

20020121

厚生労働科学研究費補助金

平成14年度

厚生労働科学特別研究事業

輸血用血液におけるウエストナイルウイルス検出方法の確立

に関する研究 (H14-特別-050)

研究報告書

平成15年3月

主任研究者 倉根一郎

(国立感染症研究所)

目 次

輸血用血液におけるウエストナイルウイルス検出方法の確立に関する研究・・・ 1

主任研究者：倉根一郎（国立感染症研究所ウイルス第一部）

輸血用血液におけるウエストナイルウイルス検出方法の確立に関する研究・・・ 6

分担研究者：高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部）

輸血用血液におけるウエストナイルウイルス検出方法の確立に関する研究・・・ 21

分担研究者：岡田義昭（国立感染症研究所血液安全性研究部）

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

総括研究報告書

輸血用血液におけるウエストナイルウイルスの検出方法の確立に関する研究

主任研究者：倉根一郎（国立感染症研究所ウイルス第一部部長）

研究要旨：

ウエストナイル熱・脳炎はアメリカ大陸においては 1999 年初めてニューヨークで報告され、2002 年には患者数 4000 人以上、死亡 277 例におよぶ大流行となった。このような状況下で輸血による感染例も報告された。従って、まだウエストナイルウイルスの侵入がない我が国においても、輸血・血液製剤による感染に対する検査法を確立する必要がある。本研究においては、ウエストナイルウイルスを検出するためリアルタイム PCR 法を作製し感度等を検討した。リアルタイム PCR として TaqMan PCR 法と LUX PCR 法を検討した。今回検討した TaqMan PCR 法の感度はニューヨーク株 (NY99-6922) に対しては 0.1 pfu/tube であり、従来の RT-PCR 法に比べて約 10 倍感度が良いことが確認された。しかし、今回用いたプライマー・プローブセットでは、米国で現在流行している株に対しては高感度であるが、検出できないウエストナイル株があることも明らかとなった。日本脳炎ウイルスは陰性であった。LUX PCR 法では TaqMan PCR 法で検出できなかったウエストナイルウイルス g2266 株、FCG 株も検出することが可能であった。従って、現在のところ世界各地の分離株を検出できるという意味では LUX PCR 法のほうが有用な検査法であると考えられるが、今後さらに感度等を検討する必要がある。

分担研究者：

高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部 室長）

岡田義昭（国立感染症研究所血液・安全性研究部 室長）

A. 研究目的

ウエストナイル熱は従来、アフリカ、西アジア、中東、ヨーロッパにおいて時に流行するウイルス感染症であったが、1999 年以降、北米大陸においてもウエストナイル熱の発生が報告されるようになった。また、近年、イスラエル、東ヨー

ロッパ等においてもウエストナイル熱の頻繁な流行が報告され、ウエストナイルウイルスの侵淫地域の拡大が明らかとなっている。このようにウエストナイルウイルス侵淫地域が拡大した理由は明確ではないが、我が国への侵入も考慮しておく必要がある。最近、米国において輸血によってウエストナイルウイルスに感染する可能性が報告された。従って流行中のウエストナイルが万一我が国に上陸した際に輸血用血液の安全性を確保するための手法を確立しておく必要がある。

米国等におけるウエストナイル熱の広範な流行状況と、我が国との広範な人や物品の交流状況を考えると我が国において輸血用血液におけるウエストナイルウイルスへの安全確保体制を確保することは危急の課題であるといえる。我が国における輸血用血液の安全性に対する国民の不安を早期に払拭することも求められている。本研究の目的は、輸血用血液のウエストナイルウイルスからの安全性を確保するための検査手技を開発することであり、さらに、この検査技法を標準化することにより各施設において使用可能なシステムを作製する。

B. 研究方法

1. RT-PCR 法：ウエストナイルウイルス (NY 株) の配列からプライマーを設計した。
 WNNY514' /904:CggCgCCTTCATACACW/gCCTTTgAACAgACgCCATA
 米国以外の株に対応できるようにプライマー514' は、A or T の Mix primer W とした。

2. リアルタイム PCR 法

1) TaqMan PCR 法 (1)

① プライマーとプローブ

(i) WN3' NC-forward (10,688-10,684)

CAGACCACGCTACGGCG

WN3' NC-reverse (10,770-10,756)

CTAGGGCCCGGTGGG

WN3' NC-probe (10,691-10714)

TCTGCGGAGAGTGCAGTCTGCGAT

(ii) WNENV-forward (1160-1180)

TCAGCGATCTCTCCACCAAAG

WNENV-reverse (1209-1229)

GGGTCAGCACGTTTGTTCATTG

WNENV-probe (1186-1207)

② 方法：48°C:30min、95°C 10min. のあと 95°C:15sec. と 60°C:1min. を 45 サイクル繰り返した。

2) LUX PCR 法：5 μ l のサンプルを用いて、10 pmol の各プライマーを SuperScript ワンステップ RT-PCR システム (Invitrogen 社) を用いて総量 50 μ l で増幅した。50°C:30min、95°C 5 min. のあと 95°C:15sec., 55°C: 30sec., 72°C:30sec. を 35 サイクル繰り返した。

3) TaqMan PCR 法 (2)

プローブは New York 株の他、Kunjin ウイルスや Nigeria 株を検出するものも作製した。Taq-Man PCR を用いて感度や特異性の検討を行なった。

Sense primer : TgT AAA CTT ggg AAg Tgg AA

Antisense primer : CgT TCA ATC CTg TTC TTg AT

Probe (N. Y. 株) : CCC TgC TCA ACT CAg ACA CCA gTA A

Probe (Nigeria 株) : C CTC TCC TCA ATT

CTg ATA CTA gCA

Probe (Kunjin 株) : C CTC TAC TCA ACT

CAg ACA CCA gCA

(倫理面への配慮)

ヒト検体や動物検体は使用していない。

C. 研究結果

1. RT-PCR 法: 感度はニューヨーク株 (NY99-6922) や Egl01 株に対して 1 pfu/tube、インドで分離された g2266 株に対しては 10pfu/tube、ナイジェリア株 (FCG 株) に対しては 100pfu/tube であった。
2. TaqMan PCR 法 (1): 上記方法 (1) を用いた場合、感度はニューヨーク株 (NY99-6922) に対しては 0.1pfu/tube であった。増殖量は WN3' NC よりも WNEV が優れていた。日本脳炎ウイルス (JaGAR 株、北京 1 株、Muar 株、Tenga 株) は陰性であった。しかしながら、ウエストナイルウイルス g2266 株 (インドで分離、lineage 1)、FCG 株 (ナイジェリアで分離、lineage 2) も陰性であった。ウエストナイルウイルス標準株の Egl01 株に関しては、WN3' NC プライマーセットで十分検出できたが、WNEV プライマーセットでは感度が低く増殖曲線の増殖量が低かった。
3. LUX PCR 法: ニューヨーク株 (NY99-6922) に対してだけでなく、Egl01 株、g2266 株、FCG 株いずれも検出可能であった。一方、日本脳炎ウイルスは陰性であった。その他、黄熱ウイルス (17D 株)、デングウイルス (1 型、2 型、3 型、4 型) も陰性で

あった。

4. TaqMan PCR 法 (2): 上記方法 (2) を用いた場合、ニューヨーク株 (NY99-6922) による標準曲線は直線であった。ウイルスから合成した cDNA と WNV-NY-XL-6795-8802 を鋳型に用いて Taq-Man PCR を行った。New York 株に一致するように作成したプローブはウイルス由来の cDNA やプラスミドにクロニングした WNV を検出した。しかし、Nigeria 株や Kunjin ウイルスに特異的なプローブでは検出することはできなかった。感度は少なくとも 10^3 分子/ml であった。

D. 考察

ウエストナイルウイルスが日本に侵入した際には輸血用血液の安全性を確保する必要がある。ウエストナイルウイルスは、ヒトでは発病前の 1 ないし 5 日間はウイルス血症が存在する可能性があり、ウイルス血症の期間は、平均 6.2 日間 (1 から 11 日間) である。血中のウイルス量は 10^3 pfu/ml 程度である。従来の PCR 法に加えて高感度で特異性が高く短時間で判定可能なリアルタイム PCR 法について検討した。その結果、従来の RT-PCR 法に比べて、リアルタイム PCR 法は、約 10 倍感度が良いことが確認された。しかし、今回用いたプライマー・プローブセットでは、米国で現在流行している株に対しては、高感度であるが検出できないウエストナイル株があることが明らかとなった。次に、LUX 法を検討した。その結果、TaqMan PCR 法で検出できなかった、g2266 株、FCG 株も検出することが可能であった。

従って、現在のところ世界各地の分離株を検出できるという意味では LUX 法のほうが有用な検査法であると考えられるが、今後の感度の検討等を行なう予定である。

現在、日本の献血は 50 人のドナーの血漿を集めて 1 つの検査用検体を作り、HBV、HCV、HIV の 3 つのウイルスに対して核酸増幅法を実施している。実際には潜伏期や不顕性感染でのウイルス量が明確ではなことから 50 人でのプール血漿に対し本法が有効であることを今後確認する必要がある。

E. 結論

現在のところ、輸血用血液におけるウエストナイルウイルスの検出には、米国での感染が疑われる場合はリアルタイム PCR 法 (TaqMan PCR 法) を用いることが適切である。ウエストナイルウイルスの分布域が広いことを考慮すると、ドナーが他の流行地域に居住している場合は、

LUX PCR 法を従来の RT-PCR 法と併用して実施するのが適切である。

F. 健康危険情報

ウエストナイル熱・脳炎は 1999 年以来米国で流行しており、特に 2002 年には約 4,000 人の患者が報告されている。ウエストナイルウイルスは日本へはまだ侵入していないが、今後特に注意すべき感染症である。2002 年の流行では、輸血で感染したと疑われる症例が 47 例あり、そのうち 14 例は否定されたが、6 例はほぼ確定し 1 例は死亡している。また、臓器移植や母乳による感染や経胎盤感染の報告もある。

G. 研究発表

なし (現在準備中である)。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	ページ	出版 年
なし					

厚生科学研究費補助金（厚生労働科学特別事業）
分担研究報告書

輸血用血液におけるウエストナイルウイルス検出法の確立に関する研究

分担研究者 高崎智彦(国立感染症研究所)
協力研究者 伊藤美佳子、倉根一郎（国立感染症研究所）
奴久妻聡一（神戸市環境保健研究所）

研究要旨

ウエストナイルウイルスは、フラビウイルス科日本脳炎ウイルス血清型群に属し、日本脳炎ウイルスとその抗原性が極めて類似している。そのため両ウイルス間には抗体の交叉反応がある。本ウイルスはアフリカ・ヨーロッパ・西アジアなど広い範囲で見つかっている。しかし、1999年、ニューヨークに出現するまで、アメリカ大陸での報告は無かった。米国ではその後、ウエストナイルウイルスが定着し2000年、2001年の夏期も流行し、東部諸州全域に拡大、2002年の侵淫地域は44州におよび、患者数4000人以上、死亡277例におよぶ大流行をきたした。このような状況下で、特殊な感染経路として、2002年のアメリカ合衆国の流行では輸血や血液製剤での感染例や、臓器移植により感染した症例も報告された。従ってわが国のように、まだウエストナイルウイルス感染症の発生の無い地域においても、臓器移植や輸血・血液製剤による感染に対する検査法を確立する必要がある。我々は、米国疾病管理予防センター（CDC）の使用しているリアルタイムPCR法、および我々の作製したリアルタイムPCR法、RT-PCR法について感度等を検討した。

A. 研究目的

一般にフラビウイルス科のウイルス間では抗体の交叉反応がある。ウエストナイルウイルスは、日本脳炎ウイルスとその抗原性が極めて類似している。また近年輸入感染症として日本人の症例数が増加しているデング熱の原因ウイルスであるデングウイルスとも近縁である。

ウエストナイルウイルスは、フラビウイルス科日本脳炎ウイルス血清型群に属し、アフリカ・ヨーロッパ・西アジアなど広い範囲で見つかっている。しかし、1999年、ニューヨークに出現するまで、アメリカ大陸での報告は無かった。米国ではその後、ウエストナイルウイルス(WNV)が定着し2000年、2001年の夏も流行した。2002年には、患者数4000人以上、死者277人におよぶ大流行を来たした。このような状況下で、特殊な感染経路として、2002年のアメリカ合衆国の流行では輸血や血液製剤での感染例や、

臓器移植により感染した症例も報告された。現在、骨髄や臍帯血に関しては国際間のHLA検索が可能のため国境をこえて提供されている。従って、臓器移植や輸血・血液製剤による感染の危険性は、現状においても十分存在する。ドナーが流行地域の住民であった場合は、その感染を否定する必要がある。ウエストナイルウイルスのヒトにおけるウイルス血症は 10^3 pfu/mLと必ずしも高くない。そこで我々は、短時間で判定が可能でより高感度かつ特異的なウイルス検出法を検討した。

B. 研究方法

1. RT-PCR法

(1) プライマーの設計

フラミンゴから分離したWNV(NY strain)の配列から、Oligo™ Primer Analysis Software (Molecular Biology Insight, Inc.)を用いて以下のプライマ

一を設計した。

WNNY514' /904

CggCgCCTTCATACACW/
gCCTTTgAACAgACgCCATA

米国以外の株に対応できるようにプライマー514' は、A or T の Mix primer W とした。

2.リアルタイム PCR 法

① TaqMan PCR 法

プライマーとプローブ

WN3'NC-forward (10,688-10,684)

CAGACCACGCTACGGCG

WN3'NC-reverse (10,770-10,756)

CTAGGGCCGCGTGGG

WN3'NC-probe (10,691-10714)

TCTGCGGAGAGTGCAGTCTGC

GAT

WNENV-forward (1160-1180)

TCAGCGATCTCTCCACCAAAG

WNENV-reverse (1209-1229)

GGGTCAGCACGTTTGTGTCATTG

WNENV-probe (1186-1207)

5 μ l のサンプルを用いて、50 pmol の各プライマーと 10 pmol のプローブを TaqMan RT-PCR Ready-Mix Kit (PE Applied Biosystems) を用いて総量 50 μ l で増幅した。検出には、ABI Prism 7000 または Bio-Rad i-Cycler を使用した。48 $^{\circ}$ C : 30min、95 $^{\circ}$ C 10min. のあと 95 $^{\circ}$ C : 15sec. と 60 $^{\circ}$ C 1min. を 45 サイクル繰り返した。

② LUX PCR 法

単一フルオロフォアで標識されたオリゴヌクレオチドをフォワードプライマーとしてプローブの役割も持たせた LUX (Light Upon eXtention) 法 (Invitrogen 社) を検討した。プライマー設定領域は E 領域の、1787 から 1870 塩基の領域で設計した。

5 μ l のサンプルを用いて、10 pmol の各プライマーを SuperScript ワンステップ RT-PCR システム (Invitrogen 社) を用いて総量 50 μ l で増幅した。50 $^{\circ}$ C : 30min、95 $^{\circ}$ C 5 min. のあと 95 $^{\circ}$ C : 15sec.,

55 $^{\circ}$ C : 30sec., 72 $^{\circ}$ C : 30sec. を 35 サイクル繰り返した。

C. 研究結果

1. RT-PCR 法

我々の設計したプライマーでは、ニューヨーク株 (NY99-6922) に対して、1 pfu/tube の感度が得られた。また、ウエストナイルウイルス標準株の Eg101 株でも同等の感度を有することが確認された。しかし、インドで分離された g2266 株の場合、10pfu/tube とやや感度が低く、ナイジェリア株 (FCG 株) では、100pfu/tube とさらに感度が低下した (図 1)。

2. TaqMan PCR 法

ニューヨーク株 (NY99-6922) に対してはその感度は 0.1 pfu (plaque forming unit)/tube であった (図 2, 5)。増殖量は WN3' NC よりも WNENV が優れており、標準曲線もきれいな直線に乗り、乱れが少なかった (図 4, 6)。日本脳炎ウイルス (JaGAR 株、北京 1 株、Muar 株、Tenga 株) に関して陰性であった。そのほか未分類の Apoi ウイルスに関して陰性であった。

しかしながら、ウエストナイルウイルス g2266 株 (インドで分離、lineage 1)、および FCG 株 (ナイジェリアで分離、lineage 2) は検出できなかった。

ウエストナイルウイルス標準株の Eg101 株に関しては、WN3' NC プライマーセットでは問題が無かったが、MNENV プライマーセットでは図 3 に示す如く感度が低く増殖曲線の増殖量が低かった。

3. LUX PCR 法

本方法では、ニューヨーク株 (NY99-6922) に対してだけでなく、Eg101 株、g2266 株、FCG 株いずれも検出可能であった。一方、日本脳炎ウイルス (北京 1 株、JaGAR 株 : genotype 3)、本年度ブタから分離された日本脳炎ウイルス 3 株 (genotype 1) に関しては陰性であった。その他、黄熱ウイルス (1

7D 株)、デングウイルス (1 型、2 型、3 型、4 型いずれも標準株)、フラビウイルスとして未分類の Apoi ウイルス、Yokose ウイルスに関しては、陰性であった (図 7, 8)。

ニューヨーク株 (NY99-6922) による標準曲線もきれいな直線に乗ることが確認された (図 9)。

D. 考察

ウエストナイルウイルスが日本に侵入した場合、日本には近縁の日本脳炎ウイルスが存在するため診断上混乱が生じることが想定される。しかし、それだけでなく 2002 年の米国のように 4000 人以上の患者が発生した結果、輸血・臓器移植等による感染も発生した。骨髄や臍帯血に関しては国際間の HLA 検索が可能のため国境をこえて提供されていることから、提供者が米国をはじめとしたウエストナイル熱流行地に居住している場合、将来的な問題でなく、現実にはわが国において骨髄あるいは臍帯血の提供者の非感染を確認する検査を実施しなければならない。また、ウエストナイルウイルスがわが国に上陸した際には輸血用血液の安全性を確保する必要がある。

ウエストナイルウイルスは、カケスやスズメなどでは高いウイルス血症を来すが、ヒトでは発病前の 1 ないし 5 日間はウイルス血症が存在する可能性があり、ウイルス血症の期間は、平均 6.2 日間 (1 から 11 日間) であるが、血中のウイルス量は約 10^3 pfu/ml とそれ程高くない。従って輸血用血液や移植臓器の検査に関しては、より高感度の病原体検出法が要求される。そこで、従来の PCR 法に加えて高感度で特異性が高く短時間で判定可能なリアルタイム PCR 法について検討した。その結果、従来の PCR 法に比べて、リアルタイム PCR 法は、約 10 倍感度が良いことが確認された。しかしながら、リアルタイム PCR 法のなかで TaqMan PCR 法は非常に特異性が高いために、CDC の設計したプライマー・プローブセットでは、米国で現在流行している株に対しては、高感度であるが、同じウエストナイルウイルス株でも、検出できない株があることが明

らかとなった。従って、米国のウイルス株以外の株に対応するためには、従来の PCR 法の併用が有用であると考えられる。しかし、輸血や臓器移植に関しては、短時間で検査結果を出すことが要求される場合が予想される。従って、我々は LUX 法という片方のプライマーがプローブを兼ねるリアルタイム PCR 法を検討した。その結果、TaqMan PCR 法で検出できなかった、g2266 株、FCG 株も検出することが可能であった。わが国のようなまだウエストナイル熱の流行の無い地域では、LUX 法のほうが有用な検査法であると考えられる。しかしながら TaqMan PCR との感度の正確な比較をするためには、TaqMan PCR で検出可能な NY99-6922 株および Eg101 株の遺伝子配列に基づいた、合成 RNA を作製し、正確な RNA コピー数による比較が必要であり、今後の課題であると思われる。

E. 結論

輸血用血液、臓器移植 (骨髄移植、臍帯血移植) のドナーが米国在住であった場合は、リアルタイム PCR (TaqMan PCR 法) 法を実施する。ウエストナイルウイルスの分布域が広いことを考慮すると、ドナーが他の流行地域に居住している場合は、同じリアルタイム PCR 法であるが、LUX PCR 法を従来の PCR 法と併用して実施する。

以上が現状における最善の検査法であると考えられる。

F. 健康危険情報

2002 年の米国の大流行下で、輸血・臓器移植によるウエストナイルウイルス感染例が発生した。2002 年のアメリカ合衆国の流行では、輸血で感染したと疑われる症例が 47 例あり、そのうち 14 例は否定されたが、6 例はほぼ確定し 1 例は死亡している。また、臓器移植や母乳による感染や経胎盤感染の報告もある。

G. 研究発表

1. 論文発表

Tomohiko Takasaki, Masaru Nawa, Ken-Ichiro Yamada, Akira Takeda, Ichiro Kurane: Evaluation of dengue IgM detection tests using sera from patients with autoimmune diseases.

Journal of Virological Methods 102, 61-66. 2002

Ken-Ichiro Yamada, Tomohiko Takasaki, Masaru Nawa, Ichiro Kurane: Virus isolation as one of the diagnostic methods for dengue virus infection. Journal of Clinical Virology 24(3):203-209. 2002

高崎智彦. 黄熱, その他のアルボウイルス感染症. 小児科診療 65:2077-2081 (2002)

Yuuji Yamamoto, Tomohiko Takasaki, Ken-Ichiro Yamada, Mikio Kimura, Kazushige Washizaki, Hiroki Yoshikawa, Akihiro Hitani, Tetsuya Nakamura, Aikichi Iwamoto. A Case of acute disseminated encephalomyelitis following dengue fever. Journal of Infection and chemotherapy 8:175-177, 2002

Arai YT, Kimura M, Sakaue Y, Hamada A, Yamada K, Nakayama M, Takasaki T, Kurane I. Antibody responses induced by immunization with a Japanese rabies vaccine determined by neutralization test and enzyme-linked immunosorbent assay. Vaccine. 20(19-20):2448-2453, 2002

Akira Yamamoto, Mikio Nakayama, Yae Kurosawa, Ken Sugo, Hideharu Karasawa, Tetsuro Ogawa, Tomohiko Takasaki, Masato Tashiro, Ichiro Kurane. Development of a particle agglutination assay system for detecting Japanese encephalitis virus-specific human IgM, using hydroxyapatite-coated nylon beads. J Virol Methods. 104:195-201, 2002

多賀賢一郎、井村俊郎、林 昭宏、鎌倉和政、橋本 智、高崎智彦、倉根一郎、内田

幸憲. 日本人における黄熱ワクチン接種後の抗体獲得に関する検討. 感染症学雑誌 76(9):738-746, 2002

徳田敦子、多部田弘士、杉戸一寿、高崎智彦、山田堅一郎、倉根一郎: フィリピンへの団体旅行で感染したデング熱の3症例. 感染症学雑誌 76(11)953-957, 2002

高崎智彦. ウエストナイル熱/脳炎. 東獣ジャーナル 441(12)14-16 (2002)

高崎智彦. 日本脳炎、その他の脳炎ウイルス. 今日の治療指針 2003 年版. 医学書院 143-144. 2003

高崎智彦. 新世紀の感染症学「ウエストナイル熱/脳炎」日本臨床 61(増刊号 2)288-291. 2003

高崎智彦. ウエストナイル熱/脳炎. Modern Media 49(2) 1-6. 2003

2. 学会発表

K. I. Yamada, T. Takasaki, M. Nawa, I. Kurane: The future of dengue fever cases during 1998-2001 at National Institute of Infectious Diseases, Japan. XIIth International Congress of Virology (Paris) July. 2002

根路銘令子、高崎智彦、山田堅一郎、伊藤美佳子、倉根一郎. フラビウイルス科、フラビウイルス属、日本脳炎ウイルス種の命名法に関する提案. 第37回日本脳炎ウイルス生態学研究会. (大分) 7月. 2002年

中山幹男、松野重雄、吉田靖子、山西重機、高崎智彦、倉根一郎. 日本脳炎ウイルス分離株の遺伝学的変異と、その抗原性解析. 第50回日本ウイルス学会. (札幌) 10月. 2002年

高崎智彦、倉根一郎. シンポジウム: 新興・再興節足動物媒介ウイルス感染症の現状. 第43回日本熱帯医学会大会 (高知) 11月. 2002年

中山幹男、松野重夫、高崎智彦、倉根一郎。
組織培養不活化日本脳炎ワクチンに関する
研究—Vero細胞で増殖させたウイルスの遺
伝学的検討—。第6回日本ワクチン学会(千
葉) 11月。2002年

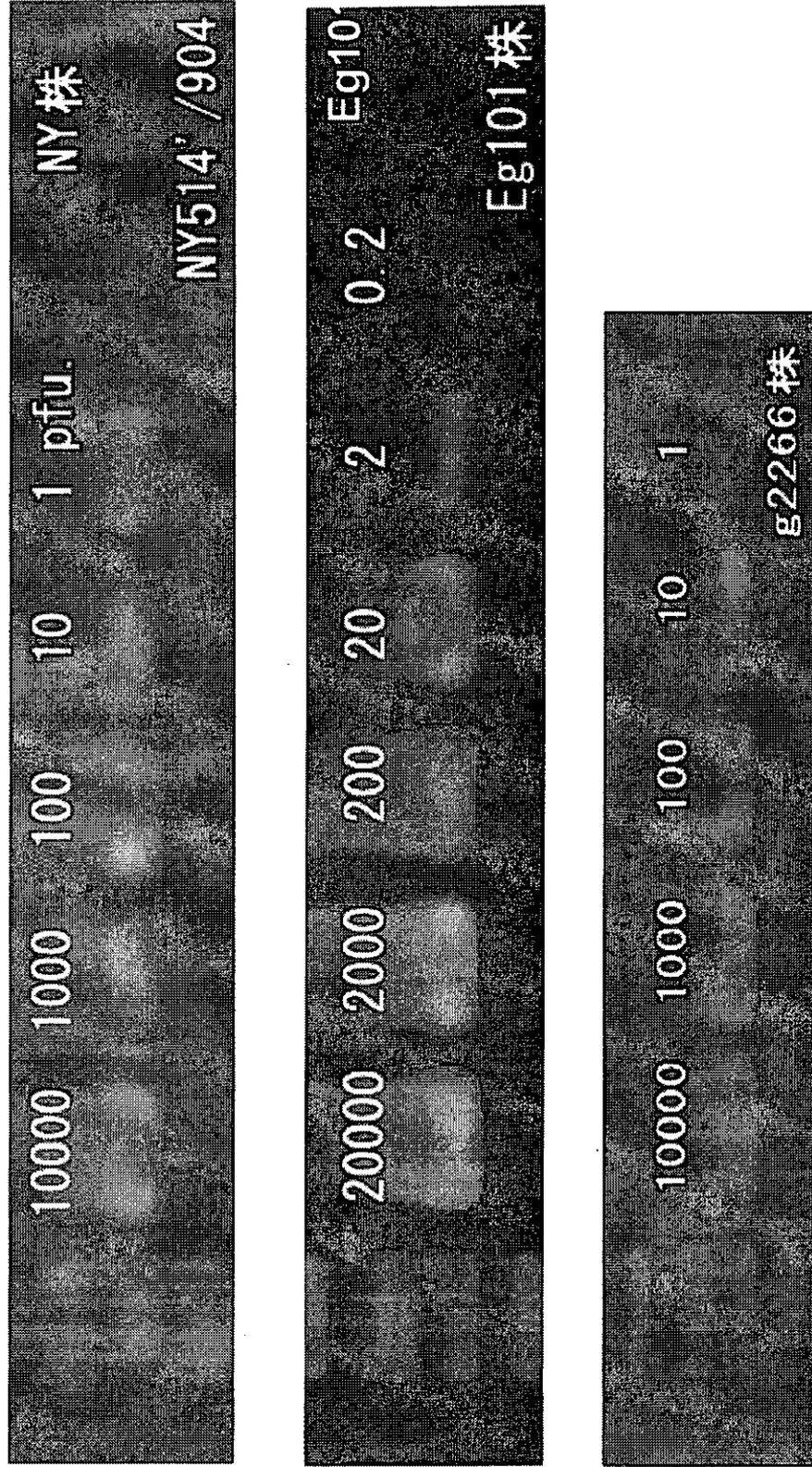
新井 智、高崎智彦、多屋馨子、松永康子、
倉根一郎、岡部信彦。2000年度感染症流行
予測調査事業の結果を用いた、小児におけ
る予防接種歴別日本脳炎ウイルス中和抗体
保有状況。第6回日本ワクチン学会(千葉)
11月。2002

[図の説明]

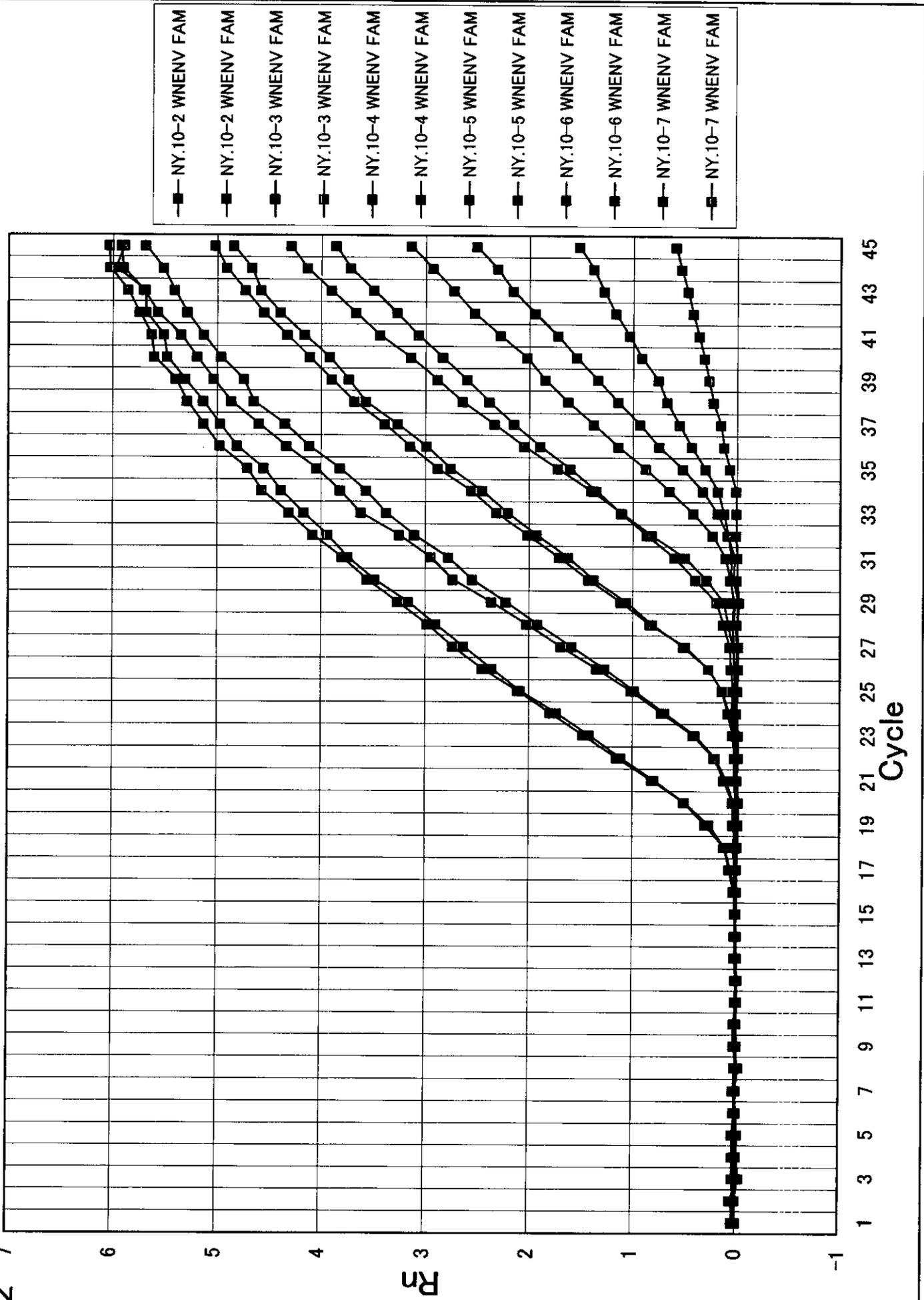
- 図 1. NY514'904 を用いた RT-PCR 法の感度
- 図 2. NYENV プライマー・プローブセットを用いた TaqMan PCR
NY99-6922 株を 10 倍階段希釈 (10^{-2} から 10^{-7}) した場合の増殖曲線
- 図 3. ウエストナイルウイルス・日本脳炎ウイルス数株を用いた
TaqMan PCR(NYENV プライマー・プローブセット)の検討
- 図 4. 図 2 の結果から得られた標準曲線
- 図 5. WN3'NC プライマー・プローブセットを用いた TaqMan PCR
- 図 6. 図 5 の結果から得られた標準曲線
- 図 7. ウエストナイルウイルスと他のフラビウイルスを用いた Lux 法によるリアルタイム
PCR 法
- 図 8. 図 7 の曲線の対数表示
- 図 9. 図 7 の結果から得られた NY99-6922 株の標準曲線

図1

NY514'904プライマーを用いたRT-PCR法の感度



2 7



3

PCR Amp/Cycle Graph for FAM-490

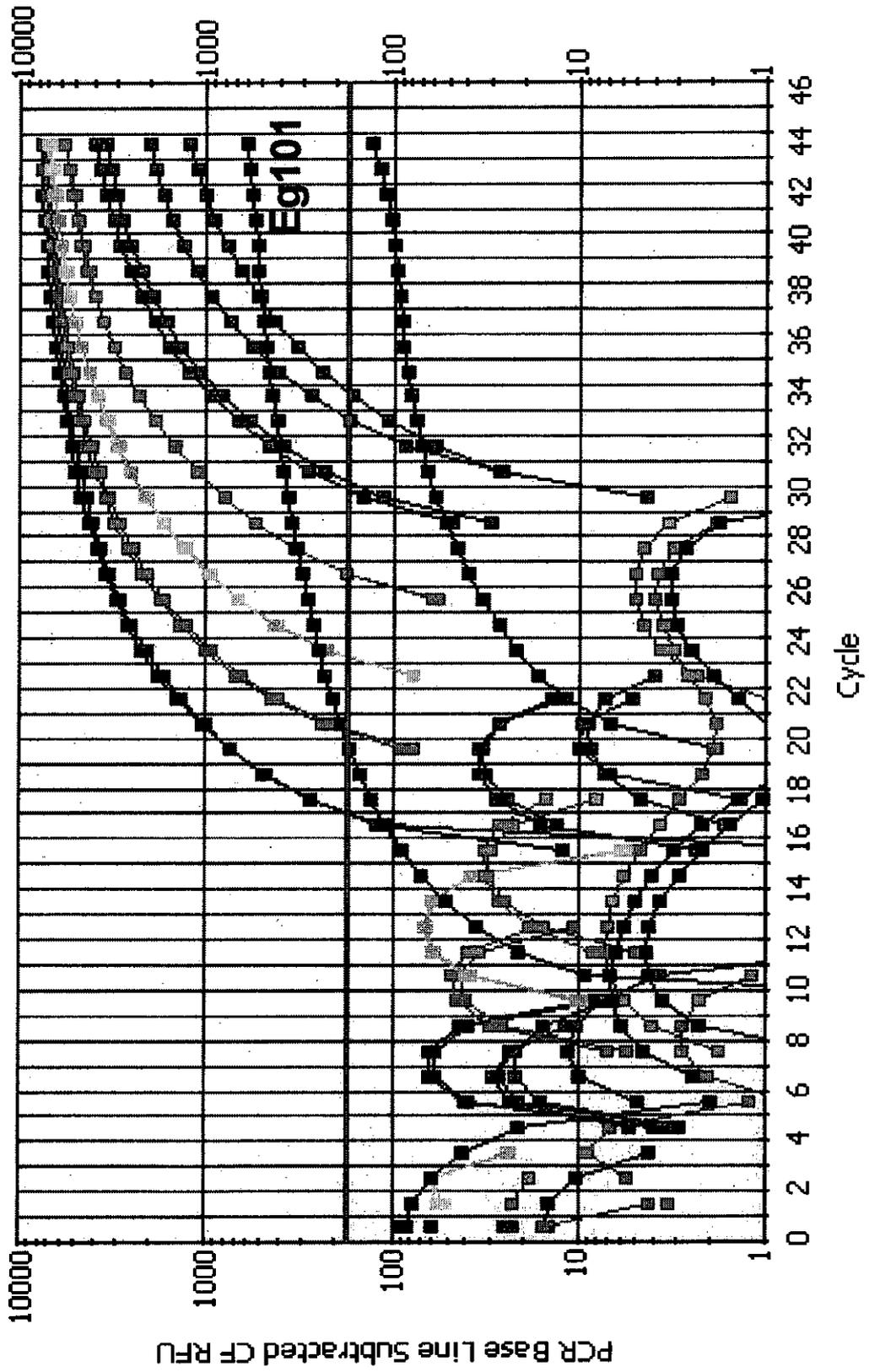
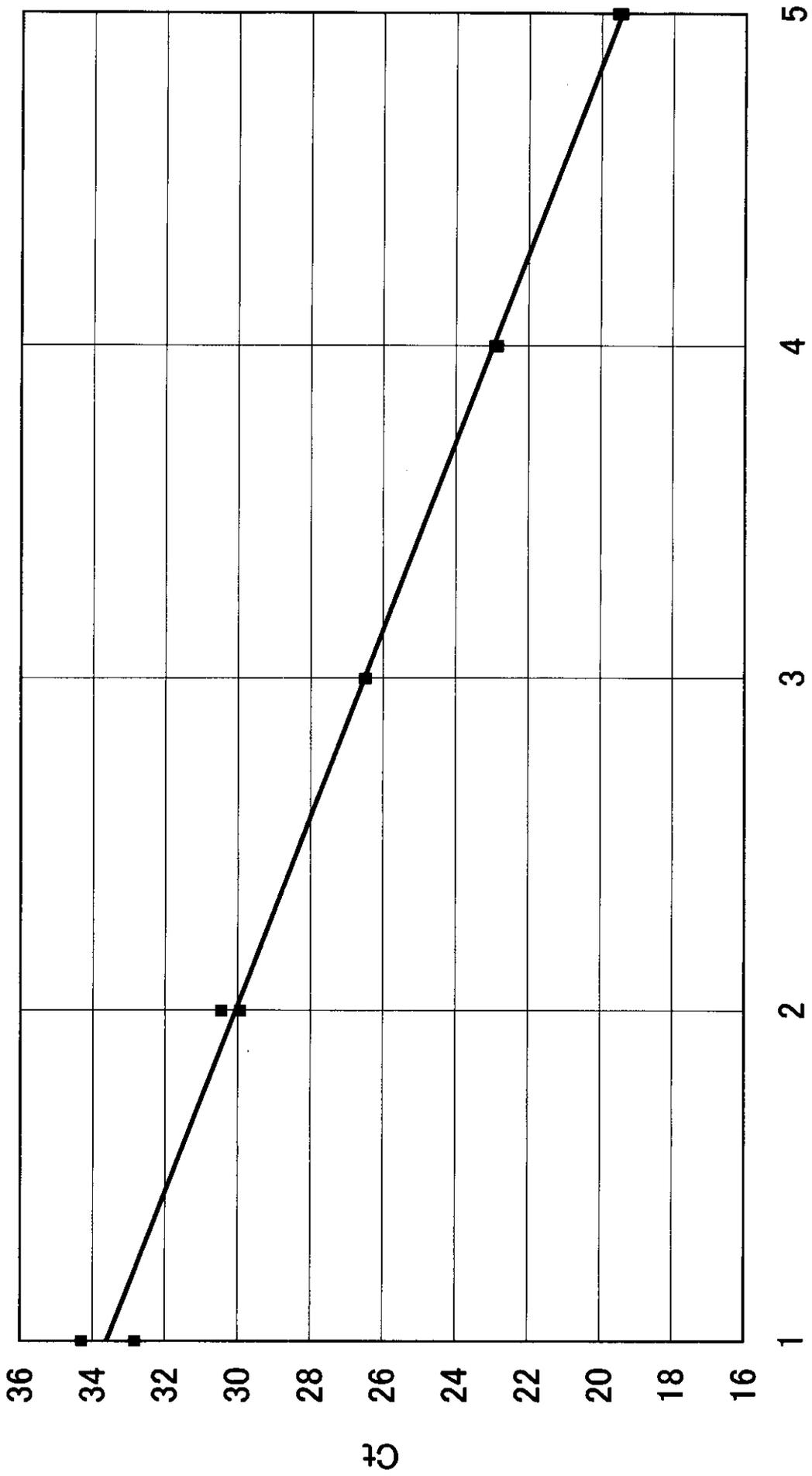


图 4

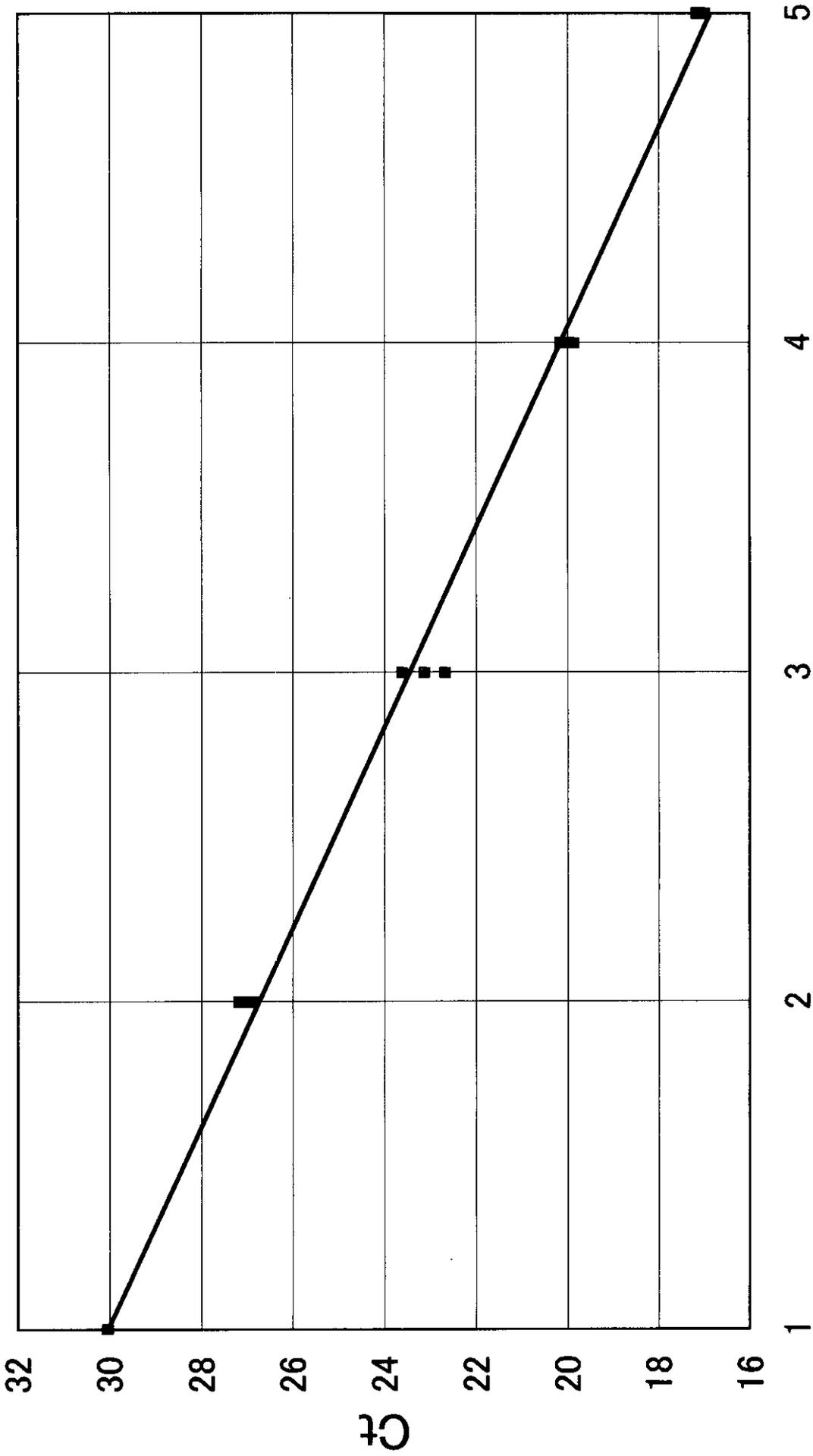
Standard Curve



$$y = -3.5478x + 37.157$$
$$R^2 = 0.9949$$

图6

Standard Curve



7

