

한탄바이러스 76-118을 이용한 치사 동물모델 확립

송영조^{*,1)} · 유치호¹⁾ · 구세훈²⁾ · 허경행¹⁾ · 정성태¹⁾

¹⁾ 국방과학연구소 제4기술연구본부

²⁾ 국방과학연구소 국방첨단기술연구원

Establishment of a Lethal Animal Model of Hantaan Virus 76-118 Infection

Young Jo Song^{*,1)} · Chi Ho Yu¹⁾ · Se Hun Gu²⁾ · Gyeong Haeng Hur¹⁾ · Seong Tae Jeong¹⁾

¹⁾ The 4th Research and Development Institute, Agency for Defense Development, Korea

²⁾ Convergence Technology Collaboration Directorate, Agency for Defense Development, Korea

(Received 26 August 2020 / Revised 24 March 2021 / Accepted 21 May 2021)

Abstract

Hantaan virus(HTNV) causes hemorrhagic fever with renal syndrome(HFRS) with a case fatality rate ranging from <1 to 15 % in human. Hantavax[®] is a vaccine against the Hantavirus, which has been conditionally approved by the Ministry of Food and Drug Safety(MFDS). However, only 50 % of volunteers had neutralizing antibodies 1 year following the boost. Effective antiviral treatments against HTNV infection are limited. Hantaviruses generally cause asymptomatic infection in adult mice. On the other hand, infection of suckling and newborn mice with hantaviruses causes lethal neurological disease or persistent infection, which is different from the disease in humans. The development of vaccines and antiviral strategies for HTNV has been partly hampered by the lack of an efficient lethal mouse model to evaluate the efficacy of the candidate vaccines or antivirals. In this report, we established a lethal mouse model for HTNV, which may facilitate *in vivo* studies on the evaluation of candidate drugs against HTNV. The median lethal dose value of HTNV was calculated by probit analysis of deaths occurring within two weeks. Five groups of ten ICR mice were injected intracranially with serial 2-fold dilutions (from 50 to 3.125 PFU/head) of HTNV. Mice injected with HTNV began to die at 8 days post-infection. The lethal dose required to kill 50 % of the mice (LD₅₀) was calculated to be 2.365 PFU/head.

Key Words : Hantaan Virus(한탄바이러스), Lethal Animal Model(치사 동물모델), LD₅₀(반수치사량), Mouse(생쥐)

1. 서론

* Corresponding author, E-mail: youngjosong@add.re.kr

Copyright © The Korea Institute of Military Science and Technology

한탄바이러스(Hantaan virus; HTNV)는 Hantaviridae과

(family Hantaviridae)의 한타바이러스속(genus Orthohantavirus)에 속하는 설치류 매개 바이러스로 알려져 있으며, 한타바이러스 속의 바이러스들은 각각의 종마다 고유한 야생 설치류를 자연계의 숙주로 삼고 있다^[1-2]. 우리나라 한타바이러스 감염의 대부분을 차지하고 있는 HTNV는 들쥐의 72~90 %를 차지하는 등줄쥐(*Apodemus agrarius*)에 의해 주로 전파된다. HTNV는 1976년 이호왕 박사에 의해 처음으로 신증후군출혈열의 원인 병원체로 밝혀졌으며, 이후 현재까지 국내에서 총 6종의 새로운 한타바이러스-한탄(1976), 서울(1982), 수청(2006), 무주(2007), 임진(2009), 제주(2012)-를 발견하였다^[3-6].

한타바이러스는 형태적으로 직경 100~120 nm의 구형이다. 중심부에는 3개의 RNA 유전자와 이를 둘러싼 단백질로 구성된 리보핵산 단백질(ribonucleoprotein, RNP) 구조가 있고, 이 RNP 구조를 5 nm의 지질이중층과 당단백질인 G1, G2가 둘러싸고 있다. 한타바이러스의 유전자는 단일가닥 (-) RNA로 RNA 의존 RNA 중합효소(RNA dependent RNA polymerase, RdRp)를 암호화하는 Large(L/평균 size: 6.5 kb), 당단백질(Glycoprotein Gn and Gc)을 암호화하는 Medium(M/평균 size: 3.6 kb), 뉴클레오캡시드 단백질(nucleocapsid protein)을 암호화하는 Small(S/평균 size: 1.6 kb)의 3개 분절로 구성되어 있다.

부유된 HTNV는 사람에게 호흡기를 통해 감염되는 특징이 있고, 치사율 또한 높아 생물학 무기로 사용될 가능성이 높기 때문에 예방 및 치료 백신의 개발이 절실하다^[7-10]. 현재까지 개발되어 상용화된 치료제는 없으며, 식약처에서 조건부승인을 받은 예방백신인 한타박스[®](녹십자)는 백신접종 1년 후에는 백신을 투여 받은 자원자의 50 %에서만 중화항체가 확인되었고 신증후군출혈열의 심각성을 현저하게 감소시키지 못했다. 또한 아직 미국 식약처의 인가를 받은 치료법은 없는 상태이다. 현재 HTNV는 신생 포유 마우스나 신생 포유 랫드를 제외하고는 치사모델이 없기 때문에 백신 및 치료제를 개발하여 평가하는데 어려움이 있다^[11,12]. 따라서 본 연구에서는 HTNV 76-118을 이용하여 치사모델을 개발하고자 한다.

2. 실험방법

2.1 세포와 바이러스

HTNV 76-118은 원숭이 신장 유래세포(Vero E6 cell;

ATCC 1586)에서 배양하였으며, 플라크 감소법으로 역가 측정을 하였다. 본 연구진 보유 HTNV 76-118의 역가는 2×10^6 PFU/mL로 역가를 높이기 위해 HTNV 76-118 원액을 ICR 포유마우스 뇌에 접종하여 12일 후, 증상이 관찰된 포유마우스 뇌 조직을 적출하여 유제액을 만들었고, 플라크 감소법을 사용하여 역가를 측정하였다. 역가는 4×10^6 PFU/mL이었으며, 농도에 맞게 희석하여 사용하였다. 유제액을 다시 Vero E6 cell에 접종하여 배양한 결과 HTNV 76-118의 역가는 5×10^6 PFU/mL로 측정되었다. 바이러스는 농도에 맞게 희석하여 사용하였다. 바이러스 세포 배양 실험은 모두 생물안전3등급 시설(BL-3)에서 안전하게 수행하였다.

2.2 동물 실험

본 연구에서는 HTNV 치사 모델을 찾기 위해 시리안 골든 햄스터와 다양한 주령의 ICR 마우스, BALB/c 마우스, 9주령 C57BL/6 마우스에 HTNV를 투여하고 증상 및 폐사를 확인하였다. 햄스터는 중국 Beijing Vital River Laboratory Animal Technology사로부터 구매하였고, ICR 마우스, BALB/c 마우스, C57BL/6 마우스는 오리엔트바이오에서 구매하였다. 동물실험은 국방과학연구소 동물실험윤리위원회의 승인을 받고 ABL-3에서 수행하였다(ADD-IACUC-20-09).

2.2.1 시리안 골든 햄스터 치사 확인 시험

시리안 골든 햄스터에서 HTNV 76-118에 대한 치사를 확인하기 위하여 5주령 수컷 시리안 골든 햄스터를 이용하여 Table 1과 같이 그룹 당 투여용량을 설정하여 100 μ L씩 intraperitoneal(IP) 투여하였다.

Table 1. Challenge of 5-week-old hamsters

| Group | HTNV (PFU/head) | No. of animals | Route of injection |
|-------|-----------------|----------------|--------------------|
| G1 | 0 | 2 | IP |
| G2 | 1×10^1 | 2 | |
| G3 | 1×10^2 | 2 | |
| G4 | 1×10^3 | 2 | |
| G5 | 1×10^4 | 2 | |
| G6 | 1×10^5 | 2 | |
| G7 | 5×10^5 | 2 | |

2차 시험으로 일령에 따른 차이를 확인하기 위하여 24일령 수컷 시리안 골든 햄스터를 이용하여 Table 2와 같이 그룹 당 투여용량을 설정하여 100 µL씩 IP 투여하였다.

Table 2. Challenge of 24-day-old hamsters

| Group | HTNV (PFU/head) | No. of animals | Route of injection |
|-------|-------------------|----------------|--------------------|
| G1 | 1×10^2 | 2 | IP |
| G2 | 5×10^2 | 5 | |
| G3 | 1×10^3 | 5 | |
| G4 | 1.5×10^3 | 5 | |
| G5 | 2×10^3 | 4 | |

3차 시험으로 성별에 따른 차이를 확인하기 위하여 5주령 암컷 시리안 골든 햄스터를 이용하여 Table 3과 같이 그룹 당 투여용량을 설정하여 100 µL씩 IP 투여하였다.

Table 3. Challenge of 5-week-old female hamsters

| Group | HTNV (PFU/head) | No. of animals | Route of injection |
|-------|-----------------|----------------|--------------------|
| G1 | 0 | 6 | IP |
| G2 | 1×10^1 | 6 | |
| G3 | 1×10^2 | 6 | |
| G4 | 5×10^2 | 6 | |
| G5 | 1×10^3 | 6 | |
| G6 | 5×10^3 | 6 | |
| G7 | 1×10^4 | 6 | |

2.2.2 BALB/c 마우스 치사 확인 시험

BALB/c 마우스에서 HTNV 76-118에 대한 치사를 확인하기 위하여 5주령 암컷 마우스를 이용하여 Table 4와 같이 그룹 당 투여용량을 설정하여 100 µL씩 IP 투여하였다.

2차 시험으로는 젓먹이 마우스의 뇌에 HTNV 76-118을 투여하고 감염된 마우스 뇌를 적출하여 뇌유체액

으로 3주령 마우스에 Table 5와 같이 그룹 당 투여용량을 설정하여 100 µL씩 IP 투여하였다.

Table 4. Challenge of 5-week-old BALB/c mouse

| Group | HTNV (PFU/head) | No. of animals | Route of injection |
|-------|-----------------|----------------|--------------------|
| G1 | 1×10^2 | 2 | IP |
| G2 | 1×10^3 | 2 | |
| G3 | 1×10^4 | 2 | |
| G4 | 5×10^4 | 2 | |

Table 5. Challenge of 3-week-old BALB/c mouse

| Group | HTNV* (PFU/head) | No. of animals | Route of injection |
|-------|------------------|----------------|--------------------|
| G1 | 4×10^4 | 2 | IP |
| G2 | 2×10^5 | 2 | |
| G3 | 4×10^5 | 2 | |

*Brain homogenates of HTNV 76-118 infected mice

2.2.3 C57BL/6 마우스 치사 확인 시험

C57BL/6 마우스에서 HTNV 76-118에 대한 치사를 확인하기 위하여 9주령 암컷 마우스를 이용하여 Table 6과 같이 그룹 당 투여용량을 설정하여 100 µL씩 IP 투여하였다.

Table 6. Challenge of 9-week-old C57BL/6 mouse

| Group | HTNV (PFU/head) | No. of animals | Route of injection |
|-------|-----------------|----------------|--------------------|
| G1 | 1×10^4 | 5 | IP |
| G2 | 2×10^4 | 5 | |

2.2.4 ICR 마우스 치사 확인 시험

ICR 마우스에서 HTNV 76-118에 대한 치사를 확인하기 위하여 15일령, 20일령, 3주령 ICR 마우스를 이용하여 Table 7-10과 같이 그룹 당 투여용량을 설정하여 100 µL씩 IP 투여, 20 µL 씩 intracranial(IC) 투여, 또는 20 µL씩 intranasal(IN) 투여하였다.

Table 7. Challenge of 15-day-old ICR mouse

| Group | HTNV (PFU/head) | No. of animals | Route of injection |
|-------|-----------------|----------------|--------------------|
| G1 | 1×10^1 | 8 | IC |
| G2 | 5×10^1 | 8 | |
| G3 | 1×10^2 | 8 | |
| G4 | 5×10^2 | 8 | |

Table 8. Challenge of 3-week-old ICR mouse

| Group | HTNV (PFU/head) | No. of animals | Route of injection |
|-------|-----------------|----------------|--------------------|
| G1 | 0 | 5 | IC |
| G2 | 5×10^1 | 5 | |
| G3 | 1×10^2 | 5 | |
| G4 | 2×10^2 | 5 | |
| G5 | 5×10^2 | 5 | |
| G6 | 2×10^3 | 5 | |

Table 9. Challenge of 3-week-old ICR mouse

| Group | HTNV (PFU/head) | No. of animals | Route of injection |
|-------|-----------------|----------------|--------------------|
| G1 | 0 | 5 | IP |
| G2 | 5×10^1 | 5 | |
| G3 | 1×10^2 | 5 | |
| G4 | 2×10^2 | 5 | |
| G5 | 5×10^2 | 5 | |
| G6 | 2×10^3 | 5 | |

Table 10. Challenge of 20-day-old ICR mouse

| Group | HTNV (PFU/head) | No. of animals | Route of inoculation |
|-------|-------------------|----------------|----------------------|
| G1 | 1.2×10^1 | 10 | IN |
| G2 | 1.2×10^2 | 10 | |
| G3 | 1.2×10^3 | 10 | |
| G4 | 1.2×10^4 | 10 | |

2.2.5 ICR 마우스 반수치사량 산정 시험

ICR 마우스에서 HTNV 76-118에 대한 반수치사량을 산정하기 위하여 20일령 ICR 마우스를 이용하여 Table 11과 같이 그룹 당 투여용량을 설정하여 20 μ L씩 IC 투여하였다.

Table 11. LD₅₀ test of 20-day-old ICR mouse

| Group | HTNV (PFU/head) | No. of animals | Route of injection |
|-------|-----------------|----------------|--------------------|
| G1 | 0 | 10 | IC |
| G2 | 3.125 | 10 | |
| G3 | 6.25 | 10 | |
| G4 | 12.5 | 10 | |
| G5 | 25 | 10 | |
| G6 | 50 | 3 | |

3. 결과

3.1 시리안 골든 햄스터 치사 확인 시험 결과

1차 시험에서 5주령 수컷 햄스터를 이용하여 HTNV 76-118 감염시험을 수행하였지만 폐사 개체가 발생하지 않았다. 그 후 24일령 수컷 햄스터를 이용하여 시험을 수행하였지만 역시 폐사 개체가 발생하지 않았다. 성별 변수를 배제하기 위하여 5주령 암컷 햄스터에서 HTNV 76-118 감염시험을 수행하였지만 폐사 개체가 발생하지 않았다.

3.2 Balb/c 마우스 치사 확인 시험 결과

1차 시험에서 5주령 마우스를 이용하여 HTNV 76-118 감염시험을 수행하였지만 폐사 개체가 발생하지 않았다. 2차 시험에서 3주령 마우스에 HTNV 76-118을 감염시킨 포유마우스 뇌 유체액을 이용하여 감염시험을 수행하였지만 역시 폐사 개체는 발생하지 않았다.

3.3 C57BL/6 마우스 치사 확인 시험 결과

9주령 마우스를 이용하여 HTNV 76-118 감염시험을 수행하였지만 폐사 개체가 발생하지 않았다.

3.4 ICR 마우스 치사 확인 시험 결과

15일령 마우스를 이용하여 HTNV 76-118을 IC 투여

시 투여용량에 따른 체중 감소(Fig. 1), 활동성 저하, 경련과 같은 임상 증상이 확인되었다. 투여용량에 따라 8-9일 후부터 폐사 개체가 발생하였고(Fig. 2), G2-G4 군에서 바이러스 투여 후 9일 후 모두 폐사하였다(Table 12).

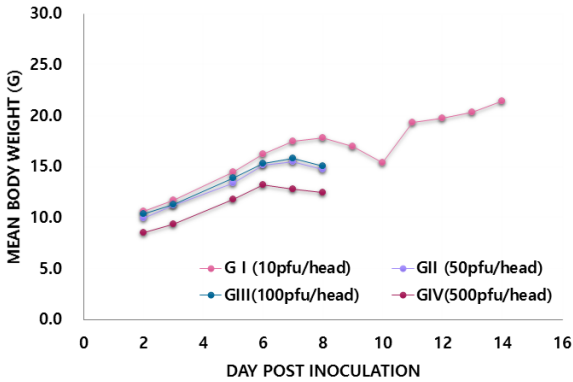


Fig. 1. Body weight change of 15-day-old ICR mouse. Mice were injected intracranially with HTNV

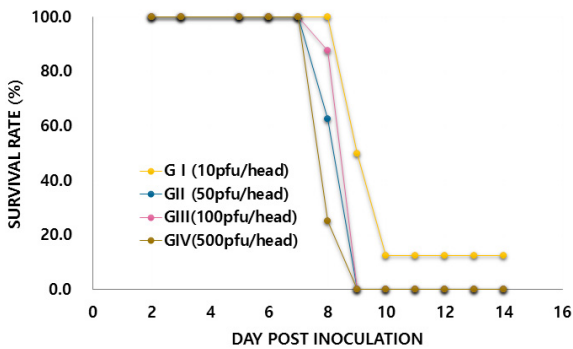


Fig. 2. Survival rate of 15-day-old ICR mouse. Mice were injected intracranially with HTNV

Table 12. Challenge Results of 15-day-old ICR mouse

| Group | HTNV* (pfu/head) | Dead/Total | Mortality rate (%) |
|-------|------------------|------------|--------------------|
| G1 | 1×10^1 | 7/8 | 87.5 |
| G2 | 5×10^1 | 8/8 | 100 |
| G3 | 1×10^2 | 8/8 | 100 |
| G4 | 5×10^2 | 8/8 | 100 |

*Injection route: IC

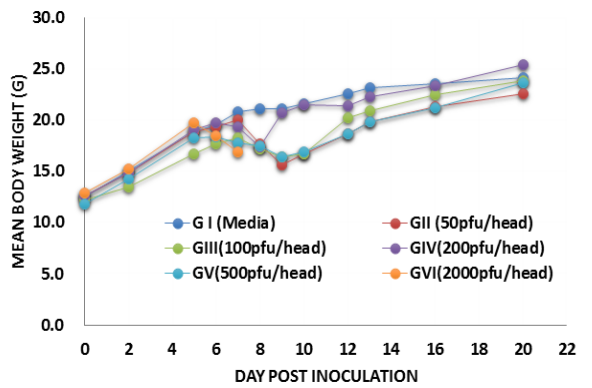


Fig. 3. Body weight change of 3-week-old ICR mouse. Mice were injected intracranially with HTNV

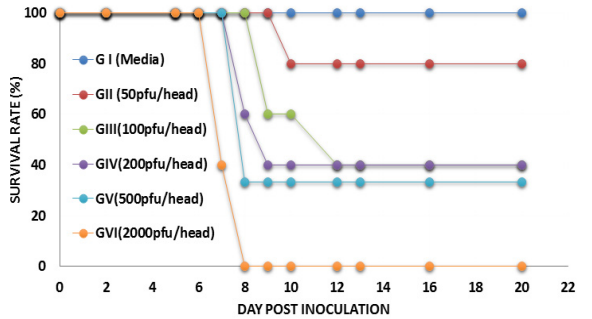


Fig. 4. Survival rate of 3-week-old ICR mouse. Mice were injected intracranially with HTNV

Table 13. Challenge Results of 3-week-old ICR mouse

| Group | HTNV* (pfu/head) | Dead/Total | Mortality rate (%) |
|-------|------------------|------------|--------------------|
| G1 | Media | 0/5 | 0 |
| G2 | 5×10^1 | 1/5 | 20 |
| G3 | 1×10^2 | 3/5 | 60 |
| G4 | 2×10^2 | 3/5 | 60 |
| G5 | 5×10^2 | 2/3 | 66.7 |
| G6 | 2×10^3 | 5/5 | 100 |

*Injection route: IC

15일령에서 폐사 개체가 확인되었지만, 더 큰 개체에서도 바이러스에 의한 폐사를 확인하기 위해 3주령 개체를 이용하여 시험을 진행하였다. 투여용량에 따라

체중 감소(Fig. 3), 활동성 저하, 경련 등과 같은 임상 증상이 확인되었으며, 투여 7일 후부터 체중 감소하기 시작하여 투여 8일 후부터 폐사 개체가 발생하였다 (Table 13), (Fig. 4).

그러나 같은 용량을 3주령 ICR 마우스에 IP 투여했을 때에는 체중 감소 등의 증상이 발현되지 않았고 폐사 역시 발생하지 않았다.

3주령 마우스에서 HTNV 76-118 IC 투여 시 폐사 개체가 확인되었지만, 3주령 마우스는 개체 일령 차이 (20-22일령)가 있어 실험의 정확성을 위해 젓먹이 마우스를 20일령까지 모체와 함께 사육한 후 20일령에 어미로부터 분리하여 실험을 추가 진행하였다. 20일령 마우스에 HTNV 76-118을 IN 투여했을 때 체중 감소 등의 임상 증상이 발현되지 않았고 폐사 역시 발생하지 않았다.

Table 14. LD₅₀ Results of 20-day-old ICR mouse

| Group | HTNV* (pfu/head) | Dead/Total | Mortality rate (%) |
|-------|------------------|------------|--------------------|
| G1 | Media | 0/3 | 0 |
| G2 | 3.125 | 6/10 | 60 |
| G3 | 6.25 | 7/10 | 70 |
| G4 | 12.5 | 9/10 | 90 |
| G5 | 25 | 9/10 | 90 |
| G6 | 50 | 10/10 | 100 |

*Injection route: IC

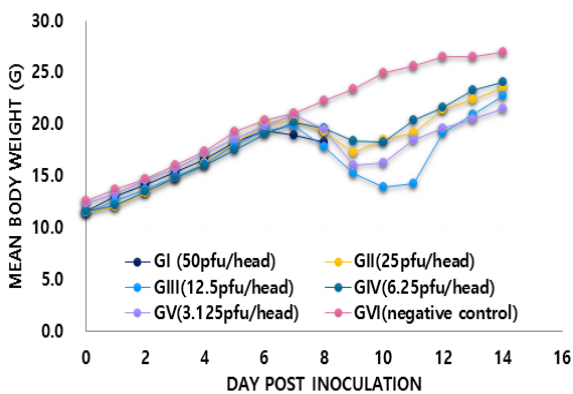


Fig. 5. Body weight change of 20-day-old ICR mouse. Mice were injected intracranially with HTNV

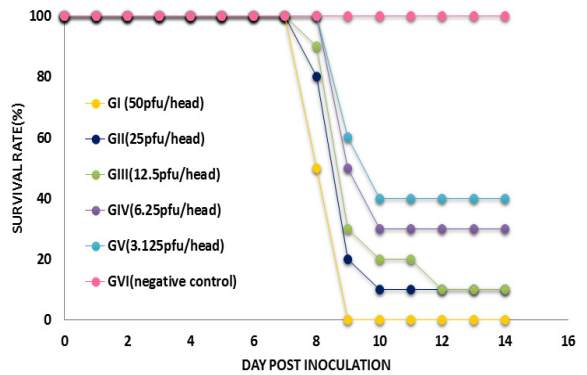


Fig. 6. Survival rate of 20-day-old ICR mouse. Mice were injected intracranially with HTNV

3.5 ICR 마우스 반수치사량 산정 결과

20일령 ICR 마우스를 이용하여 HTNV 76-118을 IC 투여 시 투여용량에 따른 체중 감소(Fig. 5), 활동성 저하, 경련과 같은 임상 증상이 확인되었다. 투여용량에 따라 8-9일 후부터 폐사 개체가 발생하였고(Fig. 6), G1 군에서는 바이러스 투여 후 9일 후 모두 폐사하였다 (Table 14). 20일령 ICR 마우스의 HTNV 76-118의 반수 치사량은 probit analysis로 분석한 결과 2.356 PFU/head 로 산정되었다.

4. 결론 및 고찰

본 연구에서는 한탄바이러스에 대한 치사 모델을 확립하기 위하여 햄스터, 마우스를 대상으로 다양한 주령 및 일령에서 투여 시험을 수행하였다. 햄스터의 경우 보고된 바에 따르면 6-10 주령 시리안 햄스터에 HTNV 76-118 10³ PFU를 IM(intramuscular) 투여했을 때 무증상 감염으로 폐사가 발생하지 않았다^[10]. 본 연구에서는 24일령, 5주령의 시리안 햄스터에 HTNV 76-118 2×10³~5×10⁵ PFU를 IP 투여했고 그 결과 임상 증상이 발현되지 않았고 폐사 역시 발생하지 않았다. 2002년에 8주령 BALB/c 마우스와 8주령 C57BL/6 마우스에 HTNV 76-118 10⁵ PFU를 IP로 투여했을 때 폐사한다는 보고가 있었지만^[13], 그 후 2006년에 Klingström 등이 6-8주령 BALB/c 마우스에 HTNV 76-118 8×10⁵ PFU를 IP로 투여했을 때와 C57BL/6 마우스에 HTNV 76-118 10⁵ PFU를 IP로 투여했을 때 증상 발현 및 폐사가 발생하지 않았다고 보고했다^[14].

따라서 본 연구에서는 그 결과를 확인하기 위하여 5주령 BALB/c 마우스와 9주령 C57BL/6 마우스에 HTNV 76-118을 IP 경로로 투여하였을 때 Klingström 등이 보고한 바와 마찬가지로 체중 감소 등의 임상 증상이 발현되지 않았고 폐사도 발생하지 않았다. 추가시험으로 동물에서 배양한 바이러스 감염으로 인한 치사 가능성을 확인하기 위하여 3주령 BALB/c 마우스에 HTNV 76-118 감염시킨 포유마우스의 뇌유체액 ($\sim 4 \times 10^5$ PFU)을 이용하여 감염시험을 수행하였으나 세포에서 배양한 바이러스와 마찬가지로 임상 증상 및 폐사는 발생하지 않았다. 태어난 지 24시간 이내의 BALB/c 마우스에 HTNV 76-118을 IC 또는 IP 투여했을 때 22.2 %의 폐사율을 보였다는 보고에 반해^[3] ICR 마우스의 경우 출생 후 72시간 이내의 젓먹이 마우스에 HTNV 76-118을 투여했을 경우 투여 경로(IC, IP, IM, 그리고 SC)에 상관없이 100 % 치사한다는 보고가 있었다^[15]. 본 연구에서는 15, 20일령 ICR 마우스와 3주령 ICR 마우스에 IC 경로로 HTNV 76-118을 투여하였을 때에는 폐사하는 것을 확인하였고 3주령 ICR 마우스에 HTNV 76-118을 IP 경로로 투여하였을 때와 20일령 ICR 마우스에 HTNV 76-118을 IN 경로로 투여하였을 때에는 증상 발현 및 폐사가 발생하지 않는 것을 확인하였다. 20일령 이상의 ICR 마우스는 젓먹이 마우스와는 다르게 HTNV 76-118 투여 경로에 따라 폐사하거나 폐사하지 않는 것을 확인하였고 또한 HTNV 76-118을 IC 투여했을 때 마우스 일령이 올라감에 따라 치사율이 낮아지는 것을 확인하였다.

본 연구진은 향후 HTNV에 대한 치료제 개발 시 동물평가를 위해 치사모델을 개발하고자 연구를 수행하였다. 본 연구에서 HTNV 76-118의 20일령 ICR 마우스 IC 투여 반수치사량은 2.365 PFU/head로 산정되었다. 본 시험을 통하여 확보된 시험결과는 HTNV 76-118 투여 시 젓먹이가 아닌 마우스에서 반수치사량을 산정한 최초 결과로 치료제 효능평가에 큰 도움이 될 것으로 기대된다.

후 기

본 논문은 국방과학연구소 과제(과제번호: 912664201)의 연구 산출물입니다.

References

- [1] DH Kruger, G Schonrich, and B Klempa, "Human Pathogenic Hantaviruses and Prevention of Infection," *Human Vaccine*, Vol. 7, pp. 685-693, 2011.
- [2] JH Kuhn, et al., "2020 Taxonomic Update for Phylum *Negarnaviricota*(*Riboviria*: *Orthornavirae*), Including the Large Orders *Bunyvirales* and *Mononegavirales*," *Archives of Virology*, Vol. 165, pp. 3023-3072, 2020.
- [3] JW Golden, CD Hammerbeck, EM Mucker, RL Brocato, "Animal Models for the Study of Rodent-Borned Hemorrhagic Fever Viruses: Arenaviruses and Hantaviruses," *BioMed Research International*, Vol. 2015, Article ID 793257, pp. 1-31, 2015.
- [4] D Safronetz, H Ebihara, H Feldmann, JW Hooper, "The Syrian Hamster Model of Hantavirus Pulmonary Syndrome," *Antiviral Research*, Vol. 95, pp. 282-292, 2012.
- [5] H Jiang, H Du, LM Wang, PZ Wang, XF Bai XF, "Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome: Pathogenesis and Clinical Picture," *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, Vol. 6, pp. 1-11, 2016.
- [6] RL Brocato, CD Hammerbeck, TM Bell, JB Wells, LA Queen, JW Hooper, "A Lethal Disease Model for Hantavirus Pulmonary Syndrome in Immunosuppressed Syrian Hamsters Infected with Sin Nombre Virus," *Journal of Virology*, Vol. 88, pp. 811-819, 2014.
- [7] JW Hooper, AM Ferro, V Wahl-Jensen, "Immune Serum Produced by DNA Vaccination Protect Hamsters against Lethal Respiratory Challenge with Andes Virus," *Journal of Virology*, Vol. 82, pp. 1332-1338, 2008.
- [8] K Hardcastle, D Scott, D Safronetz, DL Brining, H Ebihara, H Feldmann, A LaCasse, "Laguna Negra Virus Infection Causes Hantavirus Pulmonary Syndrome in Turkish Hamsters(*Mesocricetus brandti*)," *Veterinary Pathology*, Vol. 53, pp. 182-189, 2016.
- [9] D Safronetz, M Zivcec M, R LaCasse, F Feldmann, R Rosenke, D Long, E Haddock, D Brining, D Gardner, H Feldmann, H Ebihara, "Pathogenesis and Host Response in Syrian Hamsters Following Intranasal Infection with Andes Virus," *PLoS Pathology*, Vol. 7, pp. 1-15, 2011.

- [10] JW Hooper, DM Custer, E Thompson, and CS Schmaljohn, "DNA Vaccination with the Hantaan Virus M Gene Protects Hamsters against Three of Four HFRS Hantaviruses and Elicits a High-Titer Neutralizing Antibody Response in Rhesus Monkeys," *Journal of Virology*, Vol. 75, No. 18, pp. 8469-8477, 2001.
- [11] G Schonrich, A Rang, N Lutteke, MJ Raftery, N Charbonnel, RG Ulrich, "Hantavirus-Induced Immunity in Rodent Reservoirs and Humans," *Immunological Review*, Vol. 225, pp. 163-189, 2008.
- [12] DH Chung, A Vastermark, JV Camp, R Mcallister, SK Remold, YK Chu, C Bruder, CB Jonsson, "The Murine Model for Hantaan Virus-Induced Lethal Disease Shows Two Distinct Paths in Viral Evolutionary Trajectory with and without Ribavirin Treatment," *Journal of Virology*, Vol. 87, pp. 10997-11007, 2013.
- [13] D Wichmann, HJ Grone, M Frese et al., "Hantaan Virus Infection Causes an Acute Neurological Disease That is Fatal in Adult Laboratory Mice," *Journal of Virology*, Vol. 76, No. 17, pp. 8890-8899, 2002.
- [14] J Klingström, J Hardestam, and Å Lundkvist, "Dobrava, but not Saaremaa, Hantavirus is Lethal and Induces Nitric Oxide Production in Suckling Mice," *Microbes and Infection*, Vol. 8, No. 3, pp. 728-737, 2006.
- [15] GR Kim and KT McKee Jr., "Pathogenesis of Hantaan Virus Infection in Suckling Mice: Clinical, Virologic, and Serologic Observations," *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 34, No. 2, pp. 388-395, 1985.