

学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用分子生命科学系 (医学系)

報告番号	乙 第1064号	氏名	中島 龍生
論文審査担当者	主査教授	周 正朝	
	副査教授	伊藤 浩史	
	副査教授	伊藤 浩史	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Degenerate polymerase chain reaction strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus during blood screening (輸血血液中のウイルス種及びウイルス株を検出するための DNA マイクロアレイを用いた degenerate PCR 法の開発)			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Degenerate polymerase chain reaction strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus during blood screening (輸血血液中のウイルス種及びウイルス株を検出するための DNA マイクロアレイを用いた degenerate PCR 法の開発)			
掲載雑誌名 Transfusion 第 巻 第 号 P. ~ (2013年 掲載予定)			
(論文審査の要旨)			
<p>輸血用血液を介した感染症の伝播を防止するため、現在 HIV,HCV,HBV といった一部のウイルスに関しては抗体測定、NAT 検定、TaqMan-PCR 等の検出法を用いてスクリーニングが行われ、輸血による感染の伝播が抑制されている。しかし、感染症を引き起こす病原体のほとんどが検査されておらず、また依然として感染初期の検出が困難な期間が問題視されている。感染検体がスクリーニングを阻止するために、より高感度な病原体検出システムを開発することは重要な課題である。同時に、今後流行が危惧されている血液を介した新興・再興感染に対しても、迅速に対応できる検出システムの確立が急務となっている。</p> <p>本研究では独自のプログラムにより網羅的に設計された degenerate プライマーを用いることで、PCR により効率よく病原体核酸を増幅し、DNA-Chip 上に固定化した検出用プローブとハイブリダイズさせることで高感度に病原体核酸を検出できるマイクロアレイシステムを開発した。血漿中の HIV, HCV, HBV, PVB19, WNV のウイルス核酸を対象として、既存の NAT 検査と同等以上(1PCR 反応液中に 5-8IU/cp)の検出感度を得ることができ、5 種類のウイルスに対応したアレイシステムへと発展させた。血漿中から調製したウイルス核酸を用いて検出感度の評価を行った結果、1PCR 反応液中に 2-10IU/cp という高感度が得られた上、各ウイルス核酸の増幅産物を混ぜ合わせた状態で検出を行っても、交差することなく目的のウイルス核酸のみを 1 枚の DNA-Chip 上で検出することができた。また、ウイルス核酸の配列を基に作製した合成オリゴを用いて検証した結果、degenerate プライマーと検出用プローブを組み合わせることで、ほぼ全ての変異株に対応することが可能であることも示唆された。</p> <p>本研究は、既知の感染症の迅速診断のみならず、その汎用性の高さから、今後新規の病原体に対する検査が必要となった際、迅速に検出系を構築することが可能になることも期待され、感染症の迅速検査に飛躍的進歩をもたらすと考えられ、学位論文として十分に価値あるものであると認められた。</p>			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。

(様式3号)

## 学位論文の要旨

氏名 中島 龍生

### 〔題名〕

Degenerate polymerase chain reaction strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus during blood screening

(輸血血液中のウイルス種及びウイルス株を検出するためのDNAマイクロアレイを用いたdegenerate PCR法の開発)

### 〔要旨〕

輸血用血液を介した感染症の伝播を防止するため、現在HIV,HCV,HBVといった一部のウイルスに関しては抗体測定、NAT検定、TaqMan-PCR等の検出法を用いてスクリーニングが行われ、輸血による感染の伝播が抑制されている。しかし、感染症を引き起こす病原体のほとんどが検査されておらず、また依然として感染初期の検出が困難な期間が問題視されている。感染検体がスクリーニングを阻止するために、より高感度な病原体検出システムを開発することは重要な課題である。童子に、今後流行が危惧されている血液を介した新興・再興感染に対しても、迅速に対応できる検出システムの確立が急務となっている。

本研究では独自のプログラムにより網羅的に設計されたdegenerateプライマーを用いることで、PCRにより効率よく病原体核酸を増幅し、DNA-Chip上に固定化した検出用プローブとハイブリダイズさせることで高感度に病原体核酸を検出できるマイクロアレイシステムを開発した。血漿中のHIV,HCV,HBV,PvB19,WNVのウイルス核酸を対象として、既存のNAT検査と同等以上(1PCR反応液中に5-8IU/cp)の検出感度を得ることができ、5種類のウイルスに対応したアレイシステムへと発展させた。血漿中から調製したウイルス核酸を用いて検出感度の評価を行った結果、1PCR反応液中に2-10IU/cpという高感度が得られた上、各ウイルス核酸の増幅産物を混ぜ合わせた状態で検出を行っても、交差することなく目的のウイルス核酸のみを1枚のDNA-Chip上で検出することができた。また、ウイルス核酸の配列を基に作製した合成オリゴを用いて検証した結果、degenerateプライマーと検出用プローブを組み合わせることで、ほぼ全ての変異株に対応することが可能であることも示唆された。この汎用性の高さから、本研究の検出システムを応用することで、今後新規の病原体に対する検査が必要となった際、迅速に検出系を構築することが可能になると期待される。

### 作成要領

1. 要旨は、日本語で800字以内で、1枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。