

2重PCR法によるHTLV-Iプロウイルスの検出

(分担研究：献血者の抗ATL抗体スクリーニング陽性者の検討)

松本千恵子、小口 隆、光永滋樹、三富斉忠、島田 徹、市川明子、
渡部準之助、十字猛夫、船本剛朗、西岡久壽彌、徳永栄一

要約：現在献血された血液のHTLV-I抗体のスクリーニングはPA法で行われているが、PA法で抗体価の低い検体についてはIF法で陰性になる例が多い¹⁾。そこでpolymerase chain reaction (PCR)法を用いて直接プロウイルスの検出を行い、PA法およびIF法の結果と比較したところ、IF法とPCR法の結果が一致した。なおPCR法についてはラジオアイソトープを用いず、かつ高感度で検出する方法として2重PCR法を検討した。

見出し語：プロウイルス、PCR法

研究方法：献血された血液より単核球を分離し、フェノール・クロロフォルム法で染色体DNAを抽出した。1~2 μ gのDNA、Taqポリメラーゼ、HTLV-IプロウイルスDNAのpX領域のプライマーを用い、30回増幅を行った。さらにこの反応液の一部を2回目のPCRの検体DNAとし、最初のプライマーの配列の内側の配列DNAを新たなプライマーとして加え、さらに30回増幅し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、エチジウムブロマイド染色により増幅DNAの検出を行った。また検出感度の検定にはHuT102細胞のDNA

を用いた。PA法は富士レピオのセロディアーATLA、IF法はMT-2/Mo1T-4混合細胞標本を用いて行った。

結果：2重PCR法を用いると2回目のPCRで非特異なDNAの増幅が少なく、HuT102細胞約1個のDNA (HTLV-I約10コピー含む)のHTLV-Iプロウイルスがエチジウムブロマイド染色で検出し得た。PA法およびIF法との比較は表の如くであり、IF法とPCR法の結果が一致した。なおPA法で陰性の98検体についてはPCR法でも陰性であった。

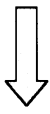
表

PA価(2 ⁿ)	検体数	IF(+) ¹ 数	PCR(+) ² 数
4	49	1	1
5	27	1	1
6	6	0	0
7	6	3	3
8	11	10	10
9	11	11	11
10	8	7	7
11	12	11	11
12	2	2	2
13	6	6	6
合計 138		52	52

考察：2重PCR法は、通常行われているラジオアイソトープ標識プローブを用いなくても高感度で、かつ簡便に検出でき有用な方法と考えられた。またPA法により低抗体価を示す検体の多くは、プロウイルス陰性例と思われた。

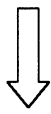
文献

- 1)吉田 勉、他：ATLA抗体測定におけるゼラチン粒子凝集法の問題点：医学のあゆみ、136, 387-388, 1986.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約:現在献血された血液のHTLV — 抗体のスクリーニングはPA法で行われているが、PA法で抗体価の低い検体についてはIF法で陰性になる例が多い。そこで polymerase chain reaction(PCR)法を用いて直接プロウイルスの検出を行い、PA法およびIF法の結果と比較したところ、IF法とPCR法の結果が一致した。なおPCR法についてはラジオアイソトープを用いず、かつ高感度で検出する方法として2重PCR法を検討した。