

プール検体の遠心濃縮による HIV 核酸増幅検査

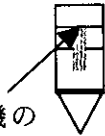
HIV の核酸増幅検査は抗体検査に比べウインドウ期を 11 日短縮可能であり、感染初期の可能性のある検査希望者のスクリーニング検査に有効な方法であるが、多数検体のスクリーニング検査には、時間や経費上の制約から困難が多い。通常、HIV 核酸増幅検査によるスクリーニング検査で陽性となる例は極めて少ないため、多数検体をプールし、HIV 粒子を遠心濃縮後、核酸増幅検査を行うことにより、低コストで効率的に多数検体の核酸増幅検査によるスクリーニング検査が可能である。

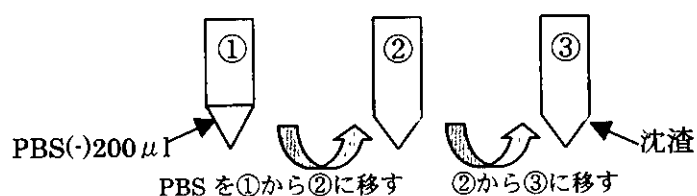
<検査に必要な試薬、機材>

- ① アシストチューブ (2ml, 1.5ml)
- ② 1000 μ l マイクロピペット
- ③ 1000 μ l 用チップ
- ④ 使い捨てスポイト (先が細いもの)
- ⑤ 高速冷却遠心機 (15000rpm)
- ⑥ 核酸増幅検査キット (アンプリコア HIV-1 モニター Ver.1.5 : 日本ロシユ)
検体使用量 標準法 : 200 μ l キット保存条件 2~8 $^{\circ}$ C

<プール遠心濃縮法>

(1) 検査方法

- ① HIV 抗体スクリーニング検査 (PA 法) で陰性となった検体をプール後遠心し、遠心沈渣を PBS (-) 200 μ l に溶解 (最大 32 検体まで) し 1 検体として核酸増幅検査を行う。
- ② 各検体の血漿を 200 μ l ずつ、2ml アシストチューブにプールしていく。
2ml アシストチューブ 1 本につき、8 検体 (1.6ml) までプールする。
検体が 9 検体以上あるときは、適宜本数を増やす。
(もし 17 検体の場合は、チューブ 3 本に 6 検体、6 検体、5 検体とプールする。)
- ③ プールした 2ml アシストチューブを 15000rpm (約 13000G)、4 $^{\circ}$ C 2 時間遠心する。沈渣がたまる側 (遠心の外側) にマジックでしるしを付ける。

線を遠心機の外側に向ける
- ④ 遠心が終了したら直ちに、上清を使い捨てスポイト (先の細いもの) で吸い取る。沈渣を吸い取らないように注意する。
- ⑤ 沈渣を PBS (-) 200 μ l で浮遊させる。32 検体分までは同じ PBS (-) 200 μ l で浮遊し、プール遠心濃縮検体 1 検体とする。



⑤ 濃縮した検体の HIV-RNA をアンプリコア HIV-1 モニターキット等で測定する。

(4) 結果判定

- 検出感度以下 : プールした全ての検体が陰性
(但し、QS 値により増幅不良等のないことを確認)
- 陽性 : プールした検体について、各個別検体の核酸増幅検査
を行い、陽性検体を特定する。

(執筆担当：神奈川県衛生研究所ウイルス部 嶋 貴子 近藤真規子 今井光信)

参考文献： プール検体の遠心濃縮法による HIV スクリーニング遺伝子検査の検討
林孝子, 近藤真規子, 島崎緑, 植田昌宏, 今井光信
感染症学雑誌 74,82,(2000)

スタンフォードシステムを用いたHIVの薬剤耐性度の算出手順

ジェノタイプの薬剤耐性検査においては、RT 領域や Pro 領域の塩基配列の決定による耐性変異の解析後、各薬剤に対してどの程度の耐性を有するかの評価(推測)が重要な問題となる。スタンフォード大学メディカルセンターで提供しているホームページにアクセスし塩基配列を照合することで、同センターのデータベースに基づく耐性度の推測値を無料で容易に得ることが可能である。今後、地方衛生研究所において薬剤耐性検査を実施していく上で、このシステムはかなり有用な手段の一つと思われるので以下にその利用法と概要を紹介する。

I. 塩基配列データの入力 (図1)

図1:1. インターネットに接続したパソコンのブラウザ(Internet Explorer あるいは Netscape Navigator、その他)を起動する。

図1:2. ブラウザのアドレスウインドウにスタンフォード大学メディカルセンターが提供するホームページのアドレス(<http://hivdb.stanford.edu>)を入れ、Enter を押してサイトにアクセスする。

図1:3. 「Sequence Analysis Program」の中の「Drug Resistance Interpretation」をクリックし、塩基配列を入力するページに移動する。

図1:4. Name の欄に検体名を入力し、下段のウインドウに RT 領域とプロテアーゼ領域の塩基配列を入力(添付)する。

図1:5. 「ANALYZE SEQUENCE」ボタンをクリックする事により、下記の解析結果が表示される。

II. 解析結果の説明 (図2)

以下のような解析結果が表示される。

図2:1. [SeqID : Date] Name に入力した検体名と解析した日付が表示される。

図2:2. [Summary Data] 入力した塩基配列に含まれるRT領域とプロテアーゼ領域が表示され、その下に各領域で求められたサブタイプが示される。

図2:3. [Sequence Quality Assessment] RT領域とプロテアーゼ領域のストップコドン、フレームシフト、確定されていない塩基(塩基配列中の B,D,H,V,N)の有無が表示される。

図2:4. [Drug Resistance Interpretation] 薬剤耐性変異に関する下記の解析結果が表示される。

図2:4-①. [PR Resistance Mutation] プロテアーゼ領域で薬剤耐性に関する変異が表示される。

図2:4-②. [PR Other Mutation] プロテアーゼ領域で薬剤耐性に無関係な変異が表示される。

図2:4-③. 各プロテアーゼ阻害剤に対する耐性度が表示される。以下に示した6つのプロテアーゼ阻害剤について耐性度が算出され、5段階で表示される。

プロテアーゼ阻害剤 : APV, IDV, NFV, RTV, SQV, LPV

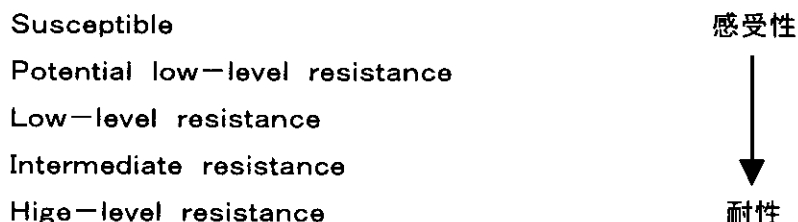


図2:4-④. [PR Comments] プロテアーゼ領域の各変異に対するコメントが表示される。

図2:4-⑤. [RT Resistance Mutation] RT領域で薬剤耐性に関する変異が表示される。

図2:4-⑥. [RT Other Mutation] RT領域で薬剤耐性に無関係な変異が表示される。

図2:4-⑦. 各RT阻害剤に対する耐性度が表示される。以下に示した10のRT阻害剤について耐性度が算出され、5段階で表示される。

核酸系RT阻害剤 : AZT, ddI, ddC, d4T, ABC, 3TC, TDF

非核酸系RT阻害剤 : EFV, DLV, NVP

図2:4-⑧. [RT Comments] RT領域の各変異に対するコメントが表示される。

図2:4-⑨. [Mutation Scoring] 各薬剤の耐性度を算出するのに用いた表が表示される。耐性変異ごとに各薬剤に対する耐性の度合いが点数で示され、その点数を合計する事によりそれぞれの薬剤の耐性度が算出される。(図3)

(執筆担当: 神奈川県衛生研究所 ウイルス部 須藤弘二 近藤真規子 今井光信)

参考文献: 厚生労働省 HIV の検査法と検査体制を確立するための研究班
平成13年度研究報告書 187ページ
ホームページで公開されているデータベース(スタンフォード大)を用いた
薬剤耐性度の解析
須藤弘二、西澤雅子、近藤真規子、宇宿秀三、今井光信

Stanford HIV RT and Protease Sequence Database

A curated database containing nearly all published HIV RT and protease sequences; a resource for researchers studying evolutionary and drug-related variation in the molecular targets of anti-HIV therapy.

Home Seq Analysis Database Queries Resistance Notes User Guide Contact Us

Please note our new URL is 'http://hivdb.stanford.edu' and update your bookmarks accordingly

Database Query Pages

Protease inhibitors, RT inhibitors
Retrieve sequences of isolates from persons receiving a selected antiretroviral therapy

Protease mutations, RT mutations
Retrieve sequences of isolates containing selected mutations

Protease inhibitor susceptibilities, RT inhibitor susceptibilities
Retrieve published drug susceptibility data for isolates with selected mutations

References
Retrieve sequences by author or publication

Sequence Analysis Programs

HIV-SEQ
Compare new RT and protease sequences to published sequences with the same mutations

Drug Resistance Interpretation (beta test)
Infer drug resistance to 16 available drugs using rules hyperlinked to data within the database

Algorithm Comparisons
Compare the drug resistance interpretations of 3 genotype interpretation algorithms

Mutation List Analysis
Run HIV-SEQ using a mutation list

Drug Resistance Notes

NRTI Notes, NNRTI Notes, PI Notes
Overview of HIV drug resistance with links to relevant database entries

[Acknowledgements] [Statistics] [Documents] [Programs] [Publications] [Links]

© 1998-2002
All Rights Reserved Email: Robert Shafer

Drug Resistance Interpretation - Beta Test - Input Form (updated 6/3/2001)

To All Beta Testers: **WARNING!** This page has been placed on the web for beta testing. The drug resistance interpretation used here is similar to the one used by the Stanford University Hospital (SUH) Diagnostic Virology Lab. However, each of the SUH Diagnostic Virology Lab reports are manually reviewed before they are reported to the ordering physician. This page will be updated frequently during the next several weeks. Please follow this link and read the text before using.

Name (optional): Sample sequence: Date (optional):

Output Analysis: QA Analysis Comments Mutation scores

Output Format: HTML Output Text Output

Upload file:

Or paste in below. Then press

```

PPVCAATCACTCTTTGCCAAGCAGCCCTCCTCACAATAAAGATAGGCG
CCAACAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAG
AAGAATGAATTTGCCAGGAAGATGCAACCAAAAATGATAGGGGAATT
GGAGCTTTTATCAAGTAAGCAATATGATCAGATCTGGTAGAAATTTG
TGATATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTACGACCTACACCTGTCAACA
TTATTGAAGAAATCTGTTGACTCAGATTGGCTGCACCTTAAATTTCCG

```

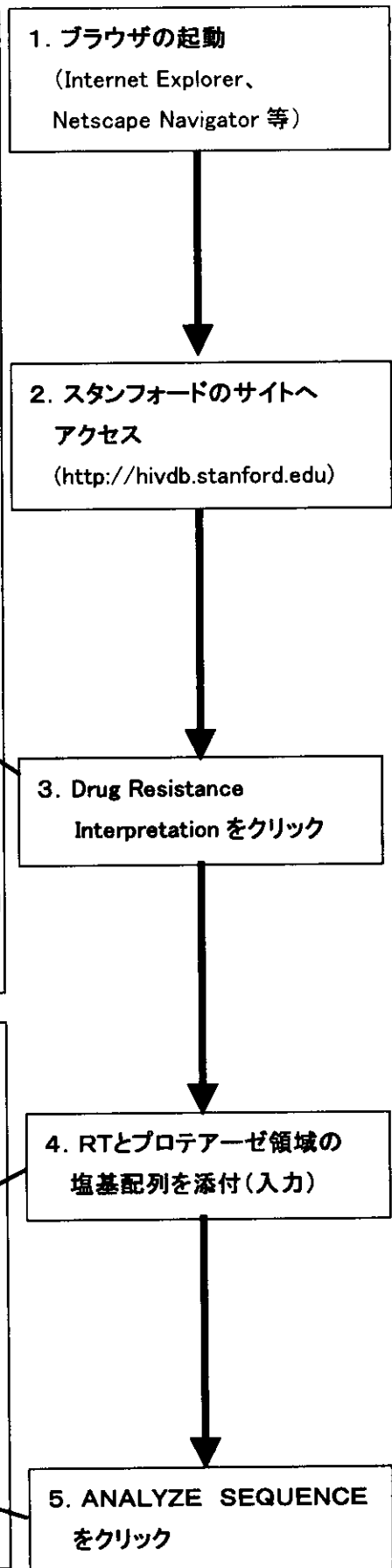


図1. 解析したい塩基配列の入力方法

Drug Resistance Interpretation - Beta Test - Output
 Go back to [main page](#)

SeqID: SampleSequence Date: 3-27-2002

Summary Data
 Sequence includes PR: codons: 1 - 99
 Sequence includes RT: codons: 1 - 400
 There are no insertions or deletions
 Subtype and % similarity to closest reference isolate PR_B (99.56%) RT_B (99.41%)

Sequence Quality Assessment

Gene	QA Problem	Codons
PR	Stop Codons, Frame Shifts	None
PR	B,D,H,V,N	None
PR	Unusual Residues	None
RT	Stop Codons, Frame Shifts	None
RT	B,D,H,V,N	None
RT	Unusual Residues	None

Blue lines indicate differences from consensus B taller blue lines indicate sites commonly associated with drug resistance
 Red lines indicate QA problems

Drug Resistance Interpretation

PR Resistance Mutations: None
 PR Other Mutations: N37S

Protease Inhibitors

APV Susceptible
 IDV Susceptible
 NFV Susceptible
 RTV Susceptible
 SQV Susceptible
 LPV Susceptible

PR Comments: None

Drug Resistance Interpretation

RT Resistance Mutations: M41L, K70R, T215Y
 RT Other Mutations: R83K, K122E, F214L, A272P, K277R, A376T, A400T

Nucleoside RTI		Non-Nucleoside RTI	
AZT	High-level resistance	EFV	Susceptible
DDI	Low-level resistance	DLV	Susceptible
DDC	Low-level resistance	NVP	Susceptible
D4T	Intermediate resistance		
ABC	Intermediate resistance		
3TC	Susceptible		
TDF	Low-level resistance		

RT Comments

- M41L usually occurs with T215Y Together these mutations confer intermediate-to-high level resistance to AZT and D4T and low-level resistance to DDI, ABC, and TDF
- K70R causes low-level AZT resistance
- T215Y/F cause AZT resistance and also limit the effectiveness of D4T, ABC, DDI, DDC, and possibly TDF T215S/C/D represent transitions between the wildtype T and the mutations Y and F
- The classical AZT-resistance mutations (aka Nucleotide Excision associated Mutations (NEMS)) at codons 41, 67, 70, 210, 215, and 219 are associated with resistance to each of the NRTIs with the exception of 3TC. For more detailed information please read the NEMS section in the drug resistance notes.

Mutation Scoring

	APV	IDV	NFV	RTV	SQV	LPV	AZT	DDI	DDC	D4T	ABC	3TC	TDF	EFV	DLV	NVP
Total							M41L	15	5	5	12	10	0	5		
							K70R	20	0	0	0	0	0	5		
							T215Y	25	10	10	25	20	0	10		
							Total	70	15	15	37	30	0	20	0	0

Go back to [main page](#)

1. 検体の名前と日付
2. 添付した塩基配列が含む RTとプロテアーゼ領域
3. ストップコドン、フレームシフト等の表示
4. 薬剤耐性度の算出結果
 - 4-①②. プロテアーゼ領域の変異
 - 4-③. プロテアーゼ阻害剤への耐性度
 - 4-④. プロテアーゼ領域の変異に関するコメント
 - 4-⑤⑥. RT領域の変異
 - 4-⑦. RT阻害剤への耐性度
 - 4-⑧. RT領域の変異に関するコメント
 - 4-⑨. 各薬剤に対する耐性度の算出表

図2. 塩基配列解析結果の説明

◇RT領域耐性関連変異 M41L, K70R, T215Y の場合

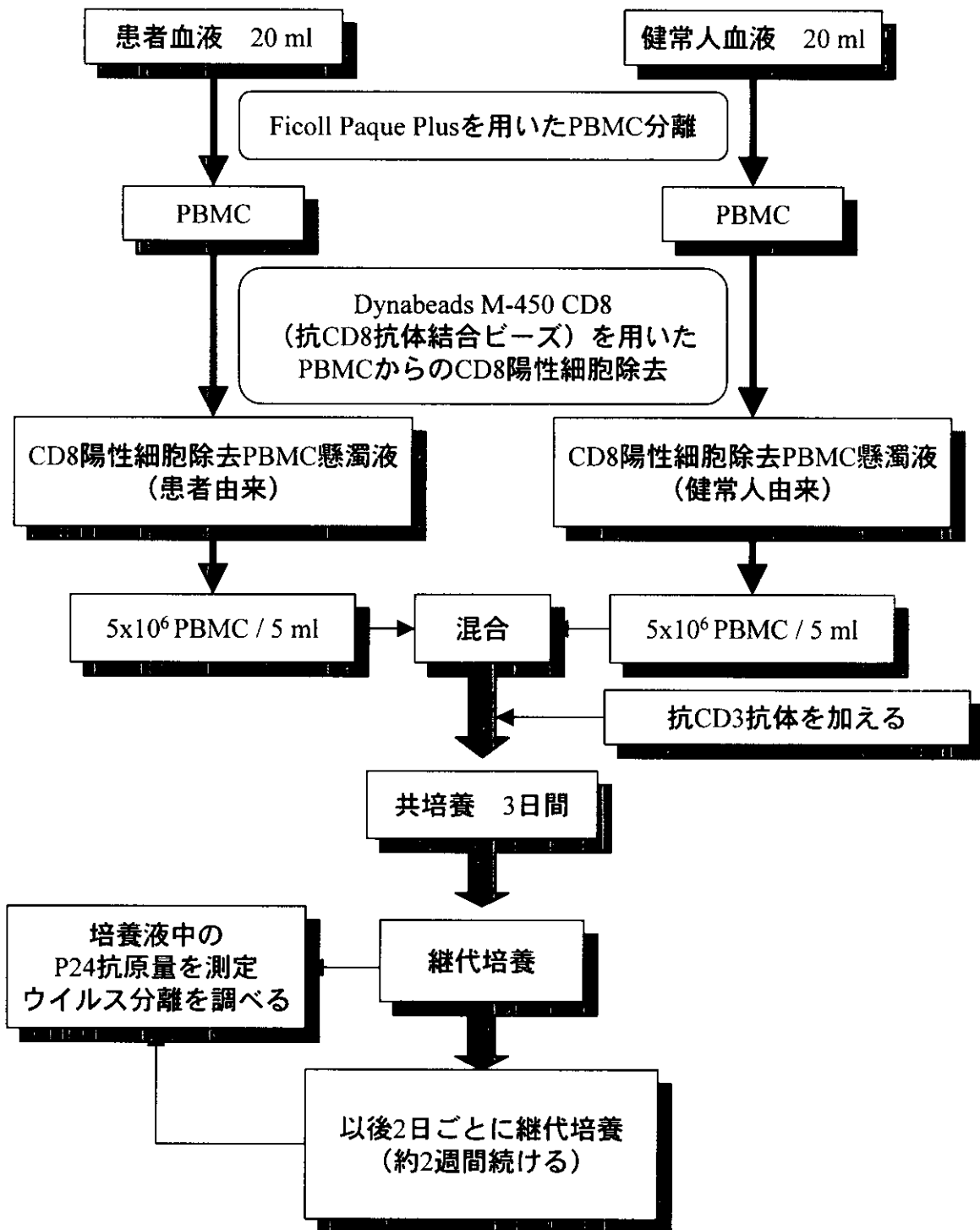
変異部位	AZT	d4T	3TC
M41L	15	12	0
K70R	20	0	0
T215Y	35	25	0
合計	70	37	0 (点)

耐性度	High-level resistance	Intermediate resistance	Susceptible
-----	-----------------------	-------------------------	-------------

0 ~ 9 点	Susceptible
10 ~ 14 点	Potential low-level resistance
15 ~ 29 点	Low-level resistance
30 ~ 59 点	Intermediate resistance
60 点 以上	Hige-level resistance

図3. スタンフォードシステムによる耐性度の算出方法

HIV分離フローチャート



PBMC 共培養による HIV-1 の高効率分離プロトコール

この HIV-1 分離法の特徴

この方法は、抗 CD8 ビーズを用いて健常人 PBMC 及び患者 PBMC から CD8 陽性細胞を取り除き、これらを混合し、抗 CD3 抗体を加え、共培養を開始し、HIV-1 分離を行う。この方法は加藤らによって確立され、血漿中 HIV RNA コピー数が 1000 copies/ml 以上の症例で、80%以上の高効率でウイルス分離が可能である(1)。

試薬

抗凝固剤入りベノジェクト真空採血管 (抗凝固剤として CPD 液 0.8 ml、滅菌、VT-075SCG、テルモ)

PBS(-) (Gibco)

PBS(-) (2% FBS) : PBS(-)に 2% FBS を加える。

Ficoll-Paque PLUS (Amersham Pharmacia Biotech)

Dynabeads M-450 CD8 (Dyna)

rIL-2 (イムネース注 35、シオノギ)

RPMI 1640 Medium (Gibco)

RPMI 1640 (30% FBS) : RPMI 1640 Medium にストレプトマイシン (0.1 µg/ml)、ペニシリン (100 単位/ml)、rIL-2 (70 単位/ml)、FBS (30%) を加える。

抗 CD3 抗体 (CLB-CD3, PeliCluster) : PBS(-)で 50 倍希釈し、500 µl ずつ分注し、凍結保存する。

機器

低速冷却遠心機 (RL-603、TOMY)

MPC (Magnetic Particle Concentrator, Dynal)

CO₂ 培養器 (MIP-3326R, SANYO)

HIV-1 p24 測定用装置 (ミニバイダス、ピオメリュー社)

方法

(1 日目)

健常者 PBMC の準備

- (1) 健常者から 20 ml の静脈血を採血する。
- (2) この血液を、抗凝固剤入りベノジェクト真空採血管に約 5 ml ずつ分注し転倒攪拌する。

- よく混合した後、2,000 rpm(約 960 g)で 10 分間遠心する。
- (3) 血漿部分をトランスファーピペットで取り、別に保存する。
 - (4) この血液に、取り除いた血漿とほぼ等量の PBS(-) (2 3ml/tube) を加えてよく混合する。
 - (5) Ficoll Paque Plus (室温) を 5 ml ずつ 4 本の 15 ml 遠沈管に入れ、その上に PBS(-) で希釈した血液を、Ficoll とほぼ等量静かに重層する。
 - (6) 1,500 rpm(約 540 g)、20°C で 30 分間遠心する。
 - (7) PBMC 層の上層部分を取り除く。
 - (8) 新しい 4 本の 15 ml 遠沈管に 5 ml の PBS(-) (室温に戻しておく) を入れておき、そこへ Ficoll Paque Plus 層の上部にある PBMC 層 (1.5 ml 以下) を加えてよく混ぜる (このとき、10 ml の PBS(-) に 2 本の遠沈管からの PBMC 層を加えてもよい)。
 - (9) 1,200 rpm(約 350 g)、20°C で 15 分間遠心する。
 - (10) 上清を取り除き、5 ml の PBS(-) で細胞を懸濁する。
 - (11) 1,000 rpm(約 240 g)、20°C で 10 分間遠心する (このとき、2 本分の細胞懸濁液を 1 本にまとめてもよい)。
 - (12) 上清を取り除き、5 ml の PBS(-) で細胞を懸濁する。
 - (13) 細胞懸濁液を 1 本にまとめ、この細胞懸濁液を少量取って細胞濃度を計測する。
 - (14) 1,000 rpm、20°C で 10 分間遠心する。
 - (15) 上清を取り除き、(13) で求めた細胞濃度を基に 2×10^7 細胞/ml になるように PBS(-) (2% FBS) で細胞を懸濁する。
 - (16) この細胞懸濁液に 1/7 体積量の Dynabeads M-450 CD8 を加える。Dynabeads は取扱 説明書にしたがい、あらかじめ(2% FBS)で洗浄しておく。
 - (17) 4°C で 30 分間反応させる。5 分ごとにチューブを手で軽くたたいて細胞懸濁液を混ぜる。あるいは、旋回ミキサーを用いて細胞懸濁液を攪拌してもよい。
 - (18) PBS(-) (2% FBS) を 5 ml 加え、静かに懸濁する。
 - (19) MPC にチューブを装着、2 分間静置し、Dynabeads を試験管壁面に吸着させる。
 - (20) 液体部分をトランスファーピペットで取り、新しい 15 ml 遠沈管に移す。
 - (21) 1000 rpm、20°C で 10 分間遠心する。
 - (22) 上清を取り除き、PBMC を 5 ml の RPMI 1640 (30% FBS) で懸濁する。
 - (23) この細胞懸濁液の細胞濃度を計測する。

- (24) この細胞濃度を基に、 1×10^6 細胞/ml になるように RPMI 1640 (30% FBS) を加える。
- (25) すぐに共培養を行わない場合は、培養フラスコに移し、 37°C の CO_2 培養器の中に置いておくことができる (数時間程度)。

感染者 PBMC の調製

HIV 感染者から 20 ml の静脈血を採血する。採血した血液から、(1) (25) で述べた方法で (健常者の場合と同様) PBMC 分離・CD8 陽性細胞の除去の操作を行い、 1×10^6 細胞/ml の PBMC 液を調製する。培養は、なるべく採血当日に開始する。採血後 1 日たつと、分離効率はやや落ちる。

(3) の血漿は血漿中 RNA コピー数測定用にストックする。

(13) の細胞懸濁液の一部を細胞 DNA の調製用にストックする。

共培養

- (1) 5 ml の健常者 PBMC 液 (1×10^6 細胞/ml) と 5 ml の感染者 PBMC 液 (1×10^6 細胞/ml) を培養フラスコ内で混合する。
- (2) 40 μl の抗 CD3 抗体液 (50 倍希釈) を加える。
- (3) 37°C の CO_2 培養器に入れて共培養を開始する。(培養フラスコは培養器中で立てておく)

(4 日目)

- (1) 培養フラスコ内の培養液を新しい 15 ml 遠沈管に移し、この培養液を少量取って細胞濃度を計測する。
- (2) 1,000 rpm、 20°C で 10 分間遠心する。
- (3) 上清を採取し、 -80°C でストックする。
- (4) (1) で計測した細胞濃度を基に、PBMC を RPMI 1640 (30% FCS) に懸濁し、 0.5×10^6 細胞/ml の細胞懸濁液を調製する。
- (5) (4) で調製した細胞懸濁液 10 ml を培養フラスコに移す。
- (6) 37°C の CO_2 培養器に入れて培養を継続する。培養フラスコは立てておく。
- (7) 採取した培養上清の p24 抗原量を測定する (ミニバイダス、ピオメリュー)。
- (8) (5) で残った PBMC は、セルバンカーに懸濁して -80°C で保管する。

以後、2 日ごとに継代培養を続ける。PBMC の増殖が低下してくるため、上清中の p24 抗原量は共培養開始 1 週間 2 週間後にピークとなることが多い。

参考文献

(1) 加藤真吾 他. 薬剤耐性変異の解析法の開発に関する研究. 厚生労働省 厚生科学研究費補助金エイズ対策研究事業 HIV の検査法と検査体制を確立するための研究 平成 13 年度研究報告書. 165-174(2002).

執筆担当

西澤 雅子、斎藤 隆行、今井 光信（神奈川県衛生研究所ウイルス部）
加藤 真吾（慶応大学医学部微生物学教室）

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表
雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fumihiko Yagyu, Yusei Ikeda, Koya Ariyoshi, Wataru Sugiura , Som-Arch Wongkhomthong, Michiaki Matsuda, Hiroshi Ushijima.	Differentiation of Subtype B and E of Human Immunodeficiency Virus type 1 by Polymerase chain reaction Using novel env gene primers.	Journal of Virological Methods	101	11-20	2002
Okano A, Matsuda M, Chiba T, Moriya K, Yamada K, Sugiura W	Discordant movement of CD4-positive T-cell count in HIV-1 infected patients with HAART failure	Jpn J Infect Dis	55(2)	62-5	2002
Myint L, Ariyoshi K, Yan H, Frater AJ, Auwanit W, Pathipvanith P, Yamada K, Matsuda M, Chiba T, Fujita, K, McClure M, Weber JN, Sugiura W	Mutagenically separated PCR assay for rapid detection of M41L and K70R zidovudine resistance mutations in CRF01_AE (subtype E) human immunodeficiency virus type 1.	Antimicrob Agents Chemother.	46(12)	3861-8	2002
Wataru Sugiura , Zene Matsuda, Yoshiyuki Yokomaku, Kurt Hertogs, Brendan Larder, Tsuyoshi Oishi1, Aiko Okano, Teiichirou Shiino, Masashi Tatsumi, Masakazu Matsuda, Hanae Abumi, Noboru Takata, Satoshi Shirahata, Kaneo Yamada, Hiroshi Yoshikura, and Yoshiyuki Nagai.	Interference Between D30N and L90M in Selection and Development of Protease Inhibitor Resistant Human Immunodeficiency Virus Type-1.	Antimicrob Agent Chemothera	46	708-715	2002
Noriko Kobayashi, Hitomi Taguchi- Nakamura, Mieko Goto, Tetsuya Nakamura, Koichiro Nakamura, Wataru Sugiura , Aikichi Iwamoto and Yoshihiro Kitamura.	Polymorphisms and Haplotypes of the CD209L Gene and Their Association with the Clinical Courses of HIV-Positive Japanese Patients.	Jpn.J Infect Dis	55	131-133	2002
L Myint, M Matsuda, Z Matsuda, Y Yokomaku, T Chiba, A Okano, and W Sugiura	HIV-1 Gag cleavage site mutations and non-cleavage site mutations are closely related in viral fitness recovery process.	Antiviral Therapy	7	S63	2002
K Ariyoshi, M Matsuda, H Miura, K Yamada, NS Hellmann, and W Sugiura	Unique drug resistant mutation patterns found in HIV-1 CRF01_AE(subtype E) with antiretroviral treatment failure.	Antiviral Therapy	7	S150	2002

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kato, S., Saito, Y., Tanaka, R., Hiraishi, Y., Kitamura, N., Matsumoto, T., Hanabusa, H., Kamakura, M., Ikeda, Y., Negishi, M.	Differential prevalence of HIV-1 subtype B and CRF01_AE among different sexual transmission groups in Tokyo, Japan, as revealed by subtype-specific PCR.	AIDS Res Hum. Retroviruses	(submitted)		
Tanaka, Y., Kato, S., Tanaka, M., Kuji, N., and Yoshimura, Y	Structure and expression of the human oocyte-specific histone H1 gene elucidated by RT-nested PCR of a single oocyte	Biochem.Biophys. Res.Commun.	304	351-357	2003
Matsuoka-Aizawa S, Sato H, Hachiya A, Tsuchiya K, Takebe Y, Gatanaga H, Kimura S, Oka S.	Isolation and molecular characterization of a nelfinavir (NFV)-resistant human immunodeficiency virus type 1 that exhibits NFV-dependent enhancement of replication.	J.Virol.	77(1)	318-27	2003
Y. Usami, T. Oki, M. Nakai, M. Sagisaka and T. Kaneda.	A Simple HPLC Method for Simultaneous Determination of Lopinavir, Ritonavir and Efavirenz.	Chem.Pharm.Bull.	in press.		
S. Ibe, N. Shibata, M. Utsumi and T. Kaneda.	Selection of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Variants with an Insertion Mutation in the P6gag and P6pol Genes under Highly Active Antiretroviral Therapy.	Microbiol. Immunol.,	47	71-79	2003

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
今井光信、 須藤弘二、 嶋貴子、 西澤雅子、 近藤真規子	日本のHIV感染のEpidemiologyと検査体制	泌尿器外科別冊 2003年2月号		22-28	2003
今井光信	HIV感染症の初期診断のための検査	日本医事新報	4104	98-99	2002
嶋貴子、 今井光信	HIV検査の現場から-HIV検査啓発への試み-	看護実践の科学	28	52-53	2003
嶋貴子、 近藤真規子、 今井光信	ホームページ「HIV検査・相談マップ」の作成と利用状況の解析	病原微生物検出情報	23(5)	116-117	2002
今井光信	HIVスクリーニング検査の陽性数の動向とその解	微生物検出情報	23	111	2002
近藤真規子、 今井光信	日本におけるHIV-1サブタイプ	微生物検出情報	23	111-112	2002
近藤真規子、 今井光信	未治療のHIV感染者における薬剤耐性変異	微生物検出情報	23	112	2002
杉浦 互	HIVのゲノムと薬剤耐性	現代医療	34	153-159	2002
杉浦 互	HIV診断技術と薬物治療の発展	ウイルス	52(1)	83-87	2002
杉浦 互	HIV-1の薬剤耐性検査と臨床的意義	日本臨床	60(4)	703-710	2002
金田次弘、白阪琢磨	HIV-1感染症/エイズ治療遂行のためのモニタリングシステムの構築の進展(シンポジウム記録)	医療	56	727-728	2002
浅黄 司、 伊部史朗、 金田次弘、 鈴木博義、 手塚文明、 西村秀一、 佐藤 功、 山崎孝文	HIV-1薬剤耐性検査の問題点とその克服	医療	56	734-735	2002
金田次弘、 萩原智子、 服部純子、 永井裕美、 内海 眞、 和田かおる	PNA-ISH法によるHIV-1プロウイルス検出法の開発と応用	医療	56	738-740	2002
長岡宏一、 伊藤洋貴、 大木剛、 中井正彦、 鷺坂昌史、 竹田信也、 間宮均人、 宇佐美好子、 金田次弘	プロテアーゼ阻害剤血中濃度の測定の実際	医療	56	741-742	2002
金田次弘、 和田かおる、 萩原智子、 永井裕美、 白阪琢磨	プロウイルスDNA量のマーカーとしての意義	日本臨床	60	694-702	2002
山口剛、 関根大正他	東京都におけるHIV抗体検査へのHIV遺伝子検査導入の検討	日本感染症学会誌	投稿中		
森 治代、 小島洋子、 川畑拓也、 大竹 徹、 大石 功	未治療HIV-1感染者から検出された薬剤耐性関連変異	平成13年度感染症流行予測調査結果報告書	第37報	3-5	2002
山中烈次	献血者血液のNATと導入後のウイルス感染	別冊・医学のあゆみ 輸血の現状と課		23-26	2002

平成14年度 厚生労働省エイズ対策研究事業

「HIVの検査法と検査体制を確立するための研究」報告書

発行日 2003年3月31日

発行者 主任研究者 今井 光信 (神奈川県衛生研究所)

発行所 研究班事務局

神奈川県衛生研究所ウイルス部
〒241-0815 横浜市旭区中尾1-1-1

©2003

編集・構成：須藤弘二 嶋 貴子

印刷 (有)長谷川印刷

本報告書に掲載された論文及び図表には
著作権が発生しておりますので
利用にあたりご注意ください。