

(地球規模課題対応国際科学技術協力)
インドネシア共和国
フラビウイルス等に対する抗ウイルス薬
およびワクチンの開発プロジェクト
詳細計画策定調査報告書

平成 21 年 10 月
(2009 年)

独立行政法人国際協力機構
人間開発部

序 文

世界で 1.3 億人が慢性感染していると推定される C 型肝炎は、インドネシアにおいて約 700 万人以上、日本では約 200 万人の慢性患者が存在し、両国で毎年 20 万人以上が C 型肝炎ウイルス感染が原因で死亡していると推定されています。さらにインドネシアでは、C 型肝炎ウイルスと同じフラビウイルス属に属するデングウイルスによるデング熱・デング出血熱が蔓延し、雨季（1-3 月）を中心に毎年 10 万人以上が罹患し、1 千人以上が死亡する深刻な状況にあります。

このような状況において、これら C 型肝炎およびデングウイルスに関する抗ウイルス薬とワクチンの開発を長期的視野に入れ、C 型肝炎ウイルスについては抗ウイルス物質の同定とワクチンの開発、デングウイルスについてはワクチンの開発を目指した研究開発の実施に関する技術協力の要請がなされました。

これを受けて独立行政法人国際協力機構は、平成 21 年 8 月 29 日から 9 月 10 日の間、詳細計画策定調査団を現地に派遣し、インドネシア政府および関係機関との間で「地球規模課題対応国際科学技術協力」の枠組みによる協力計画の策定及び実施体制について協議を行いました。

本報告書は、同調査団の調査・協議結果を取りまとめたものであり、今後のプロジェクトの実施にあたり広く活用されることを期待しております。

ここに、本調査にご協力をいただいた内外の関係者の方々に対し、心より感謝の意を表します。

平成 21 年 10 月

独立行政法人国際協力機構
人間開発部
部長 萱島 信子

地図



ジャカルタ
インドネシア大学
教育省高等教育局
科学技術担当大臣府 (RISTEK)
インドネシア科学院(LIPI)
国立保健研究開発研究所
(NIHRD)

東ジャワ州スラバヤ
アイルランガ大学

写 真



インドネシア大学医学部



インドネシア大学医学部検査室



アイルランガ大学 学長との協議



アイルランガ大学医学部検査室



インドネシア大学医学部副部長（プロジェクトマネジャー）と
神戸大学堀田教授（日本側研究代表者）



調査ミニッツ署名式（於；教育省高等教育局）

目 次

序 文
地 図
写 真
目 次
略語表
事業事前評価表

第 1 章	調査実施の背景・目的	1
1-1	調査の背景	1
1-2	調査の目的	2
1-3	調査団構成	2
1-4	調査日程	3
1-5	主要面談者	2
第 2 章	調査結果	4
2-1	調査結果概要	4
2-2	調査項目毎の調査結果	5
2-3	プロジェクトの内容と展開方法（研究総括団員報告）	13
第 3 章	総括（団長総括）	16

付属資料

1. 署名 M/M
2. PDM
3. PO

略 語 表

C/P	Counter Part	カウンターパート
BSL	Biosafety Level	バイオセーフティレベル
FDA	Food and Drug Administration	食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice	優良試験所規範
HCV	Hepatitis C Virus	C型肝炎ウイルス
JST	Japan Science and Technology Agency	独立行政法人科学技術振興機構
MOU	Minutes of Understanding	合意覚書
MTA	Material Transfer Agreement	物質移動合意書
R/D	Record of Discussion	討議議事録
RISTEK	State Ministry of Research and Technology	インドネシア科学技術担当大臣府
ODA	Official Development Assistance	政府開発援助
PDM	Project Design Matrix	プロジェクト・デザイン・マトリックス
PO	Plan of Operation	作業工程表
SOP	Standard Operational Procedures	標準作業手順書

1. 案件名(国名)

国名:インドネシア共和国

案件名:フラビウイルス¹等に対する抗ウイルス薬及びワクチンの開発プロジェクト

2. 事業の背景と必要性

(1) 当該国における保健医療セクターの開発実績と課題

インドネシア共和国(以下、「イ」国)は総人口約230百万人、国民一人あたりGNIが2010米ドル²と低中所得国に分類される。保健医療の国家予算に占める割合は年々増加傾向にあるものの、2007年は2.9%とWHO推奨値である5%を大きく下回っている³。また、中央集権時代に政府主導の保健医療プログラムを経て、家族計画などは改善が認められているが、経済危機や2001年以降の急速な地方分権化の影響により母子保健や感染症研究は思うような進捗が見られていない。特に感染症に関し、HIV/エイズとの重複感染が深刻な結核やC型肝炎のほか、鳥インフルエンザや新型インフルエンザなどの新興感染症、デング熱/デング出血熱などの再興感染症対策は「イ」国における喫緊の課題となっており、同課題への対応のため、C型肝炎やデング熱/デング出血熱などの感染症対策に資するワクチン開発や抗ウイルス薬開発に資する研究の実施が求められている。

1) C型肝炎ウイルス(以下、HCV)感染

「イ」国では、慢性C型肝炎患者が約700万人存在し、毎年20万人以上がHCV感染による肝硬変や肝癌を原因として死亡している。治療法としては、インターフェロン+リバビリン併用療法が従来のインターフェロン単独療法に比較し治療成績を著しく向上させたが、同併用療法でもHCVを完全に排除できるのは約半数である。また、同併用療法は高額なため、開発途上国における一般的な治療としての現実性は薄い。一般的な治療期間は24週間から48週間⁴であるが、インターフェロンによる好中球や血小板減少、リバビリンによる溶血性貧血などの副作用により、治療を継続出来ない場合も多い。このため、開発途上国においては有効性・安全性が高く、安価な新規抗ウイルス薬や予防・治療用ワクチンの開発が求

¹ フラビウイルス:一本鎖プラス極性RNAウイルスの一つ。フラビウイルス科にはフラビウイルス属、ベスチウイルス属、ヘパシウイルス属の3属が存在し、プロジェクトで対象とするHCVはヘパシウイルス属に、デングウイルスはフラビウイルス属に属する。

² 世界銀行2008年。Atlas methodにより算出。

³ 垣本和宏 国際保健医療 Vol.24(2), 97-105, 2009。(保健省発表のHealth Profile 2007(インドネシア語)より引用)

⁴ HCVの遺伝子型(Genotype)や血中に確認されるウイルス量などにより規定されている。

められており、同開発は、約 200 万人の HCV 慢性感染患者を抱え、毎年 4 万人が HCV 感染を原因として死亡する我が国においても共通の課題となっている。

2) デングウイルス感染

WHO 報告では、全世界におけるデング熱の年間患者数は 5 千万人、より重症なデング出血熱の患者数は 50 万人であり、デング出血熱の死亡率は 2.5%とされている。「イ」国においては、毎年 10 万人以上の確定症例と 1,000 人以上の死者が報告されており、保健省はデング熱／デング出血熱を感染症対策の中でも優先的に取り組む疾病と位置づけている。しかしながら、デング熱／デング出血熱の治療は原則対症療法であり、未だ有効な予防ワクチンや治療薬(抗ウイルス薬)は開発されていない。

(2) 当該国における保健医療セクターの開発政策と本事業の位置づけ

「イ」国保健省は 1999 年に「健康なインドネシア 2010 (Indonesia Sehat 2010)」を公表し、従来の「治療」「リハビリテーション」といった受け身的な保健医療政策から、「疾病予防、健康増進」へ転換していく基本方針を打ち出しており、感染症予防は優先課題⁵の 1 つとされている。これに関し、具体的な感染症対策で取り扱う 5 感染症として、MADAT(マラリア(M)、鳥インフルエンザ(A)、デング熱／デング出血熱(D)、HIV/エイズ(A)、結核(T))を選定している。

「イ」国における HIV 陽性率は 0.1-0.3%と推定されている⁶が、HIV 新規感染例は 2003 年の 484 例から、2006 年には 3,859 例へと急激に増加²している。「イ」国保健省は同数値が実患者数の一部と推察しており²、結核とともに HIV との重複感染が近年問題となってきた HCV 感染拡大も危惧されており、「イ」国政府においても予防、治療の両面における対策の必要性が高まってきている。また、デングウイルス感染対策についても、保健省が蚊帳の配布や媒介蚊繁殖に対する環境対策を実施しているが、2007 年には 15 万人以上の確定症例²が報告されており、デング熱／デング出血熱対策は「イ」国政府の長年の懸案である。

本事業は、環境・エネルギー、防災および感染症を始めとする地球規模課題に対し、我が国の科学技術力を活用し、開発途上国と共同で技術の開発・応用や新しい知見の獲得を通じて、我が国の科学技術力向上とともに、途上国側の研究能力向上を図ることを目的としている。HCV 及びデングウイルス感染に関する共同研究により両疾患に対する効果的な治療法の開発(生薬由来抗 HCV 物

⁵ 優先課題：予防接種、労働衛生、自動車事故予防対策、感染症予防、食物と栄養を含む健康な生活様式、環境計画、健康な住宅、リプロダクティブヘルス、禁煙・薬物中毒防止、管理・財政的な保健政策と保健政令の 10 項目。

⁶ Epidemiological Fact Sheet on HIV and AIDS, Core data on epidemiology and response, Indonesia: WHO/UNAIDS/UNICEF (2008.9)

質の検索及び HCV 並びにデングワクチンの開発)を目指す。同時に、これら共同研究を通じて得られる研究能力の向上は鳥インフルエンザや他の感染症研究に対しても応用可能であると考えられる。本事業は上記した政策に直接的・間接的に裨益するものであり、「イ」国の感染症対策の重要な一部に位置付けられる。

(3) 保健医療セクターに対する我が国及び JICA の援助方針と実績

我が国の対インドネシア援助の重点分野として、「民間主導の持続的な成長」、「民主的で公正な社会造り」、「平和と安定」のための支援の三分野を「対インドネシア国別援助計画」の中で規定している。保健医療分野に関する協力は、「民主的で公正な社会造り」に位置づけられ、乳児死亡率、妊産婦死亡率、マラリア及び結核などの感染率の高さに着目し、①基礎的保健・医療サービスの向上及び②感染症対策を中心とした支援を行うこととしている。

また、JICA は 2009 年に策定した国別援助実施方針において、重点分野「民主的で公正な社会造り」に対応する開発課題「貧困削減」に、保健医療支援プログラムを位置づけている。保健医療支援プログラムでは、地方レベルおよび中央レベルにおける保健計画策定・医療サービス向上にかかる能力強化と、感染症対策が協力の柱となっており、本プロジェクトは、感染症対策の主要な協力事業と位置づけられる。

なお、「イ」国における保健医療分野の技術協力は 1969 年の「アンボン結核・マラリア対策」を皮切りに長年実施されている。近年では保健省大臣官房計画財務局への保健政策アドバイザー派遣(2007 年～2009 年)や「すこやか親子インドネシア(母子手帳による母子保健サービス向上プロジェクト)(2006 年～2009 年)」、「南スラウェシ州地域保健運営能力向上プロジェクト(2007 年～2010 年)」など「①基礎的保健・医療サービス向上」に関連した支援や、「②感染症対策」に関連して、「鳥インフルエンザ・サーベイランスシステム強化プロジェクト(2008 年～2011 年)」「結核対策プロジェクト(2008 年～2011 年)」が実施されている。

(4) 他の援助機関の対応

研究活動に関わる情報には機密性があり、各機関の研究アプローチに関する詳細な情報(対象疾患や研究アプローチなど)は原則入手困難である。ただし、カウンターパート機関によれば、病態因子に関する研究や疫学調査を中心とした活動を実施しており、本プロジェクトの研究アプローチとは重複しない点を確認された。

(5) 本事業の背景となる日本と「イ」国の関係

本事業の日本側研究機関である神戸大学大学院医学研究科は、本事業の

「イ」国側研究機関であるインドネシア大学医学部(以下、FM-UI)及びアイルランガ大学(以下、AU)と 1979 年以来、長年感染症共同研究を行い、協力関係を構築してきた。また、2007 年 5 月には参画機関である AU 熱帯病研究センター(以下、ITD-AU)において、文部科学省「新興・再興感染症研究拠点形成プログラム」のインドネシア拠点を設置している。本プロジェクトで行うインドネシア大学(以下、UI)と AU の共同研究は、現行のインドネシア拠点での活動を相互補完することが期待され、インドネシアに対する感染症対策協力に係る戦略的意義も大きい。

このように構築された共同研究体制を基礎として、「イ」国政府は ODA 事業の要請を行うとともに、神戸大学は、独立行政法人科学技術振興機構(JST)対して本プロジェクトを研究課題として提出し、「地球規模課題対応国際科学技術協力」として採択されるに至った。

3. 事業概要

(1) 事業の目的

本事業は、「イ」国及び我が国において新規抗ウイルス薬や予防・治療用ワクチンの開発が求められる HCV、および未だ有効なワクチンが開発されていないデングウイルスに関して、「イ」国及び日本における薬用植物資源／天然物抽出物から抗 HCV 物質の同定を行い、また遺伝子組み換え水痘弱毒生ワクチン技術を応用して HCV 治療／予防ワクチン候補を作製するとともに、HCV ならびにデングウイルスに対するワクチン候補の開発を目指す事業である。また、我が国の科学技術力を活用しつつ、「イ」国側との共同研究による技術の開発・応用や新しい知見の獲得を通じて、我が国の科学技術力向上とともに、関連研究機関(IU、AU)の研究開発能力向上を図ることを本プロジェクトの目的とする。

(2) プロジェクトサイト／対象地域名

インドネシア大学(ジャカルタ)及びアイルランガ大学(スラバヤ)

直接裨益対象者は2大学研究者カウンターパート約 20 名、間接裨益者は「イ」国慢性 C 型肝炎患者約 700 万人、およびデング熱患者約 10 万人(年間患者数)など。

(3) 事業概要

1) プロジェクト目標と指標・目標値

【プロジェクト目標】

日本の研究機関との共同研究を通じて、インドネシア研究機関の抗 HCV 物質の同定及び HCV・デングウイルスに対するワクチン開発に係る研究能力が強化される。

【指標・目標値】

1. 少なくとも1つ以上、前臨床試験への抗 HCV 用薬候補物質及び候補ワクチン、抗

デングウイルス候補ワクチンが決定される。

2. インドネシア人研究者が筆頭著者である研究論文が、研究課題についてそれぞれ2報以上、インパクトファクター⁷1.0以上の論文審査のある学術専門誌に掲載される。

2) 成果と想定される活動(あるいは調査項目)と指標・目標値

【成果】

1. インドネシア及び日本原産薬用植物／天然物抽出物から抗 HCV 活性を有する新規物質が同定され、作用機序が解析される。
2. 遺伝子組み換え水痘弱毒生ワクチン技術を応用した HCV 治療／予防ワクチン候補が作製される。
3. 十分な有効性を示すデングウイルス予防 DNA ワクチンが、各血清型(1型～4型)に対して各々作製される。
4. インドネシア原産薬用植物／天然物由来抗 HCV 薬開発及び HCV やデングウイルスに対するワクチン開発研究のための実施体制が整備される。

【活動】

活動 1 (活動主体は IU、AU および神戸大学)

- 1-1. *in vitro*⁸培養系を用いた抗 HCV 活性の測定系をインドネシア大学、アイルラング大学及び神戸大学でセットアップする。
- 1-2. HCV 活性の測定系を用い、薬用植物／天然物からの粗抽出物の抗 HCV 活性スクリーニングを実施する。
- 1-3. 抗 HCV 活性が確認された粗抽出物について、培養細胞に対する毒性を評価する。
- 1-4. 抗 HCV 活性が確認された粗抽出物について、抗 HCV 活性の作用機序を解析する。
- 1-5. 粗抽出物のカラムクロマトグラフィーで得られた各分画をスクリーニングし、抗 HCV 活性を有する画分を特定する。
- 1-6. 特定された画分を分析し、抗 HCV 活性を示す新規化合物の分子構造を同定する。

活動 2 (活動主体は IU および神戸大学)

- 2-1. HCV エンベロープタンパク質をコードする遺伝子(E2 領域)を組み込んだ発現プラスミド⁹の中和抗体誘導能を測定し、高力価となる E2 領域を同定する。

⁷ 自然科学・社会科学分野の学術誌の影響度を測る指標。数値は平均的な論文の被引用回数を示し、一般的にはインパクトファクターが1以上で国際的に認められた学術誌であると考えられている。

⁸ 試験管内などの人工的に構成された条件下で行う実験。

⁹ プラスミド：宿主染色体とが独立に自律複製し遺伝出来る染色体外遺伝因子。

- 2-2. HCV の CD4 エピトープをコードする遺伝子 (NS3 領域など) を組み込んだ発現プラスミドの細胞性免疫誘導能を測定し、高力価となる遺伝子領域を同定する。
- 2-3. 高力価の中和抗体誘導能を有する E2 領域及び CD4 エピトープをコードする遺伝子 (NS3 領域) の融合タンパク発現プラスミドを作製する。
- 2-4. 遺伝子組換え水痘弱毒生ワクチンに E2+NS3 等領域融合タンパク発現プラスミドを導入し、HCV 治療／予防ワクチン候補を作製する。
- 2-5. HCV 治療／予防ワクチン候補の感染細胞において、HCV E2 エンベロープタンパク質及び CD4 エピトープタンパク質の発現をウェスタンブロット法及び蛍光抗体法により確認する。
- 2-6. モルモットへの接種実験により、HCV 治療／予防ワクチン候補の中和抗体誘導能及びウイルス特異的細胞性免疫誘導能を実証する。
- 2-7. 免疫誘導能が不十分な場合は、反復接種、アジュバント併用などにより、誘導能強化を図る。

活動 3 (活動主体は、IU および神戸大学)

- 3-1. インドネシアで現在流行しているデングウイルス株の分離を試み、分離できた株のエンベロープ領域における遺伝子塩基配列を決定する。
- 3-2. 分離株及びデータベースより得られる過去の流行株の遺伝子塩基配列情報を基に、DNA ワクチン作製に使用するエンベロープタンパク遺伝子塩基配列候補を決定する。
- 3-3. 上記遺伝子塩基配列候補を基に、全ての血清型 (1 型～4 型) それぞれについてデングウイルスエンベロープタンパク質発現プラスミドを作製する。
- 3-4. 培養細胞を用いてプラスミドが発現したエンベロープタンパク質の性状を調べ、デングウイルス DNA ワクチン候補 (1 型～4 型) を決定する。
- 3-5. デング DNA ワクチン候補 (1 型～4 型) 混合物をマウスに接種し、各血清型に対する中和抗体産生誘導能を査定する。
- 3-6. デング DNA ワクチン候補 (1 型～4 型) 混合物のマウスにおける中和抗体産生誘導能に及ぼすデングウイルス蛋白抗原併用効果を実証する。
- 3-7. デング DNA ワクチン候補 (1 型～4 型) 混合物を接種した免疫マウスに、デング 2 型ウイルスで攻撃し、感染防御能を実証する。

活動 4 (活動主体は IU および AU)

- 4-1. インドネシア大学及びアイルランガ大学において、研究活動実施のための実験室環境 (BSL¹⁰-2 実験室および必要な資機材) を整備する。
- 4-2. 研究課題ごとの標準操作手順書 (SOP¹¹) を整備する。

¹⁰ BSL: Biosafety Level (バイオセーフティレベル)。人や動物、自然環境に対する危険度を基準とした病原体に対する安全基準。

¹¹ SOP: Standard Operational Procedures

- 4-3. 研究部会を招集し、研究の進捗、成果、安全管理について協議する。
- 4-4. 各研究者がグループリーダーへ簡易研究進捗報告書を提出する。
- 4-5. 研究運営年間計画書を作成する。

【指標・目標値】

指標・目標値 1

- 1-1. 2012 年までに抗 HCV 活性を有する薬用植物抽出成分が少なくとも1つ以上同定される。
- 1-2. 2014 年までに少なくとも1つ以上の抗 HCV 活性を有する新規化合物が同定され、その作用機序が解析される。

指標・目標値 2

- 2-1. 2012 年までに HCV 治療／予防ワクチン候補に組み込まれる HCV 遺伝子領域が 3 種類以上決定され、発現プラスミドとして作製される。
- 2-2. 2014 年までにマウス及びモルモットにおいて十分な中和抗体誘導能及び細胞性免疫誘導能を有する HCV 治療／予防ワクチン最終候補が決定される。

指標・目標値 3

- 3-1. 2012 年までに Dengue ウイルス蛋白を *in vitro* で正しく発現する DNA ワクチン候補が全ての血清型に対してそれぞれ 1 種類以上決定される。
- 3-2. 2014 年までにマウスにおいて十分な中和抗体誘導能を有する Dengue ウイルス DNA ワクチン最終候補候補が全ての血清型(1 型～4 型)で決定される。

指標・目標値 4

- 4-1. 研究課題ごとの SOP が整備される。
- 4-2. 研究グループミーティングが 4 ヶ月ごとに開催される。
- 4-3. 研究グループリーダーによる研究進捗報告書が隔月に提出される。
- 4-4. 研究運営年間計画書が作成される。

3) 投入の概要

●日本側

1. 専門家派遣

- (1) 長期専門家(2名):
 - Dengue ワクチン開発・HCV 抗ウイルス薬スクリーニング(常駐研究者)
 - 業務調整
- (2) 短期専門家(4名):
 - チーフアドバイザー
 - 抗 HCV 活性を有する新規化合物開発
 - HCV 治療/予防ワクチン開発

➤ デングウイルス予防ワクチン開発

2. 本邦研修
年間 3 名程度/年×3 ヶ月間
3. 機材供与
薬用植物／天然物抽出物スクリーニング、作用機序解析用機器
デングウイルス予防ワクチン候補作成用機器等
4. 在外事業強化費

●「イ」国側

1. カウンターパートの配置
2. 施設及び資機材
 - (1) プロジェクト執務スペース(UI 及び AU)
 - (2) 研究スペース(UI 及び AU)
 - (3) 研究に必要な既存の研究資機材等
3. ローカルコスト(研究に必要な経常経費等)

(4) 総事業費／概算協力額
3.5 億円(JICA による技術協力プロジェクト投入額)

(5) 事業実施スケジュール(協力期間)
2010 年 2 月から 2014 年 1 月まで(4 年間)

(6) 事業実施体制(実施機関／カウンターパート)

【日本側】

代表：国立大学法人 神戸大学大学院医学研究科

参画：独立行政法人 医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター

【「イ」国側】

代表：インドネシア大学医学部(Faculty of Medicine, University of Indonesia)

参画：アイルランガ大学医学部(Faculty of Medicine, Airlangga University)

(7) 環境社会配慮・貧困対策・社会開発

1) 環境社会配慮

① カテゴリ分類:C

- ② 本プロジェクトでは病原性の検体等を取り扱うため、研究に従事する者はプロジェクト内で策定する標準操作手順書(SOP)に従い、適切な手順、適切な環境下で作業を行うこととする。基本的な実験操作についても、本プロジェクトの日本人専門家や現地専門家の監督下で、バイオハザード対策に関する国際基準等に沿って適切に実施されるように配慮する。

2) 貧困削減促進

労働人口の HCV やデングウイルスの感染は労働生産性の低下を招き、貧困を助長する。特にインドネシアでの HCV 感染率は他国に比較して高く、また、HCV 感染に対する第一選択の治療とされているインターフェロン+リバビリン併用療法は高額であり、安価な治療製剤が開発されれば、間接的に医療費の軽減も期待出来る。

また、本事業の貧困削減に対する負のインパクトは想定されない。

3) ジェンダー 特になし。

(8) 他ドナー等との連携

本プロジェクトの代表実施機関である神戸大学は、AU の協力のもと、AU 内に文部科学省 新興・再興感染症研究拠点形成プログラムのインドネシア拠点を設置している。同拠点での研究内容は、鳥インフルエンザ、肝炎ウイルス、デング出血熱及び感染性下痢症について病原体因子の研究や疫学調査を中心に行うため、本プロジェクトで実施する薬用植物からの治療薬候補の探索やワクチン開発とは重複しない。他方、両事業は HCV およびデングウイルス感染対策に対し異なるアプローチを取るため、各々の事業が奏効すれば、直接的な連携がなくとも感染症の統合的な理解と有効な対策の実施が期待できる。

(9) その他特記事項

1) 知的財産権の取扱いについて

本プロジェクトは、プロジェクト終了後以降に実験動物を用いた非臨床試験、さらにはヒトに対する臨床試験(治験)を経て、HCV 及びデングウイルス感染に対する新規医薬品の開発を視野に入れた活動を行うこととなるが、JICA はプロジェクト活動を通じて同定された「非臨床試験候補物質」及び関連する知的財産権を放棄している。

本プロジェクトで作製された治験薬候補等の知的財産権は、研究機関間で締結する合意文書「Collaborative Research Agreement」に定める通りとする。

2) 臨床試験(治験)の取扱いについて

医薬品・医療機器の開発・製造・販売を目的とする治験及び人体に侵襲を加える、あるいはプライバシーを侵害する臨床試験(以下、「治験等」という)については、JICA としては実施しない。JICA は治験等を実施しないことから、PDM 等の案件デザインに治験等の実施は含まない。JICA 事業で実施する活動と関連して将来的に治験等が行われた場合でも、治験等にかかる事象については相手国側もしくは日本側研究機関の責任のもとで行うこととし、いかなる場合においても JICA には責任が及ばないことを詳細計画策定調査団ミニッツにおいて確認している。

また、本プロジェクトでは非臨床試験及び治験を活動に含めないが、「イ」国側カウンターパート機関は本プロジェクト成果を将来の新規医薬品開発へと発展させる意向を示している。臨床試験の実施基準は、ICH-GCP¹²に準拠したものであることを国家医薬品食品監督庁から口頭での回答を得ており、臨床試験に係るデータの信頼性、倫理的側面は日本で実施するものとほぼ同等に担保されるものと推察される。また、非臨床試験は GLP¹³に基づいて実施されているとのものである。なお、医薬品承認申請及び市販後再評価に係る法令は“DECREE OF THE HEAD OF NATIONAL AGENCY OF DRUG AND FOOD CONTROL REPUBLIC OF INDONESIA NUMBER : HK.00.05.3.1950”に規定されている。

4) 人体に影響を及ぼす可能性のある病原体を取り扱う研究の実施について

本プロジェクトでは HCV またはデングウイルスを用いた実験を行うが、必要に応じて(ウイルス培養系など)BSL-2 環境下での実験を行い、取扱者の安全確保、周辺環境に配慮する。

また、本プロジェクトでは、研究課題ごとに SOP を作成し、各実験手技の正確性、再現性のみならず安全性を担保する配慮を行っている。4 ヶ月に1度開催予定である研究グループミーティングにおいても、安全管理状況を確認することを PDM の活動の一部として設定している。

4. 外部条件

(1) プロジェクト目標までの外部条件

¹² ICH-GCP: The International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use-Good Clinical Practice. 医薬品の臨床試験の実施に関する基準 (GCP) について、審査資料等の統一を図るための基準を作ることを目的に設置された「日・米・EU 医薬品規制調和会議」。

¹³ GLP : Good Laboratory Practice. 医薬品等の開発のための非臨床試験のデータの信頼性確保のための実施基準。

インドネシア国実施機関が継続的にプロジェクト活動のための予算措置・人員配置を行う。

(2) 成果達成までの外部条件

指導を受けたカウンターパートがプロジェクト成果達成に影響を及ぼすほど離職しない。

(3) 前提条件

- 1) 本プロジェクトで行う各研究課題に対し、倫理委員会からの承認が得られている。
- 2) 本プロジェクトで行う各研究課題に対し、インドネシア国関係当局からの承認が得られている。

5. 評価結果

(1) 妥当性

本事業は、以下の理由から妥当性は高いと判断される。

- 本事業で取り扱う新興・再興感染症は、「イ」国のみならず、世界的に喫緊の対応が必要である地球規模の課題である。政策的にも、世界的な取り組みがなされており、各国とも最大限の行政努力を重ねている。「イ」国における HIV 新規陽性者数は増加傾向にあり、政策的にも感染症予防を優先課題としており、HIV は具体的な感染症対策への取り組みとして定められている 5 つの感染症の 1 つである。本プロジェクトで実施する HCV は HIV の重複感染として近年注目されており、HIV の広がりに応じた感染拡大が危惧されていることから、政府関連機関からの期待も大きい。また、「イ」国の HCV 感染者数、その関連死は多い。デングウイルス感染についても HIV 同様に「イ」国が重点的に取り組む 5 つの感染症の 1 つであり、デング出血熱による死者も多い。
- 「イ」国側研究者が、治療法の開発や共同研究を通じた研究能力、問題解決能力の強化について高い意欲を示している。同国は近年、最先端の医学・生命科学や分子生物学的研究の基盤も向上しつつあり、我が国と同様に、科学技術の進展を将来にわたって担う優秀な若手研究者の人材育成を行うことが大きなニーズとなっている。
- 国際共同研究の実施、特にワクチンや抗ウイルス薬の開発に係る研究技術およびノウハウの蓄積と研究者の人材育成は、「途上国の発展の鍵を握る科学技術の協力の推進(科学技術外交)」として 2008 年の G8 科学技術大臣会合や総合科学技術会議でも謳われており、国際社会としてのニーズとの整合性も高い。
- 地球規模課題としての感染症対策は我が国の ODA 政策、科学技術外交政策の重要項目であり、本プロジェクトで実施する HCV に対する治療／予防ワクチンおよびデング予防ワクチンの開発、ならびに抗 HCV 物質の探索は「イ」国政府の政策や我が国の ODA 政策との整合性は高く、国際社会のニーズ、患者を含む地域社会のニーズ、研究者のニーズに合致しており、本プロジェクトの妥当性は高い。
- 「イ」国における薬物療法の対象となる HCV 患者数は我が国と同様に多く、治療成績が十分でなく、副作用発現率も高く、さらに高額な医療費を必要とする現行療法(インターフェ

ロン+リバビリン併用療法)に代わる治療薬の開発ニーズは非常に高い。デング熱/デング出血熱についても、地球温暖化の影響で沖縄地方が侵淫地域となることが危惧されていることから、我が国と「イ」国で共同研究を実施することの地域的な妥当性も高い。

(2) 有効性

本事業は、以下の理由から高い有効性が認められる。

- 本プロジェクトの日本側代表機関である神戸大学は、近年確立された HCV *in vitro* 培養系や同培養系を用いた抗ウイルス作用の検定ならびに中和抗体価測定系に関する技術、DNA ワクチンの開発技術、遺伝子組み換え弱毒水痘生ワクチンの作製系を有しており、「イ」国研究者がこれらの技術を習得することは個々の研究者の能力強化のみならず、「イ」国の感染症対策における組織的な対応能力強化にも裨益する。
- 特に遺伝子組み換え弱毒水痘生ワクチン作製系は、デングウイルス予防用多価ワクチンや HCV 予防ワクチンの開発に有用であるばかりではなく、良好な細胞性免疫の誘導が期待されることから、HCV の治療ワクチンのベクター¹⁴としても大きく期待出来る。したがって、これらの技術を用いた研究アプローチは、研究者の能力強化のみならず研究成果(ワクチン開発)を挙げることに對し直接的な効果が期待出来るため、有効性は高いと判断出来る。
- 本プロジェクトで行う HCV に対する新規物質の探索手法としてのランダムスクリーニングを採用する。ランダムスクリーニングは全くの新規物質や新薬開発のリード化合物となる構造を有した物質の発見には非常に有効である。

(3) 効率性

本事業は、以下の理由から効率的な協力の実施が見込まれる。

- 両カウンターパート機関は本研究に必要な実験室スペースを提供する。実際の研究開始に先立って、両カウンターパート機関に BSL-2 実験室整備を行うが、実験室としての環境整備に多額の費用を要するような改修等は発生しない。研究機器等に関しても、既存の機器類を最大限活用して研究活動を実施することとしているため、ハード面の投入は最小となり効率性が高い。
- 現場レベルでの研究指導や進捗管理は長期専門家として現地研究責任者を配置する予定で、特定の専門分野に関する要所の指導については、短期専門家による派遣が計画されており、ニーズ、進捗状況に応じた効率的な派遣・指導が期待される。
- なお、ランダムスクリーニングは新規物質の発見には非常に有効な手法であるが、資金と労力、および時間が求められる。4 年間のプロジェクト期間において一定の成果を発現するため、本プロジェクトの活動の一部である「研究進捗報告書」や「研究グループミーティング」などを通じて適切に研究の進捗管理やモニタリングを実施し、常に効率性に配慮した案件監理を行うことが求められる。

¹⁴ DNA 組換え技術で、目的の遺伝子を宿主細胞に伝達するのに用いられるプラスミドなどの DNA 分子。

(4) インパクト

本事業の実施により、以下のインパクトが想定される。

- 本プロジェクトでは前述の(2)有効性で示したとおり、多くの新技術の移転を行うが、これらの技術は他の感染症に対する医薬品開発にも応用可能であり、将来的に多くの感染性疾患に対する治療剤開発に波及することが期待できる。
- 本プロジェクトを通じてHCVに対する新規医薬品およびHCVとデングウイルスに対して有効なワクチンが開発されれば、新産業の創出に繋がることが期待される。
- また、慢性 C 型肝炎患者は「イ」国、我が国を始め欧米諸国にも多数存在する。将来にわたって肝硬変や原発性肝癌の危険性に曝されている多くの慢性 C 型肝炎患者にとって大きな福音となる。デングウイルス感染患者も世界で年間 5 千万人発生していると推計されており、同様の正のインパクトが期待出来る。

(5) 自立発展性

本事業は、以下の理由から相手国政府によりプロジェクト終了後も継続されることが見込まれる。

- 「イ」国は、近年の鳥インフルエンザや新型インフルエンザの発生、HIV 陽性者の増加等に伴い、新興・再興感染症への取り組みを強化している。政策的にもデング熱／デング出血熱や HIV 感染は重点項目であり、HCV についても HIV の重複感染として対策の重要性が世界的にも高まっており、「イ」国関係省庁や他の研究機関からの本プロジェクトに対する関心や期待も大きい。したがって、新規医薬品候補作製に一定の成果が認められれば、本プロジェクトの終了後も各種関係機関から一定の支援(研究活動費を含む)が継続されることは多いに期待出来る。
- 本プロジェクトで実施する医薬品開発研究は非臨床試験、臨床試験(治験)を含まないが、カウンターパート機関の研究者のみならず関係省庁、他の研究機関関係者は将来的な商業ベースでの医薬品開発に強い意欲を示している。したがって、本プロジェクト終了後もプロジェクト成果の発展(医薬品開発)や習得した技術を応用した他の感染性疾患に対する研究対象の拡大が期待できる。
- 本事業での取り組みは、非臨床試験候補の作製までであり、将来的に非臨床試験、臨床試験(治験)が行われる道を拓くことを視野に入れつつ活動を展開する。非臨床試験の実施には GLP 基準に沿った研究施設での実験データが必要であり、臨床試験の実施にあたっては、「イ」国側の自助努力により GMP¹⁵対応の医薬品製造施設や治験実施施設(両大学の附属病院など)、製薬企業、SMO¹⁶等の関連機関の治験実施体制整備が必要であ

¹⁵ GMP : Good Manufacturing Practice.医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令

¹⁶ Site Management Organization : 治験施設支援機関

る。

6. 今後の評価計画

(1) 今後の評価に用いる主な指標

【プロジェクト目標】

1. 少なくとも1つ以上、前臨床試験への抗 HCV 用薬候補化合物及び HCV とデングウイルスに対するワクチン候補がそれぞれ決定される。
2. インドネシア人研究者が筆頭著者である研究論文が、研究課題についてそれぞれ 2 報以上、インパクトファクター1.0 以上の論文審査のある学術専門誌に掲載される。

【成果】

- 1-1. 2012 年までに抗 HCV 活性を有する薬用植物抽出成分が少なくとも1つ以上同定される。
- 1-2. 2014 年までに少なくとも1つ以上の抗 HCV 活性を有する新規化合物が同定され、その作用機序が解析される。
- 2-1. 2012 年までに HCV 治療／予防ワクチン候補に組み込まれる HCV 遺伝子領域が 3 種類以上決定され、発現プラスミドとして作製される。
- 2-2. 2014 年までにマウス及びモルモットにおいて十分な中和抗体誘導能及び細胞性免疫誘導能を有する HCV 治療／予防ワクチン最終候補が決定される。
- 3-1. 2012 年までにデングウイルス蛋白を *in vitro* で正しく発現する DNA ワクチン候補が全ての血清型に対してそれぞれ 1 種類以上決定される。
- 3-2. 2014 年までにマウスにおいて十分な中和抗体誘導能を有するデングウイルス DNA ワクチン最終候補が全ての血清型(1 型～4 型)で決定される。
- 4-1. 研究課題ごとの SOP が整備される。
- 4-2. 研究グループミーティングが 4 ヶ月ごとに開催される。
- 4-3. 研究グループリーダーによる研究進捗報告書が隔月作成される。
- 4-4. 研究運営年間計画書が作成される。

(2) 今後の評価のタイミング

- 1) 中間レビュー:2012(平成 24)年 2 月頃
 - 2) 終了時評価:2013(平成 25)年 8 月頃
- 事後評価:プロジェクト終了 2～4 年後を目安とする。

第1章 調査実施の背景・目的

1-1 調査の背景

昨今、我が国の科学技術を活用した環境・エネルギー、防災及び感染症等を始めとする地球規模課題に関する国際協力の期待が高まるとともに、国内においても、総合科学技術会議「科学技術外交の強化に向けて」（平成 19 年 4 月）等を通じて、科学技術に係る外交の強化やODAの科学技術協力における活用の必要性・重要性が高まってきた。かかる背景のもと、外務省と文部科学省は、平成 20 年度より、JICA 及び独立行政法人科学技術振興機構（以下、「JST」）との連携のもと、我が国と開発途上国地域の研究機関が地球規模の課題解決に資する国際共同研究を実施し、開発途上国自らの課題解決へ取り組む能力を強化する「地球規模課題に対応する科学技術協力」を実施することとなった。当事業は、国内での研究支援は JST が行い、開発途上国に対する支援は JICA が行うこととされている。

これに関連し、インドネシア共和国（以下「イ国」）政府からは、フラビウイルス等（C 型肝炎ウイルス及びデングウイルス）に対する新規抗ウイルス治療薬候補の同定と新規ワクチンの開発を目指し、かつ右開発を通じた研究者の研究技術向上・人材育成を目指す「フラビウイルス等に対する抗ウイルス薬及びワクチンの開発プロジェクト」が要請され、案件審査の結果、平成 21 年度案件として採択されるに至った。

本プロジェクトが取り組む具体的な研究課題は、「C 型肝炎ウイルス（以下「HCV」）に関する治療・予防ワクチン候補の作製」と「デングウイルスに関する予防 DNA ワクチンの作製」である。イ国においては、C 型肝炎ウイルスの慢性感染者が約 700 万人存在し、毎年 20 万人以上が HCV 感染を直接原因として死亡しており、インターフェロンとリバビリンによる現行の治療法では不十分であり、抗慢性患者に対する新規抗ウイルス薬の開発や予防・治療用ワクチンの開発が求められている。これらの開発は、約 200 万人の HCV 慢性感染患者を抱え、毎年 4 万人が HCV 感染で死亡する日本においても急務の課題である。また、イ国はデング熱の蔓延が問題となっており、保健省は感染症の中でも優先的に取り組む疾病としてその対策に取り組んでいるが、未だデング熱に係る有効なワクチンや抗ウイルス薬が開発されていない状況にある。

上記に関し、神戸大学大学院医学研究科（以下「神戸大学」）は、HCV の増殖過程や病原性発現の分子機序について様々な新知見を得、HCV に対する抗ウイルス作用の検定や中和抗体価の測定系も確立している。また、HCV と同じフラビウイルス科に属するデングウイルスに対する DNA ワクチンの開発についても長年にわたり基礎データを蓄積しており、これら背景から、今般インドネシア大学及びアイルランガ大学との共同研究提案がなされた。なお、神戸大学は、インドネシア大学とは 1979 年以来、日本学術振興会「アジア地域等学術交流事業・二国間拠点大学事業」等による医学分野における学術交流が進んでいるほか、アイルランガ大学とは 1991 年以来共同研究が進められ、2007 年より文部科学省「新興・再興感染症研究拠点形成プログラム」により、同大学熱帯病研究所において疫学調査研究が

実施されている。

今般、8月29日から9月10日までの間、詳細計画策定調査団を派遣し、イ国政府からの協力要請の背景・内容、イ国実施機関の実施体制等を確認し、また、先方政府、関係機関との協議を経て、協力内容・計画（プロジェクトデザイン）案について合意を行った。

1-2 調査の目的

(1) イ国政府からの協力要請の背景・内容の確認、イ国及び実施機関における研究実施体制の確認、案件実施に必要な情報の収集・分析。

(2) イ国関係機関との協力内容、協力計画に係る協議、および協議議事録（Minutes of Meeting、以下「ミニッツ」）の署名による合意形成

1-3 調査団構成

担当業務	氏名	所属	期間
団長・総括	牛尾 光宏	JICA 人間開発部 技術審議役	2009. 8. 30-9. 10
研究総括	堀田 博	神戸大学大学院医学研究科教授 感染症センター長	2009. 8. 29-9. 10.
協力企画	小谷 知之	JICA 人間開発部感染症対策課 職員	2009. 8. 29-9. 10.
評価分析	井上 洋一	株式会社日本開発サービス 調査部主任研究員	2009. 8. 29-9. 10.
オブザーバー	倉田 毅	科学技術振興機構（JST） 地球規模課題国際室 研究主幹	2009. 8. 31. -9. 6
オブザーバー	斉藤恵子	JST 地球規模課題国際室 調査員	2009. 8. 29-9. 10

1-4 調査日程

調査期間：2009年8月29日から9月10日まで

	日付		行程
1	8月29日	土	ジャカルタ着（堀田教授、小谷/井上団員、斉藤オブザーバー）
2	8月30日	日	ジャカルタ着（牛尾団長） 団内打合せ
3	8月31日	月	JICA 事務所打合せ インドネシア大学表敬及び調査 教育省高等教育局表敬 ジャカルタ着（倉田オブザーバー）
4	9月1日	火	インドネシア科学院（LIPI）表敬 科学技術担当大臣府（RISTEK）表敬及び協議 保健省国立保健研究開発研究所（NIHRD）表敬 ジャカルタ発→スラバヤ着
5	9月2日	水	アイルランガ大学表敬及び調査 スラバヤ大学表敬 スラバヤ発→ジャカルタ着
6	9月3日	木	国立医薬品食品管理検査室表敬及び調査 インドネシア大学、アイルランガ大学との PDM 協議
7	9月4日	金	インドネシア大学、アイルランガ大学との PDM 及びミニッツ協議
8	9月5日	土	団内打合せ、ミニッツ（案）作成
9	9月6日	日	ミニッツ（案）作成
10	9月7日	月	インドネシア大学、アイルランガ大学及び教育省とのミニッツ最終確認
11	9月8日	火	ミニッツ署名（於；教育省高等教育局） RISTEK 報告
12	9月9日	水	JICA 事務所報告 日本国大使館報告 ジャカルタ発
13	9月10日	木	日本着

第2章 調査結果

2-1 調査結果概要

詳細計画策定調査を通じて関係機関・関係者と確認・合意が行われた調査結果につき、概要を以下のとおり報告する。

- (1) 先方実施機関であるインドネシア大学及びアイルランガ大学における調査・協議を通じて、先方要請内容に基づくプロジェクトデザインの詳細を策定し、また、関係機関の役割分担、活動計画等につき合意を行い、ミニッツへの署名を行った。
- (2) 案件名称に関し、本プロジェクトの取組みをより明確に反映させるため、以下のとおり変更する点につき実施機関間で合意した。 案件名称変更案は、調査団より日本国大使館及び外務本省に対し報告及び検討依頼を行う予定。

案件名称変更案

(英文) Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines

(和文) 抗 C 型肝炎ウイルス (HCV) 物質の同定及び HCV ならびにデングワクチンの開発プロジェクト

- (3) 先方実施機関の両大学とも、協力実施体制について人材、インフラ双方とも概ね問題ない点を確認した。インドネシア大学は研究助手、消耗品に対する 400 万円の予算配置を決定済みである。
- (4) 供与機材については、プロジェクト実施に必要最低限の機材をリストアップし、テナティブリストとしてミニッツに添付した。今後、インドネシア両大学及び神戸大学が継続検討を行いながら、必要性やプロジェクトの進捗状況等に応じて柔軟に対応する予定である。
- (5) 先方実施機関の両大学および日本側研究機関（神戸大学）は、長年の学術交流を通じた強固な信頼関係を構築しており、プロジェクトの取り組みに関する十分な共通認識が醸成されている点を確認した。また、教育省、保健省とも本プロジェクトに対し肯定的見解を有している点を確認した。
- (6) 日本人専門家の派遣にあたっては、リサーチパーミットの取得が必要である点を RISTEK（科学技術担当大臣府）より確認した。今後の対応については、当国における他の科学技術協力案件も含めた統一的な対応が必要となるため、JICA 事務所の方針決定を待ち対応する。
- (7) 今後のスケジュールは、2009 年 11 月 R/D 署名、2010 年 2 月のプロジェクト開始を予定する。

(8) 先方と確認・合意したプロジェクト概要は以下のとおり。

ア. プロジェクト目標

共同研究を通じて、インドネシア研究機関の抗 C 型肝炎ウイルス (HCV) 薬開発、および HCV・デングウイルスに対するワクチン開発に係る研究能力が強化される。

イ. 成果

- 1) インドネシア及び日本原産薬用植物／天然物抽出物から抗 HCV 活性を有する新規物質が同定され、作用機序が解析される。
- 2) 遺伝子組み換え水痘弱毒生ワクチン技術を応用した HCV 治療／予防ワクチン候補が作製される。
- 3) 十分な有効性を示すデングウイルス予防 DNA ワクチンが、各血清型 (1 型～4 型) に対して各々作製される。
- 4) インドネシア原産薬用植物／天然物由来抗 HCV 薬開発及び HCV やデングウイルスに対するワクチン開発研究のための実施体制が整備される。

2-2 調査項目毎の調査結果

調査前の対処方針として整理した各調査項目に対し、現地調査を通じて確認・対応した項目毎の調査結果について以下のとおり報告する。

調査項目	調査結果
(1) 【科学協力の基本的考え方】	
<ul style="list-style-type: none"> ・本プロジェクトは、「地球規模課題対応国際科学技術協力」により実施されるため、本事業の目的、実施の仕組み等について、先方に理解を得る必要がある。 	<ul style="list-style-type: none"> ・本事業の目的、実施の仕組み等について先方関係機関に説明を行い、ミニッツに記載した。
(2) 【案件名の変更】	
<ul style="list-style-type: none"> ・本プロジェクトでの取り組みが、「フラビウイルス等」の中でも「HCV」と「デングウイルス」に特定されている。具体的な取組みを案件名により明確に反映させるため、プロジェクト名を変更し、関係者間で了解を得る必要がある。 	<ul style="list-style-type: none"> ・先方関係機関との協議において、調査団側の案件名変更案を提示し、先方の意見を聴取した結果、プロジェクトの取組みを案件名により明確に反映するため、以下のとおりの案件名に変更し、両国政府の了解を得ることで合意した。 ● 現案件名 (神戸大学提出提案書 and 和文名) フラビウイルス等に対する抗ウイルス薬及びワクチンの開発 (要請書 and 和文名) フラヴィウイルス対策のための自然物質／ワクチン開発プロジェクト

調査項目	調査結果
	<p>(要請書英文名) Emerging Infectious Diseases: Development of vaccines and natural substance based antiviral drugs for control and prevention of flavi- and related viruses</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>● 調査団側の提示した案件名変更案 (和文名) C型肝炎ウイルス及びデングウイルスに対する抗ウイルス薬候補の同定及びワクチンの開発プロジェクト (英文名) Identification of Antiviral Drugs and Development of Vaccines to Hepatitis C Virus and Dengue Virus</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>● 先方関係機関と合意に達した案件名変更案 (和文名) 抗C型肝炎ウイルス (HCV) 物質の同定及び HCV ならびにデングワクチンの開発プロジェクト (英文名) Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines</p>
(2) 【プロジェクト実施体制】	
<p>1) R/D 署名者、プロジェクト実施体制 以下の案が妥当と考える。</p> <p>① R/D 署名者</p> <p>JICA、インドネシア大学およびアイルランガ大学の3機関の署名。 ウィットネス署名として、イ国教育省、神戸大学（堀田教授）が参加。</p> <p>② 実施体制</p>	<p>・調査団案について先方の了解を得た。なお、各機関からの署名者は以下のとおり。</p> <p>① インドネシア大学：医学部学部長 ② アイルランガ大学：副学長 ③ JICA 調査団：団長 ④ 証人署名（ウィットネス）：イ国教育省高等教育総局長、神戸大学堀田教授（日本側研究代表者）</p>

調査項目	調査結果
<p>① プロジェクトディレクター インドネシア大学医学部長</p> <p>② プロジェクトマネージャー インドネシア大学医学部副学長</p> <p>③ プロジェクト共同マネージャー アイルランガ大学副学長</p> <p>④ 合同調整委員会 (JCC) プロジェクトディレクター/マネージャー/共同マネージャー、各研究グループリーダー、教育省、日本人専門家 (チーフアドバイザー及び業務調整員)、神戸大学、日本国大使館、JICA インドネシア事務所。オブザーバーとして JST。</p> <p>⑤ プロジェクト関係機関の分野分担 プロジェクトに関係機関ごとの各分野分担は、以下のとおりとなる</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・左記実施体制に加え、対処方針会議時点で調査団案としてあったアイルランガ大学熱帯病研究所長の参画については、研究グループ (ワーキンググループ) に含めることで合意した。 ・JCC オブザーバーとして、RISTEK、LIPI および保健省代表者を追加することで合意した。 <p>・プロジェクト関係機関ごとの各分野分担については、以下のとおりほぼ調査団案のとおりで合意した (詳細はミニッツ別添Ⅱのとおり)。</p>

研究課題		インドネシア側	日本側
①抗 HCV 活性を有する新規物質の同定・作用機序の解析	スクリーニング	インドネシア大学	神戸大学
		アイルランガ大学	医薬基盤研究所
	作用機序の解析	インドネシア大学	神戸大学
		アイルランガ大学	
②遺伝子組み換え水痘弱毒生ワクチン技術を応用した HCV 治療/予防ワクチン候補の作製		インドネシア大学	神戸大学
③デングウイルス予防 DNA ワクチンの作製		インドネシア大学	神戸大学

調査項目	調査結果
⑥ Working Group (WG) の開催	・4 ヶ月に1度、関係者間で各分野活動の進捗等を共有する <u>Research Group</u> を設置することで合意した。
(3) 【プロジェクト実施に係る環境整備】	
<p>1) プロジェクト事務所、研究ラボの設置場所提供</p> <p>2) ラボ整備にかかる安全基準の確保</p> <p>3) ラボ整備における機材整備計画</p>	<p>・インドネシア大にプロジェクト事務所を設置し、アイルランガ大学においてもオフィススペースの提供を行うことを確認し、ミニッツにて確認を行った。</p> <p>・インドネシア大及びアイルランガ大学におけるバイオセーフティ確保のため、両大学において緊急時対応を含む責任者を明確にする点につき、ミニッツにて確認を行った。</p> <p>・活動に最低限必要な機材について、暫定リストとしてリストアップし、ミニッツ添付文書として記載した。右リスト記載の機材については、活動に必要最低限名リストとして記載したものであり、今後の関係機関との更なる協議やプロジェクトの進捗・必要性に応じ、追加検討等ありうる点を関係機関間で共通認識を得た。</p>
(3) 【プロジェクト概要】	
<p>1) 案件名</p> <p>上記(2)のとおり、案件名変更の提案を行う。</p>	<p>・上記のとおり案件名変更案について合意した。</p>
<p>2) 協力期間</p> <p>要請書では、4年間の協力が要請されている。</p>	<p>・R/D署名を2009年11月、プロジェクト開始を2010年2月とし、4年間の協力期間とする点を確認し、ミニッツに記載した。</p>
<p>3) プロジェクト目標</p> <p>ODA要請書記載の内容は、PDMの成果レベルで記載されるべき項目4項目が記載されている。</p>	<p>・プロジェクト目標は、科学技術案件の定型に従い、以下とすることで合意し、ミニッツに記載した。</p> <p>(英文) Research capacity of Indonesian</p>

調査項目	調査結果
<p>4) プロジェクト目標達成のためのプロジェクトデザイン (PDM)</p> <p>ODA 要請書記載のプロジェクトデザイン、方向性は、調査団作成の PDM とほぼ合致する。</p>	<p>research institutes, for the identification of anti-hepatitis C virus (HCV) substances and development of HCV and dengue vaccines, are enhanced through collaborative research activities with Japanese research institutes.</p> <p>・イ国側要請内容と神戸大学の研究計画内容、およびイ国関係機関との協議を通じて PDM について合意を行い、ミニッツに記載した。</p>
<p>5) 実施上の留意点について</p> <p>① イ国内での保健分野調査研究に係る承認</p> <p>イ国において保健分野研究を実施する場合、RISTEK を通じたリサーチパーミットを取得する必要があるが、本プロジェクトはインドネシア側からの要請であり、リサーチパーミットの取得は不要とする点を RISTEK と確認する必要がある。</p> <p>また、プロジェクトの実施にあたりインドネシア大学及びアイルランガ大学における倫理委員会の承認を得る必要がある。また、研究を主とする本プロジェクトに関しては、承認を取得することが R/D 署名の要件となる可能性が考えられる。</p> <p>②インドネシア大学及びアイルランガ大学による本プロジェクトに対する投入について</p> <p>プロジェクトの自立発展性を考慮し、本プロジェクトに対するインドネシア実施機関の捻出する投入（費用）について可能な限り働</p>	<p>・RISTEK 他関係機関との協議により、イ国での研究調査事業についてはリサーチパーミットを取得する必要がある点を確認した。RISTEK 方針を尊重しつつ、イ国における JICA 科学技術他案件との整合性を考慮した JICA インドネシア事務所の方針を確認しながら、対応を決定することを RISTEK 他イ国関係機関に対し説明した。</p> <p>・倫理委員会の承認については、インドネシア大学及びアイルランガ大学における承認を適宜得る点につき確認を行い、ミニッツにて合意を行った。</p> <p>・インドネシア大学及びアイルランガ大学より、C/P の配置、および既存ラボ・機材を最大限活用する点について確認を行った。インドネシア大学については、当プロジェクトに必要な研究補助員・ラボ技師・秘書の備上、</p>

調査項目	調査結果
<p>きかける必要がある。</p> <p>② 日・イ国間での合意必要事項</p> <p>a) 日・イ国研究機関間での合意文書締結</p> <p>b) 安全策及び倫理的配慮</p> <p>c) 知的財産権の取扱い</p> <p>d) 治験等の取扱い</p>	<p>消耗品等の購入経費として教育相から約400万円を確保(09～12年)した点につき確認した。アイルランガ大学においても副学長、学長レベルにおいて当プロジェクトにかかるランニングコストの捻出について今後検討を行う意向を副学長から確認した。</p> <p>・両国研究機関間で、本プロジェクトのマスタープランに基づき共同研究を行うことを合意し、合意文書(MOU)を締結すべき旨をミニッツに記載した。</p> <p>・安全策及び倫理的配慮について以下の2点をミニッツに明記した。</p> <ul style="list-style-type: none"> - 人体及び動物に関係する全てのプロジェクト研究活動は、日本・イ国の該当機関の倫理委員会の承認を得なければならない。 - 研究活動の安全性(バイオセーフティ)を確保するため、イ国側は、バイオハザード事故、停電、自然災害などの緊急時における責任者、報告者、対応者を明確にすることに同意した。 <p>・知的財産権の取扱い 知的財産権の取扱いは、研究機関間の合意文書に定めるとおりとすることをミニッツに記載する。</p> <p>・治験等の取扱い(※本協力で治験は予定さ</p>

調査項目	調査結果
<p>e) 生物資源の国外持出しについて</p> <p>研究で使用する検体の国外持ち出しについて、本プロジェクトでも研究機関間で物質移動合意書(MTA)を締結するなどして、国際的な合意を得ておくことが必要である。</p>	<p>れていないが、注意事項として記載する)</p> <p>医薬品・医療機器の開発・製造・販売を目的とする治験 (Clinical Trial) 及び人体に侵襲を加える、あるいはプライバシーを侵害する臨床試験 (以下、「治験等」という) については、JICA 事業として実施しないことから、治験は本プロジェクトに含まれないことをミニッツに記載し、PDM 等の案件デザインに治験等の実施は含めていない。</p> <p>本プロジェクトで実施する研究活動と関連して治験等が行われた場合でも、治験等にかかる事象については相手国側もしくは日本側研究機関の責任の下で行うこととし、いかなる場合においても JICA には責任がない旨をミニッツに明記した。また、治験等にかかる経費、謝金は支出しない旨も記載した。</p> <p>・生物資源の持ち出しについては、プロジェクトの進捗状況に応じ、イ国薬用植物資源の日本での分析のための検体国外持ち出しが想定されるが、この場合 MTA による国際的合意を得た上で行う点を関係機関間で確認した。</p>
<p>5) プロジェクト・デザイン・マトリックス (PDM)</p> <p>上位目標は設定しない (本事業統一の取扱い)。</p>	<p>上位目標は設定しない PDM で合意した。</p>
<p>6) 活動計画 (PO)</p>	<p>6) 第一版を作成し、ミニッツに添付した。</p>
<p>7) 投入計画</p> <p>概要案は以下のとおり。</p> <p>長期専門家 業務調整 1 名</p>	<p>7) 下記についてイ国関係者と確認を行い、ミニッツに記載した。</p> <p>●長期専門家 研究担当、業務調整各 1 名</p>

調査項目	調査結果
短期専門家 各研究分野で数名・数回 研修員受入 2名×3ヶ月 機材供与	●短期専門家 ア. 研究代表及びHCV イ. 新規抗HCV物質開発 ウ. HCV予防/治療ワクチン開発 エ. デングウイルス予防ワクチン開発 ●研修員受入 3名×3ヶ月 ●機材供与:暫定リストとしてミニッツに添付した。
(4) 【関連情報の収集】	
1) 新規診断法・新薬承認、及び治験に関する情報収集 今般のプロジェクトでは対象外であるが、研究機関の自主的取組みとして、本プロジェクトの成果を用いた新規診断法開発及び治験による新薬開発を進める可能性がある。よって、関連情報としてイ国における上記関連情報を収集し、把握しておく必要がある。	1) イ国における以下の項目に関して、インドネシア保健省 FDA 担当者より以下の情報に係る事前に送付した質問票への回答を依頼済。 - 診断法、医薬品承認の体制（法律、仕組み、組織など） - 治験の審査体制（法律、仕組み、治験審査委員会を含む組織など） 医薬品承認申請及び市販後再評価に係る法令は“DECREE OF THE HEAD OF NATIONAL AGENCY OF DRUG AND FOOD CONTROL REPUBLIC OF INDONESIA NUMBER : HK.00.05.3.1950”に規定されている。 また、臨床試験の実施基準はICH-GCPに準拠したものであると、口頭での回答を得ている。従って、臨床試験に係るデータの信頼性、倫理的側面は日本で実施するものとほぼ同等であると推察される。また、非臨床試験はGLPに基づいて実施されているとのことである。 (PCP 及び GLP ガイドラインの提供も依頼済)
(5) 5項目評価	
本事業の趣旨から、評価5項目のうち、妥	

調査項目	調査結果
当性の検討は必須で、他の項目は可能な範囲で検討する。	事前評価表案を作成する。
(6) 今後のスケジュール*	
上記4) ①の調査研究承認の取得が必要な時期に応じ、R/D 署名及びプロジェクトの開始時期は変更される可能性がある。	以下のとおり、プロジェクト開始までに必要な文書締結を含めたスケジュールおよび目安時期について先方関係機関と合意し、ミニッツに記載した <u>2009年</u> 11月 R/D 署名 <u>2010年</u> 2月 プロジェクト開始*
	<参考:上記と並行してプロジェクト開始までに必要な文書締結> インドネシア大学、アイルランガ大学と神戸大学との MoU 締結(R/D と同時期) JICA と神戸大学との取極の署名 JST と神戸大学との委託研究契約締結

2-3 プロジェクトの内容と展開方法 (研究総括団員報告)

今次の詳細計画策定調査を通じ、調査前の段階からイ国関係者との調整のもと、両国研究者間で予め合意に達していたプロジェクト内容が、ほぼそのままの形で確認・合意に達することが出来た。以下のとおり、プロジェクトの内容、展開方法について概要を説明する。

プロジェクト内容

インドネシア人研究者と共同で、下記の4項目の技術移転・研究開発事業を行う。

(1) HCV に対する新規抗ウイルス物質の同定:

インドネシア大学、アイルランガ大学、神戸大学それぞれが保有する薬用植物資源・天然抽出物を用いて、HCV に対して抗ウイルス作用を有する物質のスクリーニングを行う。そして、その抗ウイルス物質の作用機序及び分子構造を明らかにする。

(2) HCV に対する組換え水痘生ワクチン候補の開発:

HCV エンベロープタンパク質及び他の構造・非構造タンパク質を発現する組換え水痘生ワクチン候補を作製し、動物実験により中和抗体及び細胞性免疫の誘導を調べ、ワクチン効果を明らかにする。

(3) デングウイルスに対する DNA ワクチン候補の開発:

デングウイルス（1型～4型）のエンベロープタンパク質を発現する DNA ワクチン候補を作製し、動物実験により中和抗体、細胞性免疫及び感染防御能の誘導について調べ、ワクチン効果を明らかにする。

(4) インドネシア及び日本における研究技術及びノウハウの蓄積と人材育成：

上記の技術移転及び共同研究を通して、インドネシア及び日本において、抗ウイルス薬やワクチンの開発に係わる研究技術及びノウハウの蓄積並びに人材育成を行う。

プロジェクトの展開方法

バイオセーフティーレベル（BSL）2 実験室及び薬用植物分析設備をインドネシア大学とアイルランガ大学に設置し、当該研究実施のための研究環境を整備して、下記の研究を実施する。

(1) HCV に対する新規抗ウイルス物質の同定：

それぞれの大学及び関連研究機関が保有する薬用植物資源・天然抽出物を用いて、HCV に対して抗ウイルス作用を有する物質のスクリーニングを行う。抗ウイルス作用を有する薬用植物資源・天然抽出物が見つければ、分子量、荷電状態等に応じたカラムクロマトグラフィーにより当該物質の精製を行い、さらに分子構造の解析を進める。また、抗 HCV 作用がウイルス増殖のどの段階に作用するかについても解析を行う。

(2) HCV に対する組換え水痘生ワクチン候補株の開発：

HCV のエンベロープタンパク質及び他の構造・非構造タンパク質をコードする遺伝子領域を組み込んだ発現プラスミドを作製する。これらの発現プラスミドを用いて、様々な HCV タンパク質を培養細胞に発現させ、発現の程度やその性状について、免疫染色法やウエスタンブロット法により解析する。ついで、これらの発現プラスミド（DNA ワクチン）をマウスに接種し、HCV に対する抗体産生及び細胞性免疫の誘導について調べる。ワクチン効果が期待できる発現プラスミドを水痘ウイルス生ワクチン株の遺伝子に組み込み、HCV のエンベロープタンパク質及び他の構造・非構造タンパク質を発現する組換え水痘ウイルスを作製する。この組換え水痘ウイルスをモルモットに接種し、中和抗体ならびに細胞性免疫の誘導能を調べる。さらに、可能ならば、サルに対する接種実験を行い、霊長類においても HCV に対する中和抗体や細胞性免疫を誘導するかどうかについて調べる。

(3) デングウイルスに対する DNA ワクチン候補の開発：

インドネシア大学で分離した最近のデングウイルス（1型～4型）の流行株のエンベロープ遺伝子配列を決定し、その cDNA を用いて発現プラスミドを作製する。これらを用いてデングウイルスのエンベロープタンパク質を培養細胞に発現させ、その発現量と性状について、免疫染色法やウエスタンブロット法により解析する。ついで、これらの発現プラスミドを DNA ワクチンとしてマウスに接種し、同ウイルスに対する抗体産生、細胞性免疫ならびに感染防御能の誘導について調べる。ウイルス株間の交差反応性についても検討する。さらに、サルに対する接種実験を行い、霊長類においてもデングウイルスに対する中和抗

体や特異的細胞性免疫を誘導するかどうかについて調べる。

(4) インドネシア及び日本における研究技術及びノウハウの蓄積と人材育成：

上記の技術移転と共同研究を通して、インドネシア及び日本において、抗ウイルス薬やワクチンの開発に係わる研究技術及びノウハウの蓄積並びに人材育成を行う。

研究の進め方として、日本人長期専門家 1 名をインドネシアに常駐させ、インドネシア人研究者との間で、技術移転と共同研究を実施する。また、日本人短期専門家が 1～2 週間の滞在で現場での研究及び指導にあたる。上記 3 分野で年間のべ 10～12 名派遣予定で、全体として毎月 1 回専門家の派遣が行われる予定である。また、インドネシア人研修員（研究者）の受入計画として、年間 3 名で各 3 ヶ月間を予定しており、その間に技術移転と共同研究を行う。

機材に関しては、インドネシア大学、アイルランガ大学双方の既存の機材を活用しつつ、研究計画の実施及び研究基盤の構築のために、最低限必要な機材を供与する。

第3章 総括（団長総括）

今次調査を通じて、イ国実施機関であるインドネシア大学およびアイルランガ大学を訪問し、プロジェクトサイトの確認、両大学関係者とのディスカッションを密に行うことが出来た。また、本プロジェクトの実施、およびプロジェクト終了後におけるイ国側の自助努力による研究成果の継続展開を図る上での支援が不可欠となる科学技術担当大臣府（RISTEK）や教育省、保健省諸機関を訪問し、プロジェクト実施・展開にあたりこれら関係省庁・機関からの理解を得られることが出来た。

本プロジェクトの活動骨子である抗C型肝炎ウイルス（HCV）に関するウイルス薬候補の同定、およびHCVならびにデングウイルスに対するワクチン候補の開発、また、これら活動を通じてイ国実施機関の研究能力の強化を図るという本プロジェクトの目指す方向性について、JICAが予め想定した対処方針案どおり先方関係機関との確認を了し、終始友好的雰囲気のもとスムーズに合意に達することが出来た。これはひとえに、長年に亘る神戸大学とアイルランガ大学・インドネシア大学との学術交流に基づく強固な信頼関係が構築されていることに拠るものであり、本プロジェクトの日本側研究代表者である堀田教授をはじめとする歴代の神戸大学の関係者の賜物と敬服する。

来年（2010年）2月のプロジェクト開始に向け、今後引き続き確認を行う必要のあるリサーチパーミットの取得如何など、手続き上幾つかの確認作業を要することになるが、今次調査を通じイ国関係者と十分な共通認識を醸成できたところ、今後のプロジェクトの計画通り、かつ成功裡の展開を期待したい。

以上

付 属 資 料

1. 署名M/M
2. PDM
3. PO

**MINUTES OF MEETINGS BETWEEN
THE JAPANESE DETAILED PLANNING SURVEY TEAM AND
THE AUTHORITIES CONCERNED OF
THE GOVERNMENT OF
THE REPUBLIC OF INDONESIA ON
JAPANESE TECHNICAL COOPERATION FOR THE PROJECT FOR
EMERGING INFECTIOUS DISEASES: DEVELOPMENT OF VACCINES AND
NATURAL SUBSTANCE BASED ANTIVIRAL DRUGS FOR CONTROL AND
PREVENTION OF FLAVI- AND RELATED VIRUSES**

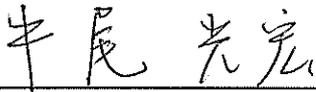
Japan International Cooperation Agency (hereinafter referred to as "JICA") organized the Detailed Planning Survey Team (hereinafter referred to as "the Team"), headed by Dr. Mitsuhiro Ushio from August 29 to September 10, 2009 for the purpose of discussing the framework of the technical cooperation project entitled "Emerging Infectious Diseases: Development of Vaccines and Natural Substance Based Antiviral Drugs for Control and Prevention of Flavi- and Related Viruses" (hereinafter referred to as "the Project").

The Team had a series of discussions and exchanged views on the Project with the authorities concerned of The Republic of Indonesia.

During the discussions, both sides agreed that it is appropriate to modify the original project title indicated above to "Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines".

As a result of the discussions, the Team and the Indonesian authorities concerned agreed on the matters referred to in the document attached hereto.

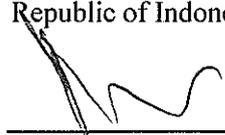
Jakarta, September 8, 2009



Dr. Mitsuhiro Ushio
Team Leader
Detailed Planning Survey Team
Japan International Cooperation Agency
Japan

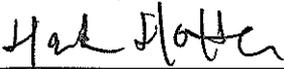


Dr. Ratna Sitompul Ph.D.
Dean
Faculty of Medicine
University of Indonesia
Republic of Indonesia



Prof. Dr. Soetjipto MS., Ph.D.
Vice Rector
Airlangga University
Republic of Indonesia

Witnessed by



Prof. Haku Hotta, M.D., Ph.D.
Director, Center for Infectious Diseases
Kobe University Graduate School of Medicine
Japan



Prof. Dr. Fasli Jalal, Ph.D.
Director General of Higher Education
Ministry of National Education
Republic of Indonesia

THE ATTACHED DOCUMENT

I OBJECTIVE OF THE DETAILED PLANNING SURVEY

The objectives of the survey are to confirm background and contents of the request from the Government of Indonesia and to make a cooperation plan (project design) through discussions with the Indonesian authorities concerned. The survey team will also collect and analyze necessary information for ex-ante evaluation.

The contents of the survey are as follows:

1. To confirm the contents and changed points of the request from the Government of Indonesia and the research plan of the Kobe University (hereinafter referred to as "KU") and to match them.
2. To have discussions with the Indonesian authorities concerned on the project design including Project Purpose, Implementing Structure, Project Design Matrix, Plan of Operation, Inputs and so on and to reach agreement.
3. To confirm the current situation on ethical consideration of research, system of research approval and implementation.
4. To confirm actions and schedule up to the Project's commencement.
5. To sign on the Minutes of Meetings so as to confirm the result of the discussions.

II BASIC FRAMEWORK OF THE PROJECT

1. Project Implementation Scheme (Annex I)

Both sides confirmed that the Project would be implemented under the 'Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development*' promoted by JICA and Japan Science and Technology Agency (hereinafter referred to as "JST") in collaboration.

JICA will take necessary measures for the technical cooperation such as dispatch of Japanese experts, provision of equipment and training of personnel, and other supports related to the Project in Indonesia. JST will support the Japanese research institutes for the project activities held in Japan.

Indonesian counterpart research institutes will take necessary measures for technical cooperation, such as research facilities and utilities, personnel and other supports related to the Project.

*'Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development' aims to develop new technology and its applications, and also aims at capacity development of researchers and research institutes in both countries.

2. Project Title

4

2

20

RSY AG

Both sides agreed that it was appropriate to modify the original project title indicated in the application “Emerging Infectious Diseases: Development of Vaccines and Natural Substance based Antiviral Drugs for Control and Prevention of Flavi- and Related Viruses” to “Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines”, which reflected the agreed contents of the Project.

Both sides will propose the title modification to the authorities concerned of each government and, if approved, the title will be changed officially through diplomatic procedure.

3. Term of Cooperation

The duration of the technical cooperation for the Project will be four (4) years from the date, which will be described in the Record of Discussions (hereinafter referred to as “R/D”).

4. Administration of the Project

4-1. Administration

The administration of the Project is as follows:

- (1) Project Director (who will bear overall responsibility for the administration and implementation of the Project):
Dean, Faculty of Medicine, University of Indonesia (hereinafter referred to as “FM-UI”) 21
- (2) Project Manager (who will be responsible for the managerial and technical matters of the Project):
Vice Dean, FM-UI
- (3) Project Co-manager (who will be responsible for the managerial and technical matters of the Project, in collaboration with the Project Manager):
Vice Rector, Airlangga University (hereinafter referred to as “AU”)
- (4) Indonesian counterpart institutions and personnel: as shown in Annex II.
- (5) The Japanese chief advisor will provide necessary recommendations and advice to the Project Director, the Project Manager and the Project Co-manager on any matters pertaining to the implementation of the Project.
- (6) The Japanese experts will give necessary technical guidance and advice to Indonesian counterpart personnel on technical matters pertaining to the implementation of the Project.

4-2. Joint Coordinating Committee

For the effective and successful implementation of technical cooperation for the Project, a Joint Coordinating Committee will be established whose functions and composition are described as follows:

(1) Functions

- 1) To formulate and authorize the annual activity plan of the Project
- 2) To endorse major achievements and products of the Project

- 3) To monitor and review overall progress and supervise the Project
- 4) To review and discuss on major issues arising from or concerning the Project

(2) Composition

1) Chairperson:

Dean, FM-UI

2) Members:

Vice Dean, FM-UI

Vice Rector, AU

Leaders of research groups as shown in Annex II

Representative(s) from Ministry of National Education

Japanese long-term expert(s) and representative(s) from KU

Representative(s) from Embassy of Japan

Representative(s) from JICA Indonesia Office

3) Observers:

Representatives from JST

Representative(s) from Ministry of Research and Technology (RISTEK)

Representative(s) from Indonesian Institute of Sciences (LIPI)

Representative(s) from Ministry of Health

4

4-3. Research Group

A Research Group is established to meet once in four months whose functions and composition are described as follows:

(1) Functions

- 1) To review progress and outputs of research activities
- 2) To coordinate and exchange information among the counterpart institutions
- 3) To discuss on issues including technical, ethical and safety matters, arising from or concerning the Project

(2) Composition

1) Chairpersons:

Vice Dean, FM-UI (Chair)

Vice Rector, AU (Co-chair)

Representative from Japanese researchers (Co-chair)

2) Members:

Leaders of Indonesian counterpart researchers

Sub-leaders of Indonesian counterpart researchers

Director, Institute for Tropical Disease, AU(hereinafter referred to as "ITD-AU")

Japanese experts

7

RS of G

4-4. Bi-monthly Progress Report

For effective monitoring of the research progress and timely feedback of the technical advice from the Japanese and Indonesian experts, a bi-monthly Progress Report will be submitted bi-monthly in English by each Indonesian and Japanese researcher engaged in the Project. The reports will be shared with the Project Director.

4-5. Ethical approval of the Project

All research activities of the Project involving animal and human subjects must be approved by the ethical committee of KU, UI and AU, as applicable.

4-6. Biosafety

In order to secure biosafety of research activities, Indonesian side agreed to clarify who will be responsible and will report and respond in case of emergency such as biohazard accidents, power failure and natural disasters.

5. Contents of Collaborative Research

The contents of collaborative research covered in the Project are as follows:

- (1) Identification of substances against Hepatitis C virus
- (2) Development and characterization of recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine against Hepatitis C virus
- (3) Development and characterization of DNA vaccine against Dengue virus

6. Project Design Matrix and Tentative Plan of Operation

A basic framework of the Project is as shown in a Project Design Matrix (hereinafter referred to as "PDM") in Annex III. The tentative Plan of Operation as shown in Annex IV.

7. Inputs

The inputs from each side are as follows:

7-1. Japanese side

- (1) Field Director of research (Long-term Expert)
- (2) Project Coordinator (Long-term Expert)
- (3) Chief Advisor (Short-term Expert / double as an expert for HCV related researches)
- (4) Exploration for novel substances with anti-HCV activity (Short-term Expert)
- (5) Development of HCV therapeutic/preventive vaccine (Short-term Experts)
- (6) Development of Dengue virus preventive vaccine (Short-term Experts)
- (7) Equipment: A tentative list proposed by Indonesian side is attached in Annex V. The equipment to be provided in the first year will be decided by the signing date of the R/D.
- (8) Training in Japan: Several Indonesian counterpart personnel to be trained.
- (9) Other necessary expenses for research activities.

7-2. Indonesian side

- (1) Project Director
- (2) Project Manager
- (3) Project Co-manager
- (4) Project Coordinator(s)
- (5) Researchers
 - FM-UI
 - Department of Microbiology, FM-UI (hereinafter referred to as "Micro FM-UI")
 - Institute of Human Virology and Cancer Biology, UI (hereinafter referred to as "IHVCB-UI")
 - ITD-AU
 - Faculty of Pharmacy, AU (hereinafter referred to as "FP-AU")
- (6) Office space in FM-UI and ITD-AU
- (7) Research space in FM-UI, Micro FM-UI, IHVCB-UI, ITD-AU and FP-AU
- (8) Running costs for research activities, etc.

8. Special Issues

8-1. Collaborative Research Agreement between research institutes

Both sides agreed that the research institutes in Japan and Indonesia should reach an agreement to execute the collaborative research in accordance with the Master Plan of the Project. The agreed document (e.g. Collaborative Research Agreement*) should contain the following items:

- a. Objective and Plan
- b. Implementation
- c. Confidentiality and Intellectual Property Rights
- d. Access to Genetic Resources
- e. Publication
- f. Dispute Resolution
- g. Duration of the Agreement
- h. Compliance with Laws and Regulations
- i. Other items concerning both institutes

8-2. Intellectual Property

Both sides confirmed that matters on intellectual property should follow the Collaborative Research Agreement to be signed between the research institutions.

8-3. Exclusion of Clinical Trials

Both sides agreed that clinical trials shall not be included in the Project.

Even though clinical trials are executed in relation with the activities of the Project, JICA is indemnified for any and all liabilities, losses, and expenses on claims for injury or damages arising out of or resulting from, the actions or omissions by the Indonesian and Japanese research institutes or of any of their officers, agents, employees,

4

as of 20

or subcontractors with respect to the clinical trials.

Therefore, JICA will not bear any expenses or honorarium for implementing clinical trials.

III WAY FORWARD

1. Based on the Minutes of Meetings and the draft R/D as shown in Annex VI, the Indonesian and Japanese sides will prepare for the final version of the R/D.
2. Before starting the Project, the research institutes of both sides should take necessary actions such as to apply to the relevant ethical committee, to allocate the budget and so on.
3. Based on the mutual agreement reached, the R/D will be signed by both sides around November 2009. The schedule is subject to change in accordance with approval process of the Project.

LIST OF ANNEXES

Annex I	Project Implementation Scheme
Annex II	Research Contents and Personnel in Charge
Annex III	Project Design Matrix (PDM) Version 0
Annex IV	Tentative Plan of Operation (PO) Version 0
Annex V	Tentative List of Machinery and Equipment
Annex VI	Draft Record of Discussions (R/D)

4

≠

RS AK A

Annex II: Research Contents and Personnel in Charge

Research Subject	Indonesian Side	Japanese Side
1. Identification of substances against Hepatitis C virus	<p>University of Indonesia:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr. Pratiwi Sudarmono (FM-UI) -★ Dr. Rino Gani (FM-UI) - Dr. Cynthia (FM-UI) - Dr. Rianto Setiabudy (FM-UI) - Dr. Budiman Bela (FM-UI) - Dr. Suratno Lulut (FM-UI) - Dr. Muhammad Hanafi (LIPI) - Dr. Broto Kardono (LIPI) 	<p>Kobe University</p> <ul style="list-style-type: none"> -★ Dr. Haku Hotta -Dr. Yoshitake Hayashi
	<p>Airlangga University :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr. Soetjipto (ITD-AU) - Dr. Achmad Fuad (FP-AU) - Dr. Maria Inge Lusida (ITD-AU) - Dr. Aty Widayawuyanti (FP-AU) 	<p>National Institute of Biomedical Innovation (NIBIO)</p> <ul style="list-style-type: none"> -Dr. Nobuo Kawahara
Analysis of detailed antiviral mechanism and toxicity test	<p>University of Indonesia :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr. Pratiwi Sudarmono (FM-UI) -★ Dr. Rino Gani (FM-UI) - Dr. Rianto Setiabudy (FM-UI) - Dr. Fera Ibrahim (FM-UI) - Dr. Budiman Bela (FM-UI) - Dr. Suratno Lulut (FM-UI) 	<p>Kobe University</p> <ul style="list-style-type: none"> -★ Dr. Haku Hotta -Dr. Yoshitake Hayashi
	<p>Airlangga University:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dr. Soetjipto (ITD-AU) - Dr. Achmad Fuad (FP-AU) - Dr. Maria Inge Lusida (ITD-AU) - Dr. Aty Widayawuyanti (FP-AU) 	




2. Development and characterization of recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine against Hepatitis C virus	Expression and optimization of amino acid sequences of the E2 envelope glycoprotein and NS3 protein of HCV	<u>University of Indonesia:</u> Dr. Pratiwi Sudarmono (FM-UI)*	<u>Kobe University</u> -☆ Dr. Haku Hotta -Dr. Yasuko Mori
Generation of recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine against HCV	Generation of recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine against HCV	<u>University of Indonesia:</u> Dr. Pratiwi Sudarmono (FM-UI)*	<u>Kobe University</u> -☆ Dr. Yasuko Mori -Dr. Haku Hotta -Dr. Yoshitake Hayashi
Assessment of vaccine effects of recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine against HCV using guinea pigs	Assessment of vaccine effects of recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine against HCV using guinea pigs	<u>University of Indonesia:</u> Dr. Pratiwi Sudarmono (FM-UI)*	<u>Kobe University</u> -☆ Dr. Yasuko Mori -Dr. Haku Hotta -Dr. Yoshitake Hayashi
Assessment of vaccine effects of recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine against HCV using monkeys	Assessment of vaccine effects of recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine against HCV using monkeys	<u>University of Indonesia:</u> Dr. Pratiwi Sudarmono (FM-UI)*	<u>Kobe University</u> ☆ Dr. Yasuko Mori -Dr. Haku Hotta -Dr. Yoshitake Hayashi

AF

RF
FD

2

3. Development and characterization of DNA vaccine against Dengue virus	Isolation of and determination of pre-M and E regions of the genome of Dengue virus (serotypes 1 to 4)	<u>University of Indonesia :</u> -☆ Dr. Tjahjani Mirawati Sudiro (FM-UI) - Dr. Beti Ernawati Dewi (FM-UI) - Dr. Fera Ibrahim (FM-UI) - Dr. Budiman Bela (FM-UI) - Dr. Andriansjah (FM-UI) - Dr. Andi Yasmon (FM-UI)	<u>Kobe University</u> -☆ Dr. Ejji Konishi -Dr. Masato Kawabata
Generation of DNA vaccines expressing pre-M and E regions of the genome of Dengue virus (serotypes 1 to 4)	<u>University of Indonesia :</u> -☆ Dr. Tjahjani Mirawati Sudiro (FM-UI) - Dr. Beti Ernawati Dewi (FM-UI) - Dr. Fera Ibrahim (FM-UI) - Dr. Budiman Bela (FM-UI) - Dr. Andriansjah (FM-UI) - Dr. Andi Yasmon (FM-UI)	<u>University of Indonesia :</u> -☆ Dr. Tjahjani Mirawati Sudiro (FM-UI) - Dr. Beti Ernawati Dewi (FM-UI) - Dr. Fera Ibrahim (FM-UI) - Dr. Budiman Bela (FM-UI) - Dr. Andriansjah (FM-UI) - Dr. Andi Yasmon (FM-UI)	<u>Kobe University</u> -☆ Dr. Ejji Konishi -Dr. Masato Kawabata
Assessment of vaccine effects of the DNA vaccines against Dengue virus (serotypes 1 to 4) using mice	<u>University of Indonesia :</u> -☆ Dr. Tjahjani Mirawati Sudiro (FM-UI) - Dr. Beti Ernawati Dewi (FM-UI) - Dr. Fera Ibrahim (FM-UI) - Dr. Budiman Bela (FM-UI) - Dr. Andriansjah (FM-UI) - Dr. Andi Yasmon (FM-UI)	<u>University of Indonesia :</u> -☆ Dr. Tjahjani Mirawati Sudiro (FM-UI) - Dr. Beti Ernawati Dewi (FM-UI) - Dr. Fera Ibrahim (FM-UI) - Dr. Budiman Bela (FM-UI) - Dr. Andriansjah (FM-UI) - Dr. Andi Yasmon (FM-UI)	<u>Kobe University</u> -☆ Dr. Ejji Konishi -Dr. Masato Kawabata
Assessment of vaccine effects of the DNA vaccines against Dengue virus (serotypes 1 to 4) using monkeys	<u>University of Indonesia :</u> -☆ Dr. Tjahjani Mirawati Sudiro (FM-UI) - Dr. Beti Ernawati Dewi (FM-UI) - Dr. Fera Ibrahim (FM-UI) - Dr. Budiman Bela (FM-UI) - Dr. Andriansjah (FM-UI) - Dr. Andi Yasmon (FM-UI)	<u>University of Indonesia :</u> -☆ Dr. Tjahjani Mirawati Sudiro (FM-UI) - Dr. Beti Ernawati Dewi (FM-UI) - Dr. Fera Ibrahim (FM-UI) - Dr. Budiman Bela (FM-UI) - Dr. Andriansjah (FM-UI) - Dr. Andi Yasmon (FM-UI)	<u>Kobe University</u> -☆ Dr. Ejji Konishi -Dr. Masato Kawabata

☆ : Leader

* : Responsible for the selection of candidates who will be dispatched to Japan for technical training.

Annex III: Project Design Matrix (PDM) (Version 0)
Project Title: Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines

Target Area: Republic of Indonesia
Target Group : Approximately 25 researchers
[University of Indonesia (UI)] Approximately 15 researchers; Faculty of Medicine (FM-UI) 5, Department of Microbiology (Micro FM-UI) 5, Institute of Human Virology and Cancer Bio
[Airlangga University (AU)] Approximately 10 researchers; Institute for Tropical Disease (ITD-AU) 5, Faculty of Pharmacy (FP-AU) 5

Narrative Summary	Objectively Verifiable Indicators	Means of Verification	Important Assumptions
<p>Project Purpose</p> <p>Research capacity of Indonesian research institutes, for the identification of anti-hepatitis C virus (HCV) substances and development of HCV and dengue vaccines, are enhanced through collaborative research activities with Japanese research institutes.</p>	<p>1. At least one candidate of anti-HCV substance and one each candidate for HCV and Dengue vaccines are determined for pre-clinical trial.</p> <p>2. More than 2 research papers, in which first author is an Indonesian researcher, are published for each research subject in peer-reviewed journals with its impact factor more than 1.0.</p>	<p>(1) Experts' project reports (2) Research group meeting records (3) Bi-monthly progress reports (4) Research papers published in scientific journals</p>	
<p>Outputs</p> <p>1 Novel substances with anti-HCV activity from Indonesian and Japanese medicinal plants and/or natural products are identified and further analyzed for their mechanism of action.</p>	<p>1-1. One or more novel medicinal plant extract(s) containing a compound(s) with anti-HCV activity are identified by the year of 2012.</p> <p>1-2. One or more novel substance(s) are identified and analyzed for its mechanism of action by the year of 2014.</p> <p>2-1. More than 3 HCV genomic regions are determined and their expression plasmids are generated by the year of 2012.</p> <p>2-2. A HCV therapeutic/preventive vaccine candidate with sufficient inducibility of neutralizing antibody and cellular immunity in mice and guinea pigs are prepared by the year of 2014.</p>	<p>(1) Experts' project reports (2) Research group meeting records (3) Bi-monthly progress reports</p>	<p>1. Indonesian side properly allocates necessary budget and distribute personnel for the project activities.</p>
<p>2 A candidate of HCV therapeutic/preventive vaccine is generated by applying recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine technique.</p>	<p>3-1. One or more candidates of dengue DNA vaccines that can properly express dengue viral proteins in vitro are determined for each viral serotype by the year of 2012.</p> <p>3-2. A final candidate of the dengue DNA vaccine that is able to induce sufficient levels of neutralizing antibodies in mice are determined for each viral serotype (1 to 4) by the year of 2014.</p>	<p>(1) Experts' project reports (2) Research group meeting records (3) Bi-monthly progress reports</p>	
<p>3 Candidates of Dengue virus preventive DNA vaccine, sufficiently effective for each serotype (1 to 4), are generated.</p>	<p>4-1. SOP in each research subject is made and revised.</p> <p>4-2. Research group is organized to discuss progress of the research, achievements and safety management once in four months.</p> <p>4-3. Bi-monthly progress reports are made by researchers.</p> <p>4-4. Annual plan documents for research operation are prepared collaboratively.</p>	<p>(1) Experts' project reports (2) SOP (3) Research group meeting records (4) Bi-monthly progress reports (5) Annual plan documents for research operation</p>	
<p>4 Implementation system for development research, regarding Indonesian medicinal plant/natural products-derived anti-HCV agents and vaccines against HCV and Dengue virus, is streamlined.</p>			

4

4

4

Activities	Inputs		1. Trained counterparts do not leave their position so as to affect the outputs of the Project.
	Japan	Indonesia	
<p>1 Novel substances with anti-HCV activity from Indonesian and Japanese medicinal plants and/or natural products are identified and further analyzed for their mechanism of action.</p>	<p>Experts (1) Field director of research (Long-term Expert) (2) Project Coordinator (Long-term Expert) (3) Chief Advisor (Short-term Expert / double as an expert for HCV related researches) (4) Exploration for novel substances with anti-HCV activity (Short-term Expert) (5) Development of HCV therapeutic/preventive vaccine (Short-term Experts) (6) Development of Dengue virus preventive vaccine (Short-term Expert)</p> <p>Training in Japan (1) Training for <i>in vitro</i> HCV culture system (2) Training for exploration of novel substances with anti-HCV activity (3) Training for development of HCV therapeutic/preventive vaccine (4) Training for development of Dengue virus preventive vaccine</p> <p>Equipment and Materials Necessary equipment for research activities in the Project</p> <p>Local Costs Other necessary expenses for research activities</p>	<p>Counterparts (1) Project Director (2) Project Manager (3) Project Co-manager (4) Project Coordinator(s) (5) Researchers (FM-UI, Micro FM-UI, IHVCB-UI, ITD-AU and FP-AU)</p> <p>Facilities, equipment and materials (1) Office space in FM-UI and ITD-AU (2) Research space in FM-UI (3) Research space in Micro FM-UI (4) Research space in IHVCB-UI (5) Research space in ITD-AU (6) Research space in FP-AU (7) Existing equipments for research activities, etc.</p> <p>Local Costs Running costs for research activities, etc.</p>	
<p>1-1. Set up assay system for anti-HCV activity with <i>in vitro</i> HCV culture system at UI, AU and Kobe University.</p>			
<p>1-2. Perform screening of crude extracts from medicinal plants and/or natural products for their anti-HCV activity with the assay system.</p>			
<p>1-3. Evaluate the possible cytotoxicity to the cultured cells.</p>			
<p>1-4. Analyze action mechanism of the crude extracts with anti-HCV activity.</p>			
<p>1-5. Identify the fraction with anti-HCV activity by screening of fractions obtained by column chromatography from the crude extracts.</p>			
<p>1-6. Determine molecular structure of novel compounds with anti-HCV activity by analyzing the fraction component.</p>			
<p>2 A candidate of HCV therapeutic/preventive vaccine is generated by applying recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine technique.</p>			
<p>2-1. Identify the genomic region encoding HCV envelope protein (E2 region) that is responsible for efficient induction of anti-HCV neutralizing antibodies by testing a number of different forms of E2-expressing plasmids.</p>			
<p>2-2. Identify the HCV genomic region encoding a variety of CD4 epitope (e.g., NS3) that is responsible for efficient induction of cell-mediated immunity by testing a number of different expression plasmids.</p>			
<p>2-3. Construct plasmids expressing E2+NS3 (gene encoding a variety of CD4 epitopes) fusion protein with sufficient inducibility of neutralizing antibodies against HCV.</p>			
<p>2-4. Generate candidates of HCV therapeutic/preventive vaccine by introducing the E2+NS3 fusion protein-expressing cassette to the recombinant varicella virus vaccine genome.</p>			
<p>2-5. Confirm expression of HCV E2 envelope and CD4 epitopes in cells infected with HCV therapeutic/preventive vaccine by western blotting and fluorescence antibody method.</p>			
<p>2-6. Verify inducibility of neutralizing antibodies and virus-specific cellular immunity of HCV therapeutic/preventive vaccine candidate by inoculation experiment using guinea pigs.</p>			
<p>2-7. Enhance the inducibility of immunity is enhanced, in case it is insufficient, by repeated inoculation and/or coadministration of adjuvant with the HCV therapeutic/preventive vaccine candidate.</p>			

<p>3 Candidates of Dengue virus preventive DNA vaccine, sufficiently effective for each serotype (1 to 4), are generated.</p>	<p>Determine nucleotide sequences in the envelope protein region of the dengue viruses currently prevailing and successfully isolated in Indonesia.</p> <p>3-1.</p> <p>Determine candidate nucleotide sequences encoding the dengue virus envelope protein for construction of dengue DNA vaccines based on the results obtained and previously published data retrieved from databases.</p> <p>3-2.</p> <p>Construct plasmids containing the gene for the dengue virus envelope protein of each of the 4 serotypes (1 to 4) based on the above candidate nucleotide sequence analysis.</p> <p>3-3.</p> <p>Determine dengue virus DNA vaccine candidates for each viral serotype (1 to 4) by testing for proper expression of the envelope protein in the plasmid-transfected cultured cells.</p> <p>3-4.</p> <p>Assess the ability of a mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) to induce neutralizing antibodies to each viral serotype by inoculating mixture of Dengue virus DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) in mice.</p> <p>3-5.</p> <p>Verify the possible effect of coadministration of a dengue antigen on the ability of the mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) to induce neutralizing antibodies in mice.</p> <p>3-6.</p> <p>Demonstrate protective effects of the mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) in mice challenged with dengue type 2 virus.</p> <p>3-7.</p> <p>4 Implementation system for development research, regarding Indonesian medicinal plant/natural products-derived anti-HCV agents and vaccines against HCV and Dengue virus, is streamlined.</p> <p>4-1.</p> <p>Set up Laboratory environment, such as BSL-2 laboratories for research activities at UI and AU.</p> <p>4-2.</p> <p>Prepare and revise Standard Operating Procedure (SOP) for each research subject.</p> <p>4-3.</p> <p>Convene Research Group Meetings to discuss progress of the research, achievements and safety management once in four months.</p> <p>4-4.</p> <p>Researchers submit written progress brief-reports to group leaders bi-monthly.</p> <p>4-5.</p> <p>Prepare annual plan documents for research operation.</p>
	<p>Pre-Conditions</p> <p>1. The approval is obtained by the ethical committee for the research subjects conducted in the Project.</p> <p>2. The approval is obtained by relevant authority for the research subjects conducted in the Project.</p>

4

4

12/21

Annex IV Plan of Operation (PO) (Version 0)
Project Title: Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines

Output 1:

Novel substances with anti-HCV activity from Indonesian and Japanese medicinal plants and/or natural products are identified and further analyzed for their mechanism of action.

Activities	Plan of Operation												Person in Charge		Remarks				
	2010			2011			2012			2013			2014			Japan	Indonesia		
	Feb - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Oct - Dec	Jan - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Oct - Dec	Jan - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Oct - Dec	Jan	Feb					
	2010 (J.F.Y.)												2011 (J.F.Y.)			2012 (J.F.Y.)		2013 (J.F.Y.)	
4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q			
1-1. Set up assay system for anti-HCV activity with in vitro HCV culture system at UI, AU and Kobe University.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	
1-2. Perform screening of crude extracts from medicinal plants and/or natural products for their anti-HCV activity with the assay	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	
1-3. Evaluate the possible cytotoxicity to the cultured cells.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	
1-4. Analyze action mechanism of the crude extracts with anti-HCV activity.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	
1-5. Identify the fraction with anti-HCV activity by screening of fractions obtained by column chromatography from the crude	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	
1-6. Determine molecular structure of novel compounds with anti-HCV activity by analyzing the fraction component.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	

Abbreviations:

UI: University of Indonesia, AU: Airlangga University,
 KU: Kobe University, NIBIO: National Institute of Biochemical Innovation
 J.F.Y.: Japanese Fiscal Year (starting from April 1 to March 31)

AS

AS

AS

AF

Date: September 8, 2009

Annex IV Plan of Operation (PO) (Version 0)
Project Title: Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines

Output 3:
 Candidates of Dengue virus preventive DNA vaccine, sufficiently effective for each serotype (1 to 4), are generated.

Activities	Plan of Operation												Person in Charge		Remarks		
	2010			2011			2012			2013			2014			Japan	Indonesia
	Feb - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Oct - Dec	Jan - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Oct - Dec	Jan - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Oct - Dec	Jan	Feb			
	2010 (J.F.Y.)			2011 (J.F.Y.)			2012 (J.F.Y.)			2013 (J.F.Y.)			2014				
3-1. Determine nucleotide sequences in the envelope protein region of the dengue viruses currently prevailing and successfully isolated in Indonesia.	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q				
3-2. Determine candidate nucleotide sequences encoding the dengue virus envelope protein for construction of dengue DNA vaccines based on the results obtained and previously published data retrieved from databases.																UI	
3-3. Construct plasmids containing the gene for the dengue virus envelope protein of each of the 4 serotypes (1 to 4) based on the above candidate nucleotide sequence analysis.																	UI
3-4. Determine dengue virus DNA vaccine candidates for each viral serotype (1 to 4) by testing for proper expression of the envelope protein in the plasmid-transfected cultured cells.																	UI
3-5. Assess the ability of a mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) to induce neutralizing antibodies to each viral serotype by inoculating mixture of Dengue virus DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) in mice.																	UI
3-6. Verify the possible effect of coadministration of a dengue antigen on the ability of the mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) to induce neutralizing antibodies in mice.																	UI
3-7. Demonstrate protective effects of the mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) in mice challenged with dengue type 2 virus.																	UI

Abbreviations:
 UI: University of Indonesia, AU: Airlangga University,
 KU: Kobe University, NIBIO: National Institute of Biochemical Innovation
 J.F.Y.: Japanese Fiscal Year (Starting from April 1 to March 31)

2

AF
 RB
 20

Handwritten mark

Annex IV Plan of Operation (PO) (Version 0)

Date: September 8, 2009

Project Title: Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines

Output 4:

Implementation system for development research, regarding Indonesian medicinal plant/natural products-derived anti-HCV agents and vaccines against HCV and Dengue virus, is streamlined.

Activities	Plan of Operation												Person in		Remarks				
	2010				2011				2012				2013			2014		Japan	Indonesi a
	2009 (J.F.Y.)		2010 (J.F.Y.)		2011 (J.F.Y.)		2012 (J.F.Y.)		2013 (J.F.Y.)		2014		Jan						
	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q		4Q					
4-1. Set up Laboratory environment, such as BSL-2 laboratories for research activities at UI and AU.																	UI AU		
4-2. Prepare and revise Standard Operating Procedure (SOP) for each research subject.																	UI AU		
4-3. Convene Research Group Meetings to discuss progress of the research, achievements and safety management once in four months.																	UI AU		
4-4. Researchers submit written progress brief-reports to group leaders bi-monthly.																	UI AU		
4-5. Prepare annual plan documents for research operation.																	UI AU		

Abbreviations:

UI: University of Indonesia, AU: Airbagga University,
 KU: Koba University, NIBIO: National Institute of Biochemical Innovation
 J.F.Y.: Japanese Fiscal Year (starting from April 1 to March 31.)

Handwritten initials and marks

Handwritten mark

Annex VI Draft Record of Discussions (R/D)

(Draft)

RECORD OF DISCUSSIONS
BETWEEN JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY AND
AUTHORITIES CONCERNED OF THE GOVERNMENT OF
THE REPUBLIC OF INDONESIA
ON JAPANESE TECHNICAL COOPERATION
FOR THE PROJECT FOR
IDENTIFICATION OF ANTI-HEPATITIS C VIRUS (HCV) SUBSTANCES AND
DEVELOPMENT OF HCV AND DENGUE VACCINES

In response to the proposal of the Government of Indonesia, the Government of Japan has decided to cooperate on the Project for "Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines" (hereinafter referred to as "the Project") and the Embassy of Japan's Note No. xx/xx dated xx xx, 200x and the Ministry of Foreign Affairs Note No. xx/xx dated xx xx, 200x.

Accordingly, Japan International Cooperation Agency (hereinafter referred to as "JICA"), the implementation agency responsible for the implementation of the technical cooperation program of the Government of Japan, will cooperate with the authorities concerned of the Government of Indonesia for the Project.

JICA and the Indonesian authorities concerned had a series of discussions on the framework of the project. As a result of discussions, JICA and Indonesian authorities concerned agreed on the matters referred to in the document attached hereto.

Jakarta, <date, month, year>

Takashi Sakamoto
Resident Representative
Indonesia Office
Japan International Cooperation Agency
Japan

Dr. Ratna Sitompul Ph.D.
Dean
Faculty of Medicine
University of Indonesia
Republic of Indonesia

Prof. Dr. Soetjipto MS., Ph.D.
Vice Rector
Airlangga University
Republic of Indonesia

Witnessed by

Prof. Haku Hotta, M.D., Ph.D.
Director, Center for Infectious Diseases
Kobe University Graduate School of Medicine
Japan

Prof. Dr. Fasli Jalal, Ph.D.
Director General of Higher Education
Ministry of National Education
Republic of Indonesia

4

RS AP Q

Annex VI Draft Record of Discussions (R/D)
THE ATTACHED DOCUMENT

I. COOPERATION BETWEEN BOTH COUNTRIES

1. The Government of the Republic of Indonesia will implement the Project in cooperation with JICA.
2. The Project will be implemented in accordance with the Master Plan which is given in Annex I.

II. MEASURES TO BE TAKEN BY JICA

In accordance with the laws and regulations in force in Japan, JICA, as the executing agency for technical cooperation by the Government of Japan, will take, at its own expense, the following measures according to the normal procedures of its technical cooperation scheme.

1. DISPATCH OF JAPANESE EXPERTS

JICA will provide the services of the Japanese experts as listed in Annex II.

2. PROVISION OF MACHINERY AND EQUIPMENT

JICA will provide such machinery, equipment and other materials (hereinafter referred to as "the Equipment") necessary for the implementation of the Project as listed in Annex III.

3. TRAINING OF INDONESIAN PERSONNEL IN JAPAN

JICA will receive the Indonesian personnel connected with the Project for technical training in Japan.

III. MEASURES TO BE TAKEN BY THE GOVERNMENT OF THE REPUBLIC OF INDONESIA

1. The Government of the Republic of Indonesia will take necessary measures to ensure that the self-reliant operation of the Project will be sustained during and after the period of Japanese technical cooperation, through full and active involvement in the Project by all related authorities, beneficiary groups and institutions.
2. The Government of the Republic of Indonesia will ensure that the technologies and knowledge acquired by the Indonesian nationals as a result of the Japanese technical cooperation will contribute to the economic and social development of the Republic of Indonesia.

4

RSY PA G

Annex VI Draft Record of Discussions (R/D)

3. The Government of the Republic of Indonesia will grant in the Republic of Indonesia privileges, exemptions and benefits to the Japanese experts referred to in II-1 above and their families which are no less favorable than those accorded to experts of third countries working in the Republic of Indonesia under the Colombo Plan Technical Cooperation Scheme.
4. The Government of the Republic of Indonesia will take the measures necessary to receive and use the Equipment provided by JICA under II-2 above and equipment, machinery and materials carried in by the Japanese experts referred to in II-1 above.
5. The Government of the Republic of Indonesia will take necessary measures to ensure that the knowledge and experience acquired by the Indonesian personnel from technical training in Japan will be utilized effectively in the implementation of the Project.
6. The Government of the Republic of Indonesia will provide the services of Indonesian counterpart personnel and administrative personnel as listed in Annex IV. M
7. The Government of the Republic of Indonesia will provide the buildings and facilities as listed in Annex V.
8. In accordance with the laws and regulations in force in the Republic of Indonesia, the Government of the Republic of Indonesia will take necessary measures to supply or replace at its own expense machinery, equipment, instruments, vehicles, tools, spare parts and any other materials necessary for the implementation of the Project other than the Equipment provided by JICA under II-2 above.
9. In accordance with the laws and regulations in force in the Republic of Indonesia, the Government of the Republic of Indonesia will take necessary measures to meet the running expenses necessary for the implementation of the Project.

IV. ADMINISTRATION OF THE PROJECT

1. Dean, Faculty of Medicine, University of Indonesia (hereinafter referred to as "FM-UI"), as the Project Director, will bear overall responsibility for the administration and implementation of the Project.
2. Vice Dean, FM-UI, as the Project Manager, will be responsible for the managerial and technical matters of the Project.

Annex VI Draft Record of Discussions (R/D)

3. Vice Rector, Airlangga University (hereinafter referred to as "AU"), as the Project Co-manager, will be responsible for the managerial and technical matters of the Project, in collaboration with the Project Manager.
4. The Japanese Chief Advisor will provide necessary recommendations and advice to the Project Director, the Project Manager and the Project Co-manager on any matters pertaining to the implementation of the Project.
5. The Japanese experts will give necessary technical guidance and advice to Indonesian counterpart personnel on technical matters pertaining to the implementation of the Project.
6. For the effective and successful implementation of technical cooperation for the Project, a Joint Coordinating Committee will be established whose functions and composition are described in Annex VI.

V. JOINT EVALUATION

Evaluation of the Project will be conducted jointly by JICA and the Indonesian authorities concerned, at the middle and during the last six months of the cooperation term in order to examine the level of achievement.

VI. CLAIMS AGAINST JAPANESE EXPERTS

The Government of the Republic of Indonesia undertakes to bear claims, if any arises, against the Japanese experts engaged in technical cooperation for the Project resulting from, occurring in the course of, or otherwise connected with the discharge of their official functions in the Republic of Indonesia except for those arising from the willful misconduct or gross negligence of the Japanese experts.

VII. MUTUAL CONSULTATION

There will be mutual consultation between JICA and the Government of the Republic of Indonesia on any major issues arising from, or in connection with this Attached Document.

VIII. MEASURES TO PROMOTE UNDERSTANDING OF AND SUPPORT FOR THE PROJECT

4

4

RSY AH Q

Annex VI Draft Record of Discussions (R/D)

For the purpose of promoting support for the Project among the people of the Republic of Indonesia, the Government of the Republic of Indonesia will take appropriate measures to make the Project widely known to the people of the Republic of Indonesia.

IX. TERM OF COOPERATION

The duration of the technical cooperation for the Project under this Attached Document will be four years from <date, February, 2010>.

ANNEX I	MASTER PLAN
ANNEX II	LIST OF JAPANESE EXPERTS
ANNEX III	LIST OF MACHINERY AND EQUIPMENT
ANNEX IV	LIST OF INDONESIAN COUNTERPART AND ADMINISTRATIVE PERSONNEL
ANNEX V	LIST OF BUILDINGS AND FACILITIES
ANNEX VI	JOINT COORDINATING COMMITTEE

4

RS PA R

Project Purpose

Research capacity of Indonesian research institutes, for the identification of anti-hepatitis C virus (HCV) substances and development of HCV and dengue vaccines, are enhanced through collaborative research activities with Japanese research institutes.

Outputs

1. Novel substances with anti-HCV activity from Indonesian and Japanese medicinal plants and/or natural products are identified and further analyzed for their mechanism of action.
2. A candidate of HCV therapeutic/preventive vaccine is generated by applying recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine technique.
3. Candidates of Dengue virus preventive DNA vaccine, sufficiently effective for each serotype (1 to 4), are generated.
4. Implementation system for development research, regarding Indonesian medicinal plant/natural products-derived anti-HCV agents and vaccines against HCV and Dengue virus, is streamlined.

4

Activities

- 1-1. Set up assay system for anti-HCV activity with in vitro HCV culture system at UI, AU and Kobe University.
- 1-2. Perform screening of crude extracts from medicinal plants and/or natural products for their anti-HCV activity with the assay system.
- 1-3. Evaluate the possible cytotoxicity to the cultured cells.
- 1-4. Analyze action mechanism of the crude extracts with anti-HCV activity.
- 1-5. Identify the fraction with anti-HCV activity by screening of fractions obtained by column chromatography from the crude extracts.
- 1-6. Determine molecular structure of novel compounds with anti-HCV activity by analyzing the fraction component.

- 2-1. Identify the genomic region encoding HCV envelope protein (E2 region) that is responsible for efficient induction of anti-HCV neutralizing antibodies by testing a number of different forms of E2-expressing plasmids.
- 2-2. Identify the HCV genomic region encoding a variety of CD4 epitope (e.g., NS3) that is responsible for efficient induction of cell-mediated immunity by testing a number of different expression plasmids.
- 2-3. Construct plasmids expressing E2+NS3 (gene encoding a variety of CD4 epitopes) fusion protein with sufficient inducibility of neutralizing antibodies against HCV.
- 2-4. Generate candidates of HCV therapeutic/preventive vaccine by introducing the E2+NS3 fusion protein-expressing cassette to the recombinant varicella-zoster virus vaccine genome.

4

ser of G

Annex VI Draft Record of Discussions (R/D)

- 2-5. Confirm expression of HCV E2 envelope and CD4 epitopes in cells infected with HCV therapeutic/preventive vaccine by western blotting and fluorescence antibody method.
- 2-6. Verify inducibility of neutralizing antibodies and virus-specific cellular immunity of HCV therapeutic/preventive vaccine candidate by inoculation experiment using guinea pigs.
- 2-7. Enhance the inducibility of immunity is enhanced, in case it is insufficient, by repeated inoculation and/or coadministration of adjuvant with the HCV therapeutic/preventive vaccine candidate.

- 3-1. Determine nucleotide sequences in the envelope protein region of the dengue viruses currently prevailing and successfully isolated in Indonesia.
- 3-2. Determine candidate nucleotide sequences encoding the dengue virus envelope protein for construction of dengue DNA vaccines based on the results obtained and previously published data retrieved from databases.
- 3-3. Construct plasmids containing the gene for the dengue virus envelope protein of each of the 4 serotypes (1 to 4) based on the above candidate nucleotide sequence analysis.
- 3-4. Determine dengue virus DNA vaccine candidates for each viral serotype (types 1 to 4) by testing for proper expression of the envelope protein in the plasmid-transfected cultured cells.
- 3-5. Assess the ability of a mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) to induce neutralizing antibodies to each viral serotype by inoculating mixture of Dengue virus DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) in mice.
- 3-6. Verify the possible effect of coadministration of a dengue antigen on the ability of the mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) to induce neutralizing antibodies in mice.
- 3-7. Demonstrate protective effects of the mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) in mice challenged with dengue type 2 virus.

- 4-1. Set up Laboratory environment, such as BSL-2 laboratories for research activities at UI and AU.
- 4-2. Prepare and revise Standard Operating Procedure (SOP) for each research subject.
- 4-3. Convene Research Group Meetings to discuss progress of the research, achievements and safety management once in four months.
- 4-4. Researchers submit written progress brief-reports to group leaders bi-monthly.
- 4-5. Prepare annual plan documents for research operation.

Annex VI Draft Record of Discussions (R/D)

ANNEX II LIST OF JAPANESE EXPERTS

1. Long-term experts

(1) Field Director of research

(2) Project Coordinator

2. Short-term experts

(1) Chief Advisor (double as an expert for HCV related researches)

(2) Exploration for novel substances with anti-HCV activity

(3) Development of HCV therapeutic/preventive vaccine

(4) Development of Dengue virus preventive vaccine

4

§

RG
A C

Annex VI Draft Record of Discussions (R/D)

ANNEX III LIST OF MACHINERY AND EQUIPMENT

4

4

RCV
d
e

Annex VI Draft Record of Discussions (R/D)

ANNEX IV LIST OF INDONESIAN COUNTERPARTS AND ADMINISTRATIVE PERSONNEL

1. Project Director:
Dean, FM-UI
2. Project Manager:
Vice Dean, FM-UI
3. Project Co-manager :
Vice Rector, AU
4. Project Coordinator(s)
5. Researchers
 - FM-UI
 - Department of Microbiology, FM-UI (hereinafter referred to as "Micro FM-UI")
 - Institute of Human Virology and Cancer Biology, UI (hereinafter referred to as "IHVCB-UI")
 - Institute for Tropical Disease, AU (hereinafter referred to as "ITD-AU")
 - Faculty of Pharmacy, AU (hereinafter referred to as "FP-AU")
6. Research Assistants and laboratory technicians
7. Secretaries
8. Other staffs necessary for the Project activities

21

4

RGV 

Annex VI Draft Record of Discussions (R/D)

ANNEX V LIST OF BUILDINGS AND FACILITIES

1. Office space in FM-UI and ITD-AU
2. Research space in FM-UI, Micro FM-UI, IHVCB-UI, ITD-AU and FP-AU

4

4

as of 20

ANNEX VI JOINT COORDINATING COMMITTEE

1. Functions

- (1) To formulate and authorize the annual activity plan of the Project
- (2) To endorse major achievements and products of the Project
- (3) To monitor and review overall progress and supervise the Project
- (4) To review and discuss on major issues arising from or concerning the Project

2. Composition

(1) Chairperson:

Dean, FM-UI

(2) Members:

Vice Dean, FM-UI

Vice Rector, AU

Leaders of research groups

Representative(s) from Ministry of National Education

Japanese long-term expert(s) and representative(s) from Kobe University

Representative(s) from Embassy of Japan

Representative(s) from JICA Indonesia Office

(3) Observers:

Representative(s) from Japan Science and Technology Agency (JST)

Representative(s) from Ministry of Research and Technology (RISTEK)

Representative(s) from Indonesian Institute of Sciences (LIPI)

Representative(s) from Ministry of Health

4

4

Be
A
Q

Date: September 8, 2009
 Project Duration: 4 years after signing of the Record of Discussion

Annex II : Project Design Matrix (PDM) (Version 0)
 Project Title: Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines

Target Area: Republic of Indonesia
 Target Group : Approximately 25 researchers
 [University of Indonesia (UI)] Approximately 15 researchers; Faculty of Medicine (FM-UI) 5, Department of Microbiology (Micro FM-UI) 5, Institute of Human Virology and Cancer Biology (IHVCB-UI) 5
 [Airlangga University (AU)] Approximately 10 researchers; Institute for Tropical Disease (ITD-AU) 5, Faculty of Pharmacy (FP-AU) 5

Narrative Summary Project Purpose	Objectively Verifiable Indicators	Means of Verification	Important Assumptions
<p>Research capacity of Indonesian research institutes, for the identification of anti-hepatitis C virus (HCV) substances and development of HCV and dengue vaccines, are enhanced through collaborative research activities with Japanese research institutes.</p>	<p>1. At least one candidate of anti-HCV substance and one each candidate for HCV and Dengue vaccines are determined for pre-clinical trial. 2. More than 2 research papers, in which first author is an Indonesian researcher, are published for each research subject in peer-reviewed journals with its impact factor more than 1.0.</p>	<p>(1) Experts' project reports (2) Research group meeting records (3) Bi-monthly progress reports (4) Research papers published in scientific journals</p>	
<p>Outputs 1 Novel substances with anti-HCV activity from Indonesian and Japanese medicinal plants and/or natural products are identified and further analyzed for their mechanism of action.</p>	<p>1-1. One or more novel medicinal plant extract(s) containing a compound(s) with anti-HCV activity are identified by the year of 2012. 1-2. One or more novel substance(s) are identified and analyzed for its mechanism of action by the year of 2014. 2-1. More than 3 HCV genomic regions are determined and their expression plasmids are generated by the year of 2012. 2-2. A HCV therapeutic/preventive vaccine candidate with sufficient inducibility of neutralizing antibody and cellular immunity in mice and guinea pigs are prepared by the year of 2014.</p>	<p>(1) Experts' project reports (2) Research group meeting records (3) Bi-monthly progress reports</p>	<p>1. Indonesian side properly allocates necessary budget and distribute personnel for the project activities.</p>
<p>2 A candidate of HCV therapeutic/preventive vaccine is generated by applying recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine technique.</p>	<p>3-1. One or more candidates of dengue DNA vaccines that can properly express dengue viral proteins in vitro are determined for each viral serotype by the year of 2012. 3-2. A final candidate of the dengue DNA vaccine that is able to induce sufficient levels of neutralizing antibodies in mice are determined for each viral serotype (1 to 4) by the year of 2014.</p>	<p>(1) Experts' project reports (2) Research group meeting records (3) Bi-monthly progress reports</p>	
<p>3 Candidates of dengue DNA vaccine, sufficiently effective for each serotype (1 to 4), are generated.</p>	<p>4-1.SOP in each research subject is made and revised. 4-2.Research group is organized to discuss progress of the research, achievements and safety management once in four months. 4-3.Bi-monthly progress reports are made by researchers. 4-4.Annual plan documents for research operation are prepared collaboratively.</p>	<p>(1) Experts' project reports (2) SOP (3) Research group meeting records (4) Bi-monthly progress reports (5) Annual plan documents for research operation</p>	
<p>4 Implementation system for development research, regarding Indonesian medicinal plant/natural products-derived anti-HCV agents and vaccines against HCV and dengue virus, is streamlined.</p>			

Activities	Inputs		I. Trained counterparts do not leave their position so as to affect the outputs of the Project.
	Japan	Indonesia	
1 Novel substances with anti-HCV activity from Indonesian and Japanese medicinal plants and/or natural products are identified and further analyzed for their mechanism of action.	<p>Experts</p> <p>(1) Field director of research (Long-term Expert)</p> <p>(2) Project Coordinator (Long-term Expert)</p> <p>(3) Chief Advisor (Short-term Expert / double as an expert for HCV related researches)</p> <p>(4) Exploration for novel substances with anti-HCV activity (Short-term Expert)</p> <p>(5) Development of HCV therapeutic/preventive vaccine (Short-term Experts)</p> <p>(6) Development of dengue DNA vaccine (Short-term Expert)</p> <p>Training in Japan</p> <p>(1) Training for <i>in vitro</i> HCV culture system</p> <p>(2) Training for exploration of novel substances with anti-HCV activity</p> <p>(3) Training for development of HCV therapeutic/preventive vaccine</p> <p>(4) Training for development of Dengue virus preventive vaccine</p> <p>Equipment and Materials</p> <p>Necessary equipment for research activities in the Project</p> <p>Local Costs</p> <p>Other necessary expenses for research activities</p>	<p>Counterparts</p> <p>(1) Project Director</p> <p>(2) Project Manager</p> <p>(3) Project Co-manager</p> <p>(4) Project Coordinator(s)</p> <p>(5) Researchers (FM-UI, Micro FM-UI, IHVCB-UI, ITD-AU and FP-AU)</p> <p>Facilities, equipment and materials</p> <p>(1) Office space in FM-UI and ITD-AU</p> <p>(2) Research space in FM-UI</p> <p>(3) Research space in Micro FM-UI</p> <p>(4) Research space in IHVCB-UI</p> <p>(5) Research space in ITD-AU</p> <p>(6) Research space in FP-AU</p> <p>(7) Existing equipments for research activities, etc.</p> <p>Local Costs</p> <p>Running costs for research activities, etc.</p>	
1-1. Set up assay system for anti-HCV activity with <i>in vitro</i> HCV culture system at UI, AU and Kobe University.			
1-2. Perform screening of crude extracts from medicinal plants and/or natural products for their anti-HCV activity with the assay system.			
1-3. Evaluate the possible cytotoxicity to the cultured cells			
1-4. Analyze action mechanism of the crude extracts with anti-HCV activity.			
1-5. Identify the fraction with anti-HCV activity by screening of fractions obtained by column chromatography from the crude extracts.			
1-6. Determine molecular structure of novel compounds with anti-HCV activity by analyzing the fraction component.			
2 A candidate of HCV therapeutic/preventive vaccine is generated by applying recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine technique.			
2-1. Identify the genomic region encoding HCV envelope protein (E2 region) that is responsible for efficient induction of anti-HCV neutralizing antibodies by testing a number of different forms of E2-expressing <i>naemide</i> .			
2-2. Identify the HCV genomic region encoding a variety of CD4 epitope (e.g., NS3) that is responsible for efficient induction of cell-mediated immunity by testing a number of different expression plasmids.			
2-3. Construct plasmids expressing E2+NS3 (gene encoding a variety of CD4 epitopes) fusion protein with sufficient inducibility of neutralizing antibodies against HCV.			
2-4. Generate candidates of HCV therapeutic/preventive vaccine by introducing the E2+NS3 fusion protein-expressing cassette to the recombinant varicella virus vaccine genome.			
2-5. Confirm expression of HCV E2 envelope and CD4 epitopes in cells infected with HCV therapeutic/preventive vaccine by western blotting and fluorescence antibody method.			
2-6. Verify inducibility of neutralizing antibodies and virus-specific cellular immunity of HCV therapeutic/preventive vaccine candidate by inoculation experiment using guinea pigs.			
2-7. Enhance the inducibility of immunity, in case it is insufficient, by repeated inoculation and/or coadministration of adjuvant with the HCV therapeutic/preventive vaccine candidate.			

<p>3 Candidates of dengue DNA vaccine, sufficiently effective for each serotype (1 to 4), are generated.</p>	<p>Determine nucleotide sequences in the envelope protein region of the dengue viruses currently prevailing and successfully isolated in Indonesia.</p> <p>3-1.</p> <p>Determine candidate nucleotide sequences encoding the dengue virus envelope protein for construction of dengue DNA vaccines based on the results obtained and previously published data retrieved from databases.</p> <p>3-2.</p> <p>Construct plasmids containing the gene for the dengue virus envelope protein of each of the 4 serotypes (1 to 4) based on the above candidate nucleotide sequence analysis.</p> <p>3-3.</p> <p>Determine dengue DNA vaccine candidates for each viral serotype (1 to 4) by testing for proper expression of the envelope protein in the plasmid-transfected cultured cells.</p> <p>3-4.</p> <p>Assess the ability of a mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) to induce neutralizing antibodies to each viral serotype by inoculating mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) in mice.</p> <p>3-5.</p> <p>Verify the possible effect of coadministration of a dengue antigen on the ability of the mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) to induce neutralizing antibodies in mice.</p> <p>3-6.</p> <p>Demonstrate protective effects of the mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) in mice challenged with dengue type 2 virus.</p> <p>3-7.</p>	<p>4 Implementation system for development research, regarding Indonesian medicinal plant/natural products-derived anti-HCV agents and vaccines against HCV and dengue virus, is streamlined.</p> <p>4-1. Set up Laboratory environment, such as BSL-2 laboratories for research activities at UI and AU.</p> <p>4-2. Prepare and revise Standard Operating Procedure (SOP) for each research subject.</p> <p>4-3. Convene Research Group Meetings to discuss progress of the research, achievements and safety management once in four months.</p> <p>4-4. Researchers submit written progress brief-reports to group leaders bi-monthly.</p> <p>4-5. Prepare annual plan documents for research operation.</p>
	<p style="text-align: center;">Pre-Conditions</p> <p>1. The approval is obtained by the ethical committee for the research subjects conducted in the Project.</p> <p>2. The approval is obtained by relevant authority for the research subjects conducted in the Project.</p>	

Annex III Plan of Operation (PO) (Version 0)

Project Title: Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines

Output I:

Novel substances with anti-HCV activity from Indonesian and Japanese medicinal plants and/or natural products are identified and further analyzed for their mechanism of action.

Activities	Plan of Operation												Person in Charge		Remarks				
	2010				2011				2012				2013			2014		Japan	Indonesia
	Feb - Mar		Apr - Jun		Jul - Sep		Oct - Dec		Jan - Mar		Apr - Jun		Jul - Sep			Oct - Dec			
	2010 (J.F.Y.)				2011 (J.F.Y.)				2012 (J.F.Y.)				2013 (J.F.Y.)						
4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q			
1-1. Set up assay system for anti-HCV activity with in vitro HCV culture system at UI, AU and Kobe University.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	
1-2. Perform screening of crude extracts from medicinal plants and/or natural products for their anti-HCV activity with the assay system.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	
1-3. Evaluate the possible cytotoxicity to the cultured cells.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	
1-4. Analyze action mechanism of the crude extracts with anti-HCV activity.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	
1-5. Identify the fraction with anti-HCV activity by screening of fractions obtained by column chromatography from the crude extracts.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	
1-6. Determine molecular structure of novel compounds with anti-HCV activity by analyzing the fraction component.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	UI AU	

Abbreviations:

UI: University of Indonesia, AU: Airlangga University,
 KU: Kobe University, NIBIO: National Institute of Biochemical Innovation
 J.F.Y.: Japanese Fiscal Year (starting from April 1 to March 31)

Annex III Plan of Operation (PO) (Version 0)

Project Title: Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines

Date: September 8, 2009

Output 2:

A candidate of HCV therapeutic/preventive vaccine is generated by applying recombinant varicella-zoster attenuated live vaccine technique.

Activities	Plan of Operation												Person in Charge						
	2010			2011			2012			2013			2014		Japanese	Indonesi a	Remarks		
	Feb - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Oct - Dec	Jan - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Oct - Dec	Jan - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Oct - Dec	Jan	Feb					
	2010 (J.F.Y.)			2011 (J.F.Y.)			2012 (J.F.Y.)			2013 (J.F.Y.)			2014						
4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q					
2-1. Identify the genomic region encoding HCV envelope protein (E2 region) that is responsible for efficient induction of anti-HCV neutralizing antibodies by testing a number of different forms of E2-expressing plasmids.																			
2-2. Identify the HCV genomic region encoding a variety of CD4 epitope (e.g., NS3) that is responsible for efficient induction of cell-mediated immunity by testing a number of different expression plasmids.																			
2-3. Construct plasmids expressing E2+NS3 (gene encoding a variety of CD4 epitopes) fusion protein with sufficient inducibility of neutralizing antibodies against HCV.																			
2-4. Generate candidates of HCV therapeutic/preventive vaccine by introducing the E2+NS3 fusion protein-expressing cassette to the recombinant varicella virus vaccine genome.																			
2-5. Confirm expression of HCV E2 envelope and CD4 epitopes in cells infected with HCV therapeutic/preventive vaccine by western blotting and fluorescence antibody method.																			
2-6. Verify inducibility of neutralizing antibodies and virus-specific cellular immunity of HCV therapeutic/preventive vaccine candidate by inoculation experiment using guinea pigs.																			
2-7. Enhance the inducibility of immunity, in case it is insufficient, by repeated inoculation and/or coadministration of adjuvant with the HCV therapeutic/preventive vaccine candidate.																			

Abbreviations:

UI: University of Indonesia, AU: Airlangga University,
 KU: Kobe University, NIBIO: National Institute of Biochemical Innovation
 J.F.Y.: Japanese Fiscal Year (starting from April 1 to March 31.)

Annex III Plan of Operation (PO) (Version 0)

Project Title: Identification of Anti-Hepatitis C Virus (HCV) Substances and Development of HCV and Dengue Vaccines

Date: September 8, 2009

Output 3:

Candidates of dengue DNA vaccine, sufficiently effective for each serotype (1 to 4), are generated.

Activities	Plan of Operation												Person in Charge		Remarks		
	2010			2011			2012			2013			Japan	Indonesia			
	Feb - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Feb - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Feb - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep	Feb - Mar	Apr - Jun	Jul - Sep					
	2010 (J.F.Y.)			2011 (J.F.Y.)			2012 (J.F.Y.)			2013 (J.F.Y.)							
4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q	1Q	2Q	3Q	4Q					
3-1. Determine nucleotide sequences in the envelope protein region of the dengue viruses currently prevailing and successfully isolated in Indonesia.																	
3-2. Determine candidate nucleotide sequences encoding the dengue virus envelope protein for construction of dengue DNA vaccines based on the results obtained and previously published data retrieved from databases.																	
3-3. Construct plasmids containing the gene for the dengue virus envelope protein of each of the 4 serotypes (1 to 4) based on the above candidate nucleotide sequence analysis.																	
3-4. Determine dengue DNA vaccine candidates for each viral serotype (1 to 4) by testing for proper expression of the envelope protein in the plasmid-transfected cultured cells.																	
3-5. Assess the ability of a mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) to induce neutralizing antibodies to each viral serotype by inoculating mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) in mice.																	
3-6. Verify the possible effect of coadministration of a dengue antigen on the ability of the mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) to induce neutralizing antibodies in mice.																	
3-7. Demonstrate protective effects of the mixture of dengue DNA vaccine candidates (serotypes 1 to 4) in mice challenged with dengue type 2 virus.																	

Abbreviations:

UI: University of Indonesia, AU: Airlangga University, KU: Kobe University, NIBIO: National Institute of Biochemical Innovation, J.F.Y.: Japanese Fiscal Year (starting from April 1 to March 31).

