | 5 匹 |
| 5. 対照群 生理食塩水 アラム 皮下投与                                | 5 匹 |
| 6. 試験群 AD22 Alhydrogel(150 $\mu$ g/匹 X3 回、3 週間隔)皮下投与 | 5 匹 |
| 7. 対照群 生理食塩水 Alhydrogel 皮下投与                         | 5 匹 |

免疫後、49 日後より、*P. berghei* 原虫(1 x 10<sup>6</sup>原虫/匹)を腹腔投与により感染させ試験を開始し、生存率を経時的に観察した。その結果として、免疫群と対照群とを比較したところ、Alhydrogel をアジュバントとして用いた実験群で、有意な免疫群の生存率の延長が観察され、本ワクチンの薬効が確認できた。

本研究成果をもって、平成29年度の AMED の「創薬支援ネットワーク研究開発計画」に採択され、前臨床試験の研究費の一部獲得と、抗原の特許の PCT 出願と移行費用を捻出することができた。世界のマラリア対策が、原虫の薬剤耐性や媒介蚊の殺虫剤耐性の獲得によって、その遅れを余儀なくされているなか、マラリア流行制圧の切り札となるワクチン開発の必要性が切望されている。わが国の先進医療を推進するためにも、われわれ NCGM における開発医療が、マラリアワクチンの開発によって、着実にその成果を達成して行く必要がある。今後の本開発研究のさらなる発展に期待されたい。

Subject No. : 26A202

Title : Research and development for malaria vaccine first-in-human investigator-initiated clinical trials

Researchers : Shigeyuki Kano

Key word : AD22, enolase, plasminogen, merozoite, gametocyte, ookinete

Abstract :

The purpose of this research is to obtain proof of concept (POC) on the effectiveness of the “AD22 vaccine” at 3 respective stages of the parasite life cycle.

1) merozoite stage

a) Anti-AD22 monoclonal antibody

Eight monoclonal antibodies against AD22 amino acids were obtained as affinity-purified IgGs using hybridoma cells.

b) *In vitro* growth inhibition test using anti-AD22 monoclonal antibodies

From each clone, 5 to 6mg of IgGs were purified and added to the supernatant of the parasite culture dishes. Inhibition of the parasites' growth from ring stage to schizont stage was microscopically observed. Growth inhibition curve was obtained showing high efficacy of the antibodies.

c) Enolase as a plasminogen binding protein

Plasminogen is believed to bind to the enolase, which is located on the surface of the parasite, and is subsequently activated to the serine protease plasmin by host-derived tissue plasminogen activator or urokinase, recruiting potential proteolytic activity to encourage parasites to invade into the host cells.

Lorena *et al.* reported that the DKSLVK sequence of enolase located between amino acids 277-282 were binding sites of plasmin(ogen). In this study, we identified more plasmin(ogen) binding sites of enolase by using synthetic peptide libraries. The ELISA and Dot-Blot analyses of synthetic peptides representing a part of enolase sequences identified a 10-residue sequence NKTYDLDFKT located between amino acids 264-273 as a strongest binding epitope mediating binding of plasminogen to enolase. Interestingly, the 10-residues were located within an exposed surface-loop in each of the monomers of the quaternary structure of the enolase, which would be suitable target for inhibitory antibody, such as anti-AD22 antibody.

d) Vaccine effect in *in vivo* (mouse malaria challenge infection)

AD22 microparticle antigen ordered outside in Toyobo Co., Ltd. had been completed, so the experiment on its efficacy was conducted. One group of 5 mice with 50 µg of antigen / mouse 3 times every 3 weeks was compared with the other group with 150 µg / mouse with only one time immunization. The steady rise of antibody until 6 weeks later was observed. When challenge infection was performed at the 7th week, a mouse of 60% had died of infection for the 10th day for a control group, but the survival rate of the 85% was indicated by 3 time immunity group and 100% rate was for 150 µg/by once immunity group. The life prolongation effect was admitted and all mice died by the 20th day for 50 µg/mice 3 time immunity group, by the 19th day for 150 µg/mice once immunity group, and as early as by the 13th day for a control group.

2) sporozoite stage

a) Analysis of localization of enolase on the sporozoite surface

After letting anopheles mosquitos (*Anopheles stephensi*) suck blood from a *P. berghei* infected mouse, and sporozoites were collected from the salivary glands several weeks later. The separated sporozoites were

immunostained using AD22 monoclonal antibodies, and confocal laser scanning microscopy showed the localization of enolase on the surface of the sporozoites.

b) Participation of enolase in hepatocyte invasion of sporozoites (*in vitro*)

Sporozoites collected from salivary gland of an infected mosquito were co-cultured with hepatocyte cells (HepG2), and the cell invasion was led. Cells were collected after co-culture for a few days, and the cell invasion efficiency of the sporozoites was calculated by neutralization with/without anti-AD22 monoclonal antibodies. As a result, it was observed by microscopy that the invasion was inhibited by 65.7 % by the antibodies.

3) ookinete stage

*Plasmodium* gametocytes are taken up into mosquito midgut, where they develop into ookinetes, and they invade into the mosquito midgut cells. Within 24 h after mosquito blood meal, ookinetes reach basal lamina and develop into oocysts. Prior to analyzing capacity of anti-AD22 antibody to hinder midgut-stage ookinetes, binding ability of it to ookinete was examined microscopically.

*Anopheles stephensi*, ingested *P. berghei*-infected mouse blood, was collected 20~24 h after blood meal. GFP-expressing *Plasmodium* was used to facilitate microscopic observation. Midgut containing *Plasmodium* ookinetes in its cells were dissected out and provided to the immunostaining with anti-AD22 antibodies (2 monoclonal and 1 polyclonal antibodies), phalloidin (probe for actin), and TO-PRO-3 (probe for nucleus). The longitudinal sections of ookinetes-containing midgut were analyzed with confocal laser-scan microscope for the localization of ookinetes and of anti-AD22 antibody. The longitudinal images revealed the co-localization of GFP-ookinete and anti-AD22 polyclonal antibody, indicating the binding capacity of anti-AD22 antibody to midgut-stage ookinetes.

This finding suggests potential utility of anti-AD22 antibody to thwart parasites crossing midgut cells and developing into oocysts. Further analysis *in vivo* and *in vitro* will characterize potential of anti-AD22 antibody to hinder *Plasmodium* development and its transmission capacity in mosquito.

Safety and stability test of the microparticles manufactured in the GLP standard

A process of manufacturing malaria microparticles vaccine under the GMP was standardized, so 3 lots of the medicine were ordered to Toyobo Co., Ltd. As a result, the distribution of the diameter of the particle did normal distribution by less than 100  $\mu\text{m}$ , and the peak of the diameter was confirmed to be in 1-10 micrometer.

And safety testing of the vaccine was entrusted to a CRO, CIMIC BRC Co, Ltd. (1) The 6 weeks' subcutaneous prescription for toxicological test and 4 weeks' recovery properties test, showed no abnormal value by a blood biochemistry test. But some mice died by high dose repetitive toxicity test. No changes were observed in pathological test nor rises of IgE. However, it was finally reported that the death was similar to that from anaphylaxis. (2) No abnormal value were reported by a safety pharmacology study (ape Telemetry test and central nervous system :Irwin method).

However, the stability test of the microparticles by Toyobo revealed a certain level of structural decay in a several months.

When stability test of the vaccine material from Toyobo Co., Ltd. was conducted, no significant change was observed under the harsh and acceleration test.

Thus fixed anxiety became clear in stability and safety of microparticle vaccine which will not be feasible to be shifted to a First-in-human test by the said vaccine manufacturing. So development of the following

substitution vaccine manufacturing was suggested as a countermeasure and a gear was changed to the development study to which the outcome of the above POC can be utilized.

#### Malaria vaccine development by AD22 + Alum adjuvant

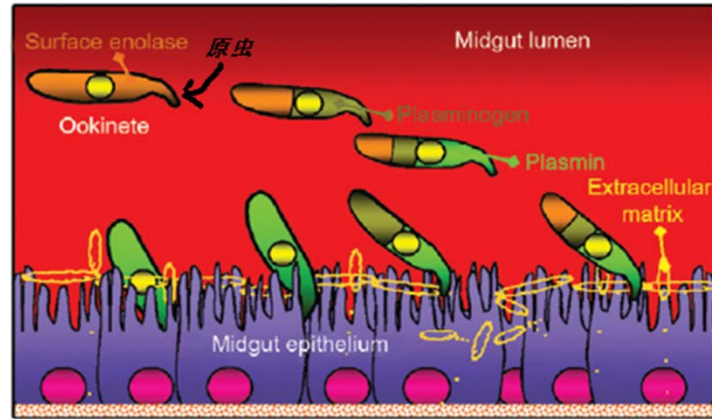
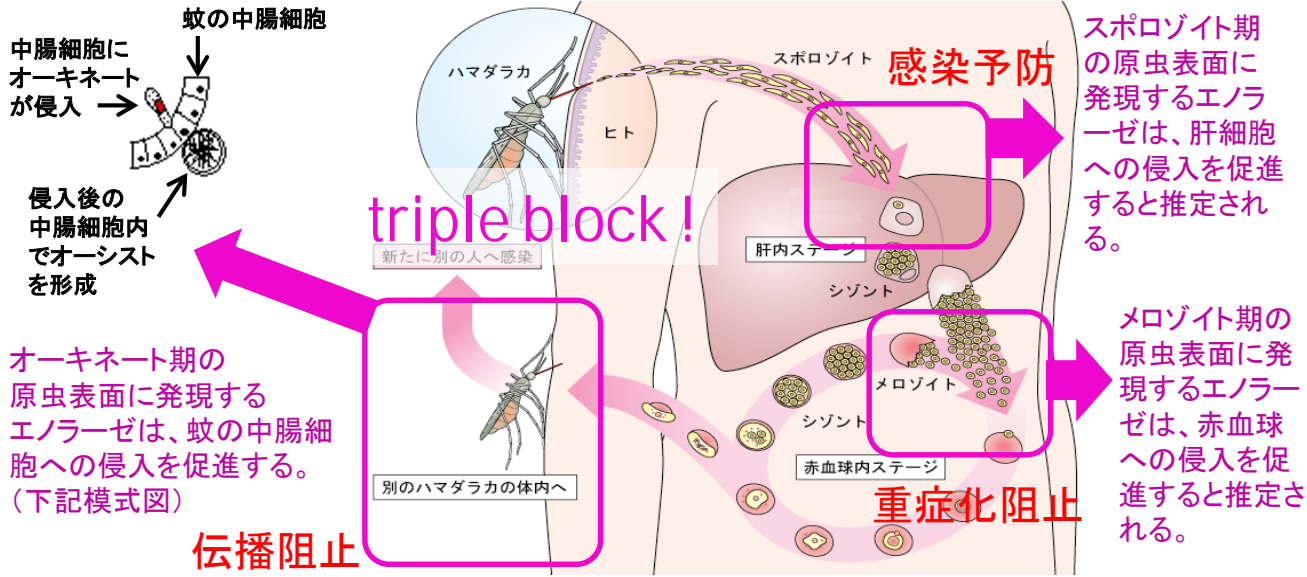
The safety has been illustrated by Alum adjuvant in its prescription to human. Thus, we decided to use it as a effective adjuvant to be mixed with AD22 malaria vaccine. Safety in subcutaneous prescription with PVA and SPAM, which are used in the process of manufacturing of microparticles, has not been fixed, so conversion of this policy in using Alum as adjuvant will be a shortcut as the choice to advance towards FIH.

Thus immunization and challenge infection tests were performed to confirm the efficacy of the vaccine using AD22 (Peptide Science Institute's last lot) by using Alhydrogel (commercially available alum adjuvant).

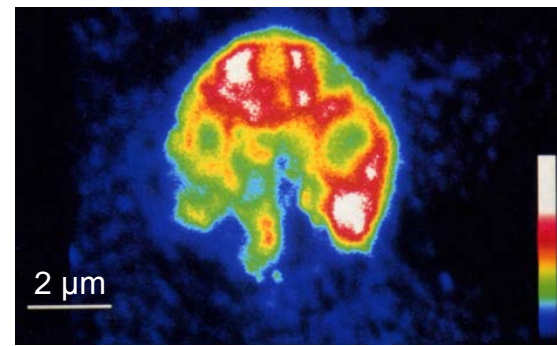
*P. berghei* ( $10^6$  protozoas / mouse) was infected in abdominal cavity 49 days after immunization, and survival rate was observed with the passage of time. Significant extension of the survival rate in the immunized mice group could be observed and efficacy of the vaccine employed with Alhydrogel as adjuvant was confirmed.

With this study results, "A project for innovative drug development and support network research and development " of AMED in the fiscal year 2017 was adopted, and it became possible to apply PCT using this research fund for the preclinical study. Success of malaria control in the world depends on the management of acquisition of drug-resistance by parasites and insecticide resistance by mosquitos. Malaria vaccine development should be the last and only secret to eliminate malaria from earth. Development of medicine or vaccines against infectious diseases should be the goal of medical researches in NCGM. Please expect it's final development in the near future.

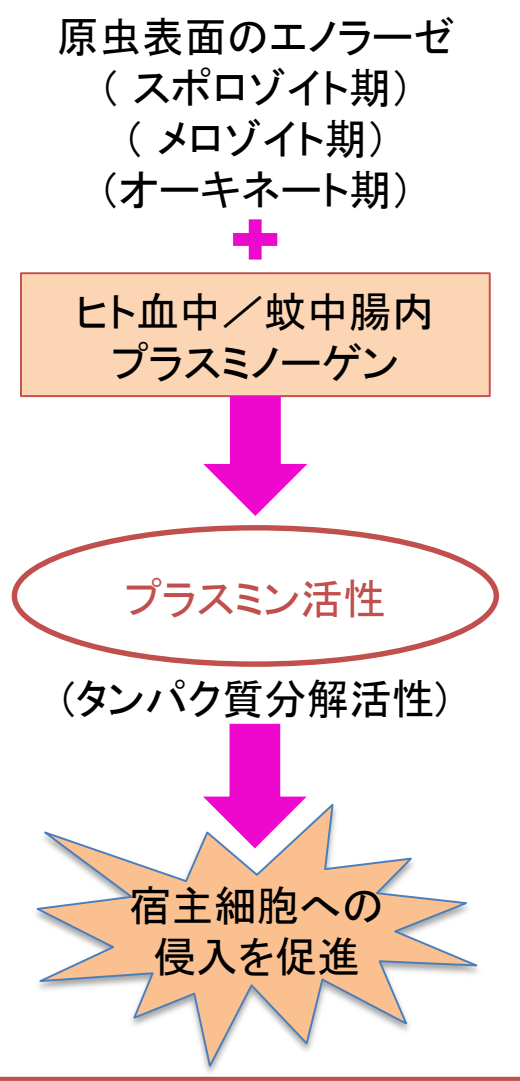
# (先26指202) 医師主導治験マラリアワクチンFIHに向けた開発研究 テーマの背景<POC>



(Proc Natl Acad Sci USA. 108:17153-17158, 2011)

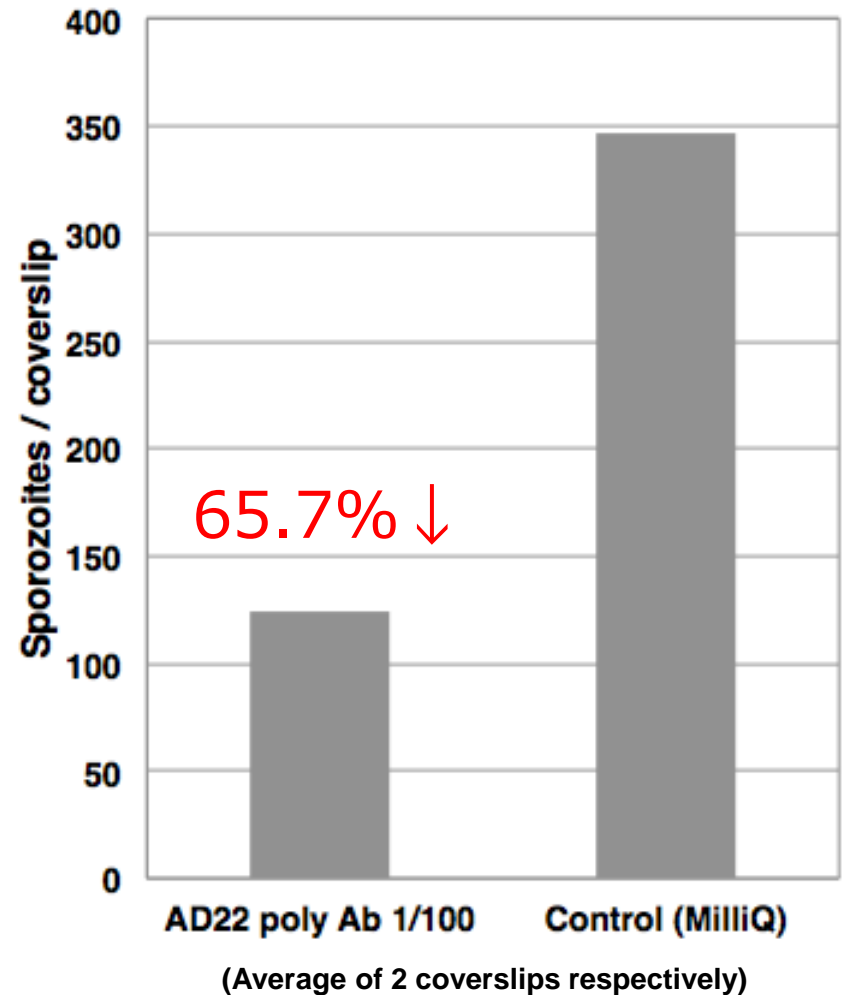
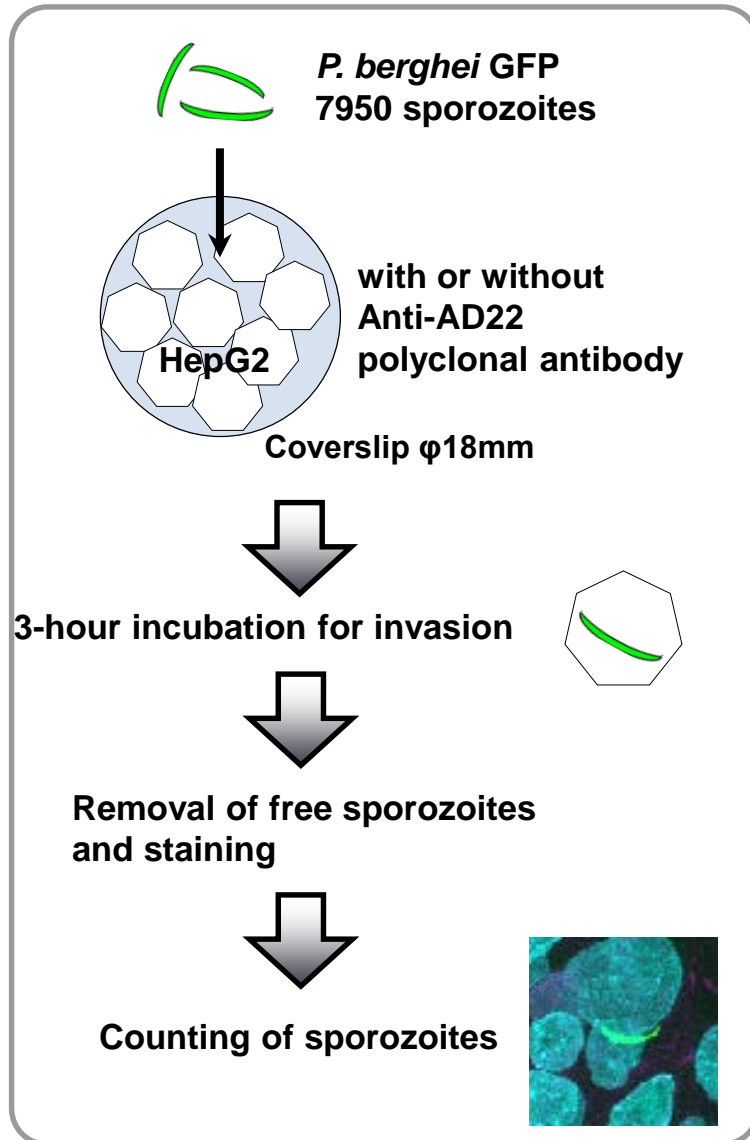


成熟シゾント(放出前のメロゾイト)に局在するエノラーゼの共焦点顕微鏡像 (Kano S, et al: Bioimages. 3: 13-17, 1995)



開発の経緯: 抗エノラーゼ抗体の作用機序  
--> 原虫の宿主細胞への侵入を原虫生活史の3箇所で阻害する

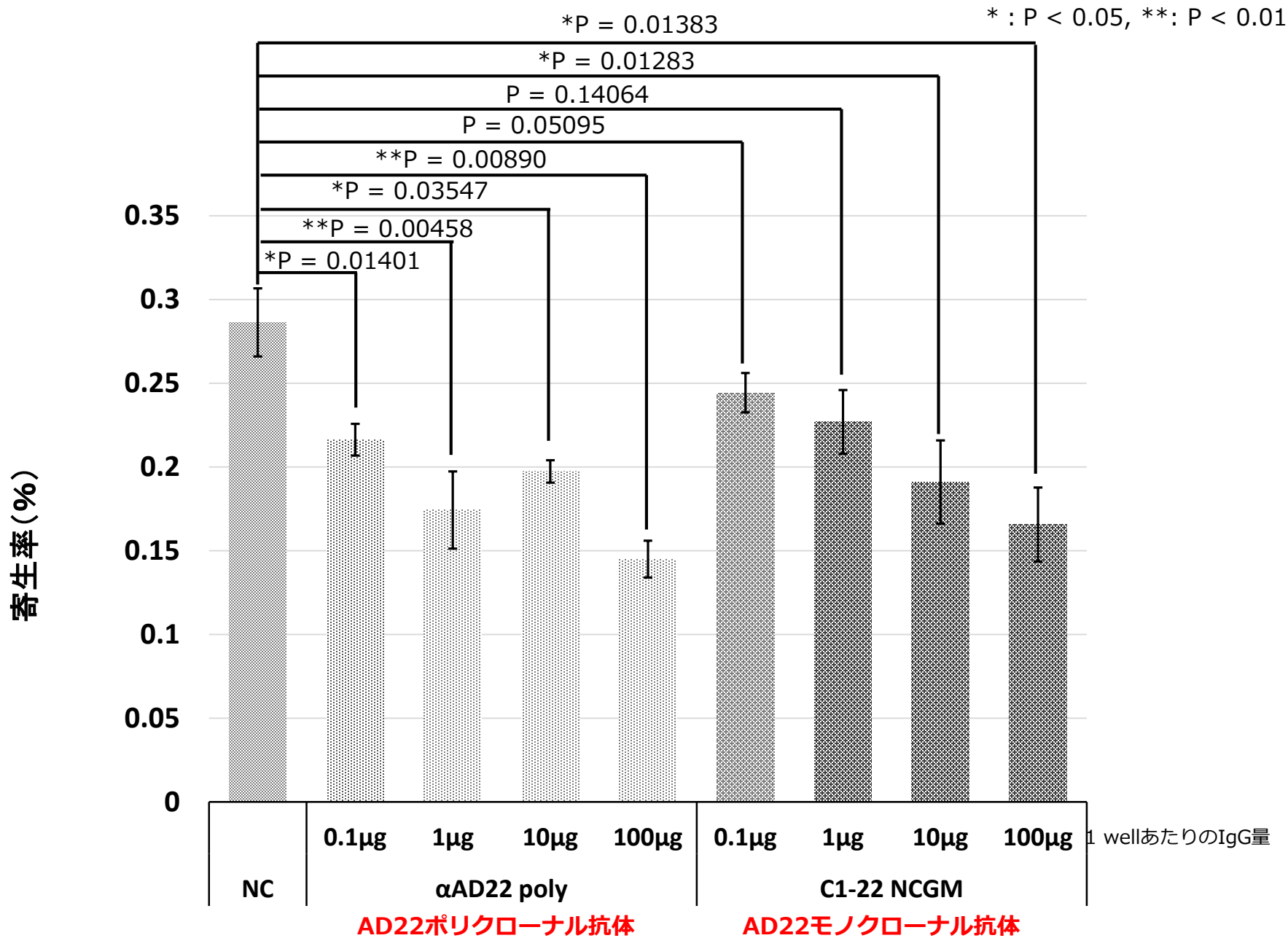
# 培養系における肝細胞HepG2 cellsへのスポロゾイト侵入を 抗AD22ポリクローナル抗体は阻害する



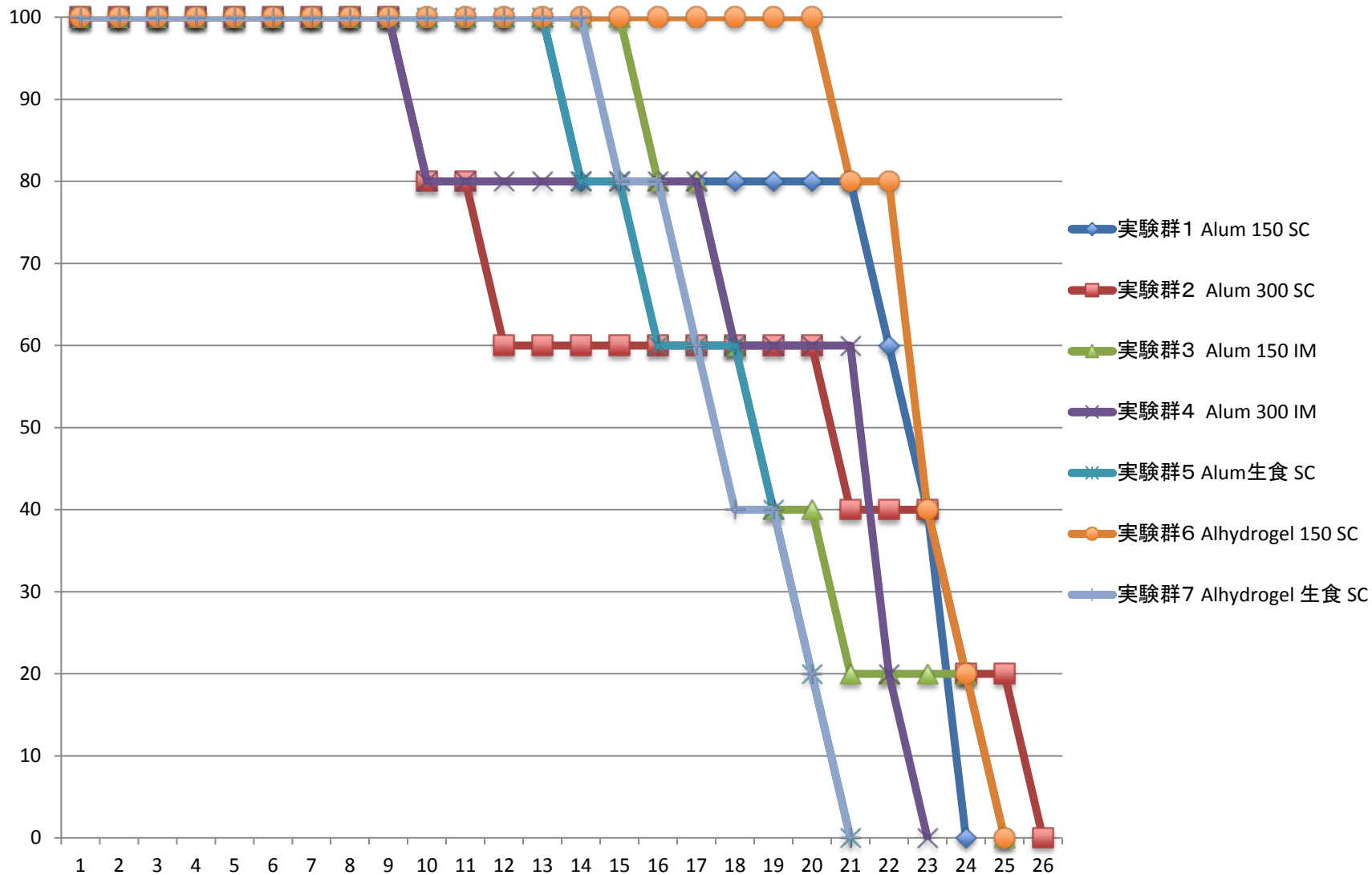
培養上清に抗AD22ポリクローナルを入れた群で、スポロゾイトの肝細胞への侵入を65.7%阻害した。



# In vitro 原虫増殖阻害試験



# Alum 実験群 / Alhydrogel 実験群 生存率



## 研究発表及び特許取得報告について

課題番号：26指202

研究課題名：医師主導治験マラリアワクチンF I Hに向けた開発研究

主任研究者名：狩野繁之

### 論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
「該当なし」				

### 学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
Epitope mapping of inhibitory antibodies targeting the loop region of Plasmodium falciparum enolase using synthetic peptide libraries.	Hiroyuki Oku, Risa Onishi, Utako Arai, Yudai Kimoto, Keiichi Yamada, Kazuhiko Yano, Shigeyuki Kano	Joint International Tropical Medicine meeting 2014	Bangkok, Thailand	December, 2014
マラリアワクチン開発医療研究	狩野繁之	NCGM・HS財団共催基礎研究講習会	NCGM容共	2016年9月

### その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
マラリアワクチン開発、治療効果も期待-国際医療センター、多国籍企業へ導出目指す	狩野繁之、助永義和	日刊薬業		2015年2月18日
Govt-Backed Research Center Looks to License Malaria Vaccine to Mega Pharma.	Kano S, Sukenaga Y	PHARMA JAPAN WEB, JIHO, Inc.		2015年2月27日
世界におけるマラリアワクチン開発	狩野繁之	Malaria No More Japan主催 連続講座「知の快感 蚊が運ぶ病気を識る」	長崎大学坂本キャンパスグローバルヘルス総合研究棟	2016年10月15日

## 研究発表及び特許取得報告について

特許取得状況について ※出願申請中のものは( )記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
熱帯熱マラリア原虫のエノラーゼタンパク質の部分配列を用いた人工抗原とその製造方法	PCT/JP2015/083437	奥浩之、狩野繁之、矢野和彦	Publication date: Jun 2, 2016 Filing date: Nov 27, 2015	米国、ヨーロッパ、インド、中国、タイ

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。