

- 蜂谷敦子、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦互.  
次世代シーケンサーIllumina MiSeq による HIV ゲノム解析系の構築 第 15 回白馬シンポジウム 名古屋 2013 年 7 月 19-20 日
10. 松岡和弘、重見麗、大出裕高、蜂谷敦子、服部純子、森下了、澤崎達也、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦互. HIV-1 臨床分離株を用いた Rilpivirine 及び Etravirine に対する交差耐性変異に関する酵素学的な解析 第 15 回白馬シンポジウム 名古屋 2013 年 7 月 19-20 日
  11. 中島雅晶、北村紳悟、黒澤哲平、大出裕高、河村高志、今橋真弓、長縄由里子、横幕能行、渡邊信久、杉浦互、岩谷靖雅. HIV-1 Vif 結合領域を持つ APOBEC3F C 末端側ドメインの構造解析 第 15 回白馬シンポジウム 名古屋 2013 年 7 月 19-20 日
  12. Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, Yokomaku Y, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, Sugiura W, & Iwatani Y. Crystal structure of human APOBEC3C and HIV-1 Vif-binding interface. American Crystallographic Association Annual Meeting. Hawaii, USA, July 20-24, 2013.
  13. Sugiura W. HIV Drug Resistance. Korea, Sep 24-25, 2013.
  14. Shiino T, Sadamasu K, Nagashima M, Hattori J, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W. Nationwide HIV-1 transmission dynamics estimated by molecular evolutionary analysis in Japan. 8th International Workshop on HIV Transmission-Principles of Intervention. Barcelona, Spain, Oct 4-5, 2013.
  15. Ode H, Sugiura W, Yokomaku Y. Molecular dynamics simulations of HIV-1 protease-inhibitor complex with modified charges for catalytic aspartate. 第 51 回日本生物物理学会年会 京都 2013 年 10 月 28-30 日
  16. 今橋真弓、泉泰輔、渡邊大、今村淳治、松岡和弘、佐藤桂、金子典代、市川誠一、小柳義夫、高折晃史、内海眞、横幕能行、白阪琢磨、直江知樹、岩谷靖雅、杉浦互. HIV-1 感染伝播・病勢に対する APOBEC3B 遺伝子型の影響に関する解析 第 67 回国立病院総合医学会 金沢 2013 年 11 月 8-9 日
  17. 齊藤暁、大附寛幸、東濃篤徳、鈴木紗織、松田健太、高橋尚史、松岡佐織、岩谷靖雅、杉浦互、野間口雅子、足立昭夫、保富康宏、俣野哲朗、三浦智行、明里宏文. CCR5 指向性を示す新規サル指向性 HIV-1 はサル個体に持続感染する 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013 年 11 月 20-22 日
  18. 大出裕高、松岡和弘、松田昌和、根本理子、蜂谷敦子、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦互. 次世代シーケンサーIllumina MiSeq による HIV ゲノム配列の網羅的解析システムの構築 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013 年 11 月 20-22 日
  19. Michailidis, Yee Tsuey Ong, 岡慎一, Michael A. Parniak, 前島雅美, 松岡和弘, 岩谷靖雅. KyeongEun Lee, Vineet N. KewalRamani, Kamalendra Singh, 杉浦互, Stefan G. Sarafianos カプシドと核膜移行を標的とした低分子化合物の開発とその作用機序の解明 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013 年 11 月 20-22 日
  20. 保坂真澄、藤崎誠一郎、服部純子、椎野禎一郎、松田昌和、蜂谷敦子、重見麗、岡崎玲子、岩谷靖雅、濱口元洋、横幕能行、杉浦互. 東海地域で見いだされた新たな CRF01\_AE/B リコンビナント HIV-1 株 第

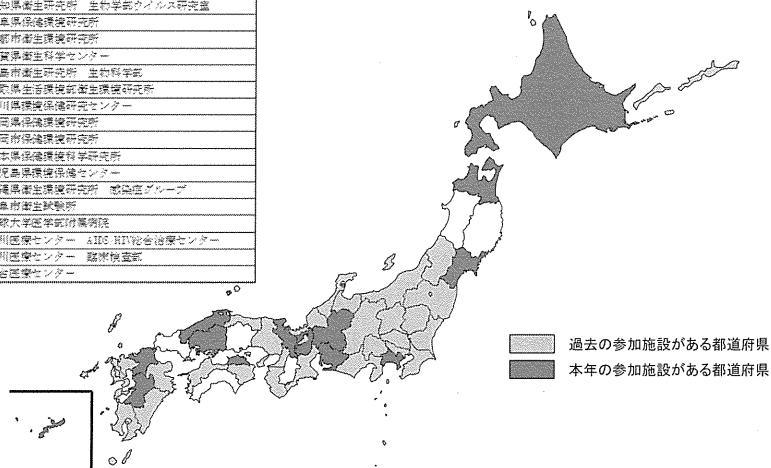
- 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013年11月20-22日
21. 中島雅晶、北村紳悟、大出裕高、河村高志、今橋真弓、長縄由里子、黒沢哲平、横幕能行、渡邊信久、杉浦互、岩谷靖雅. APOBEC3F C 末端側ドメインの構造解析と HIV-1 Vif 結合インターフェイス 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013年11月20-22日
22. 齊藤暁、大附寛幸、東濃篤徳、鈴木紗織、松田健太、高橋尚史、松岡佐織、岩谷靖雅、杉浦互、野間口雅子、足立昭夫、保富康宏、俣野哲朗、三浦智行、明里宏文. CCR5 指向性を示す新規サル指向性 HIV-1 はサル個体に持続感染する 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013年11月10-12日
23. 今橋真弓、泉泰輔、渡邊大、今村淳治、松岡和弘、正岡崇志、佐藤桂、金子典代、市川誠一、小柳義夫、高折晃史、内海眞、横幕能行、白阪琢磨、直江知樹、杉浦互、岩谷靖雅. 宿主防御因子 APOBEC3B の遺伝子欠損による HIV-1 感染伝播・病勢への影響に関する研究 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013年11月10-12日
24. 蜂谷敦子、Christie Pautler、Jennifer Moran、Sanath Janaka、Karen A. Kirby、Eleftherios Michailidis、Yee Tsuey Ong、岡慎一、Michael A. Parniak、前島雅美、松岡和弘、岩谷靖雅、KyeongEun Lee、Vineet N. KewalRamani、Kamalendra Singh、杉浦 互、Stefan G. Sarafianos. カプシドと核膜移行を標的とした低分子化合物の開発とその作用機序の解明 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 熊本 2013年11月20-22日
25. 大出裕高、松岡和弘、松田昌和、根本理子、蜂谷敦子、横幕能行、岩谷靖雅、杉浦互. 次世代シーケンサーIllumina MiSeq による微少集族薬剤耐性 HIV の網羅的検出システムの構築 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013年11月10-12日
26. 北村紳悟、中島雅晶、黒沢哲平、大出裕高、河村高志、今橋真弓、長縄由里子、真野由有、横幕能行、渡邊信久、杉浦互、岩谷靖雅. 抗HIV-1宿主因子APOBEC3FのVif結合領域に関する構造学的解析 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 神戸 2013年11月10-12日
27. 中島雅晶、北村紳悟、黒沢哲平、大出裕高、河村高志、真野由有、今橋真弓、長縄由里子、横幕能行、渡邊信久、杉浦互、岩谷靖雅. APOBEC3F タンパク質上の HIV-1 Vif 結合領域の同定と構造学的解析 第 36 回日本分子生物学会 神戸 2013年12月3-6日
28. 細羽恵理子、鈴木匡弘、杉浦互. 国内で分離された *Acinetobacter baumannii* の MLST による系統解析 第 25 回日本臨床微生物学会 名古屋 2014年2月1-2日

表1 講義・実習内容

講義
系統樹解析とサブタイピング
HIV-1の診断～臨床の現場から
HIV検査法update
シーケンスの原理
HIV検査法概要
HIVの遺伝子検査
HIV-1感染症治療と薬剤耐性
日本におけるHIV/AIDSの現状
HIVの動向(東京)
HIVの動向(大阪)
HIVの基礎知識
実習
薬剤耐性検査
KK-TaqMan

図1 参加施設一覧

氏名	所属
1 伏摩明子	北海道立衛生研究所 感染伝病学シナシ
2 吉川紗紀香	青森県保健医療センター
3 竹内恵美	福井県立福井中央総合センター
4 中村保尚	岩手県衛生研究所
5 中村結子	愛知県衛生研究所 生物学的ウイルス研究室
6 山口智博	岐阜県保健医療研究所
7 栗辺正典	京都府衛生医療研究所
8 山田智徳	奈良県衛生科学センター
9 藤井愛樹	和歌山県立研究所 生物科学部
10 佐倉中喜	鳥取県立保健医療衛生研究所
11 寺嶋由佳理	香川県保健医療センター
12 藤原光彦	福岡県保健医療研究所
13 吉川高直	福岡県保健医療研究所
14 吉岡隆士	熊本県保健医療科学研究所
15 渡辺田隆代	鹿児島県保健医療センター
16 藤原尚子	沖縄県立保健医療研究所 感染病グループ
17 日比野美菜	岐阜県立試験所
18 渡嘉敷良乃	琉球大学医学部附属病院
19 斎藤美智子	九州医療センター AIDS HIV検査治療センター
20 櫻田飛香	九州医療センター 臨床検査部
21 佐藤智敏	徳島医療センター





## 17. HIV-1 遺伝子検査法「KK-TaqMan」の地方衛生研究所への普及・

### 技術支援と実施状況

研究分担者 近藤真規子（神奈川県衛生研究所）

協力研究者 佐野貴子、岡部英男（神奈川県衛生研究所）、  
岩室紳也（厚木市立病院）、吉村幸浩、立川夏夫（横浜市立市民病院）、  
井戸田一朗（しらかば診療所）、山中晃（新宿東口クリニック）、  
今井光信（田園調布学園大学）  
須藤弘二、加藤真吾（慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室）

#### 研究要旨

血中 HIV-1 RNA 測定は保健所等の HIV 無料匿名検査での確認検査において重要な検査の一つである。確認検査の多くは地方衛生研究所（地研）で行われており、感染初期を判定する HIV 遺伝子検査（NAT）として市販のキットを用いていたが、キットの改良に伴い、高価な専用機器の購入が必要になったため、全国の地研での実施が困難になった。

我々は、全国での保健所等における HIV 検査レベルの維持・向上のため、HIV-1 遺伝子検査法（KK-TaqMan）を開発し、全国の地研を対象に技術支援を行っている。KK-TaqMan の普及・技術支援の実施状況および確認検査として NAT 検査の必要性について報告する。

#### 1. KK-TaqMan の地方研究所への普及・技術支援と実施状況

感染者の多い地域を中心に技術支援を行い、2012 年末現在で、15 か所の地研（北海道（札幌市分も実施）、福島県、栃木県、埼玉県、東京都、神奈川県、横浜市、川崎市、大阪府（堺市、東大阪市分も実施）、大阪市、福岡市、大分県）で NAT 検査として KK-TaqMan を実施している。2013 年度は 17 か所の地研を対象に KK-TaqMan 法の研修を実施した。

#### 2. 確認検査における HIV 遺伝子検査の重要性

スクリーニング検査陽性、HIV-1 遺伝子検査陽性で、WB 法が陰性、あるいは判定保留となった感染初期 14 検体を用いて、スクリーニング検査法と WB の感度を比較した（表 1）。14 検体はすべて 4 種類のスクリーニング検査で陽性と判定されたが、WB では 3 検体が陰性、11 検体が判定保留であった。最近のスクリーニング検査は従来に比べ格段の進歩を遂げ、感度が非常に良くなっているが、WB の感度は従来のみでスクリーニング検査に比べ劣るため、WB が陰性や判定保留の場合は NAT 検査をする必要がある。

HIV 検査目的の受検者でスクリーニング検査陽性、かつ HIV-1 WB 陽性の 546 例について、NAT 検査、コバス TaqMan を実施した結果、NAT 検査陰性と判定された症例が 6 例（ver. 1.0 4 例/357 例、ver. 2.0 2 例/189 例）確認された。感染初期を見出す NAT 検査は確認検査として今後ますます重要となるが、WB、NAT 検査それぞれの特徴を理解して検査を進めていくことが重要である。

#### A. 研究背景と目的

全国の各自治体で行っている保健所等の HIV 無料匿名検査において確認検査のほとんどは各自治体の運営する衛生研究所（地研）

が行っていたが、最近では民間検査センターに依頼する自治体も多くなっている。

地研での確認検査では、まず抗体確認検査であるウエスタンブロット法（WB 法）が実施

されることが多いが、WB 法はスクリーニング検査に比べ感度が低く、WB 法陰性、あるいは判定保留の場合は、感染初期の可能性があるため、HIV 遺伝子検査（核酸増幅検査：NAT）を実施する必要がある。

従来、地研では NAT 検査として市販のキット（アンプリコア HIV-1、ロシュ・ダイアグノスティックス）を用いていたが、キットの改良に伴い専用の高額な機器が必要となったため、地研での NAT 検査が困難になった。そこで、我々は 2011 年までの研究班において、汎用リアルタイム装置を用いた HIV-1RNA 測定法（以下、KK-TaqMan）を開発し、地研への NAT 検査導入のため技術支援を行い、いくつかの地研では KK-TaqMan が確認検査として実施できるようになった。

一方、WB 法の結果のみで、NAT 検査を実施していない自治体等もあり、WB 法陰性、判定保留の場合には結果説明が非常に重要となる。

我々は、全国での保健所等における HIV 検査レベルの維持・向上のため、全国の地研を対象に実施した HIV-1 遺伝子検査法の技術支援の状況および確認検査としての NAT 検査の重要性について報告する。

## B. 研究方法

### 1. 地方衛生研究所への KK-TaqMan の普及と技術支援

2009 年 10 月から、スクリーニング検査に NAT を導入している地研（神奈川県衛生研究所、横浜市衛生研究所、川崎市衛生研究所、大阪府公衆衛生研究所）で KK-TaqMan の検討を開始し、2010 年からは地方衛生研究所 HIV 検査グループ会議、全国衛生微生物技術協議会等において、KK-TaqMan 法を公開し、導入希望機関に操作マニュアル、コントロール HIV-1RNA を送付し、KK-TaqMan 法の技術移管を行った。

また、病原体検出マニュアル（全国衛生微生物協議会で監修）の「エイズ/HIV 感染症」

改定版に KK-TaqMan 法を掲載した。

毎年地研および拠点病院検査担当者を対象に実施している HIV 技術研修会（本研究班と薬剤耐性研究班との共同共催）において、KK-TaqMan の実習を行った。

### 2. 確認検査における HIV 遺伝子検査の重要性

各種 HIV スクリーニング検査法と WB 法 HIV 遺伝子検査法の感度比較を行った。

#### 1) 検体

2008 年 4 月～2013 年 12 月に民間クリニック等で即日検査を実施し、確認検査で陽性と判定された 546 検体。

#### 2) スクリーニング検査法

迅速検査（イムノクロマト法）：ダイナスクリーン HIV-1/2（アリーアメディカル）、エスプライン Ag/Ab（富士レビオ）

PA 法（凝集法）：ジェネディア HIV-1/2Mix、セロディア HIV-1/2（富士レビオ）

抗原抗体同時検査法：VIDAS DUO II（シスメックス・ビオメリュー）

#### 3) 確認検査法

WB：ラブプロット 1,2（バイオラッド）

HIV 遺伝子検査：コバス TaqMan HIV-1（コバス TaqMan：ロシュ・ダイアグノスティックス）

（倫理面への配慮）

HIV 抗体検査、遺伝子の解析については主治医から患者に研究内容を説明し同意を得ている。患者名は記号化して扱っており、プライバシーの流出防止など患者の人権保護に十分配慮した。なお、本研究は当研究所の倫理委員会で承認されている。

## C. 結果および考察

### 1. 地方研究所への KK-TaqMan の普及と技術支援（表 1）

NAT スクリーニング検査を導入している横

浜市衛生研究所、川崎市衛生研究所、大阪府立公衆衛生研究所、神奈川県衛生研究所の4施設については、KK-TaqManの検討を2009年10月より行い、2010年4月以降はこれら4施設での対応が可能となった。

次に地方衛生研究所 HIV 検査グループに属している東京都健康安全研究センター、北海道立衛生研究所、福岡県保健環境研究所において、2010年1月からKK-TaqMan導入のための検討を開始し、3施設共に良好な標準曲線が得られており、コバス TaqMan ver. 1.0 と KK-TaqMan の測定値間には良好な相関が得られた (HIV 検査相談機会の拡大と質的充実に関する研究、総合研究報告書「平成 18～20 年度」参照)。

KK-TaqMan の基礎的検討において、リアルタイム PCR 装置はアプライドバイオシステムズ (ABI) の 7900 HT、Step One Plus の 2 機種を使用した。各施設での検討の結果、ABI の 7500 通常モード、ロシュ・ダイアグノステイクスの Light Cycler 480 においても良好な結果が得られた。

この他、2010年3月以降順次、NAT 検査導入を希望する福島県衛生研究所、埼玉県衛生研究所、鹿児島県環境保健センター、大分県衛生環境研究センター、富山県衛生研究所で、2011年以降は、千葉県衛生研究所、静岡県環境衛生科学研究所、栃木県保健環境センター、名古屋市衛生研究所、尼崎市立衛生試験所に操作マニュアル、コントロール RNA を送付し、検討を行った。

その結果、2012年末には15か所の地研(北海道(札幌市分も実施)、福島県、栃木県、埼玉県、東京都、神奈川県(藤沢市分も実施)、横浜市、川崎市、大阪府(堺市、東大阪市分も実施)、大阪市、福岡市、大分県)でKK-TaqManを実施出来るようになった。

また、2011年、2012年には横須賀市健康安全科学センター、相模原市衛生試験所、川崎市衛生研究所の検査担当者を対象に、神奈川

県衛生研究所において技術研修を行った。

H25年度 HIV 技術研修会(平成25年10月31日から11月2日、名古屋医療センターで開催)において、17地研(北海道、青森県、横須賀市、愛知県、名古屋市、岐阜県、岐阜市、京都市、滋賀県、広島市、鳥取県、香川県、福岡県、福岡市、熊本県、鹿児島県、沖縄県)の参加者に対し技術研修を行った。

後日、広島市、鳥取県から導入を検討したいとの申し入れがあり、コントロール RNA を送付した。

本法の詳細については国立感染症研究所ホームページの「病原体検出マニュアル、エイズ/HIV 感染症」をご覧ください。

## 2. 確認検査における HIV 遺伝子検査 (NAT) の重要性

HIV 検査はスクリーニング検査と確認検査の2段階で行われ、スクリーニング検査陽性の場合には確認検査を実施、HIV 感染の有無を判定する(図1、2)。

スクリーニング検査陽性、HIV-1 遺伝子検査陽性で、WB 法が陰性、あるいは判定保留となった感染初期14検体を用いて、スクリーニング検査法と WB 法の感度を比較した(表2)。14検体はすべて4種類のスクリーニング検査で陽性と判定されたが、WB では3検体が陰性、11検体が判定保留であった。

最近のスクリーニング検査は従来に比べ格段の進歩を遂げ、感度が非常に良くなっている。しかし、WB 法の感度は従来のみスクリーニング検査に比べ劣るため、WB 法が陰性や判定保留の場合は遺伝子検査を実施しなければならない(図2、表2)。一方、WB 法の特異性は高く、WB 陽性の場合には NAT 検査を実施しなくても HIV 陽性と判定できる。

平成 22-23 年に全国の地研を対象に行ったアンケートでは、確認検査に WB 法のみ実施している施設は 41 施設、WB 法と遺伝子検査の両方実施施設 15 施設、民間委託が 9 施設であ

った（回収率：65/79=82.3%）。

遺伝子検査を実施していない施設での結果返しについて、WB法が判定保留、陰性の場合には病院での検査を勧める等の回答が1施設あったが、40施設については把握できていない。民間委託検査を含めた結果返しについて、来年度以降調査したいと考えている。

スクリーニング検査陽性、かつ HIV-1 WB陽性の546検体（2008年4月～2013年12月）について、NAT検査であるコバスTaqManを行った結果、陰性と判定された症例が ver. 1.0（検出限界： $<40$  コピ-/ml）で4例（4/357=1.1%）、ver. 2.0（検出限界： $<20$  コピ-/ml）で2例（2/189=1.1%）確認された。

感染初期の判定において遺伝子検査は極めて重要である。しかし、急性感染時に血液中に増殖したウイルスは抗体が産生されると減少し、数か月以内に一定のレベルまで低下する。このレベルをセットポイントと呼ぶが、セットポイントの期間のウイルス量は個体によって異なり、この時期にNAT検査を実施してもHIV遺伝子を検出できないこともある。また、プライマーやプローブの塩基配列とHIV遺伝子の塩基配列にミスマッチがあると、陰性（検出限界以下）と判定されることがあり、このような場合の確認検査にはWB法が有効である。

民間クリニック等では感染初期患者の受診が増加しており、保健所等の無料匿名検査での確認検査として、NAT検査は今後ますます重要となるが、WB陽性の時期に血液中ウイルスが検出できないことがあることも理解して、検査を進めていく必要がある。

## D. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Kondo M, Lemey P, Sano T, Itoda I, Yoshimura Y, Sagara H, Tachikawa N, Yamanaka K, Iwamuro S, Matano T, Imai M, Kato S, Takebe Y; Emergence in

Japan of an HIV-1 variant associated with transmission among Men Who have Sex with Men (MSM) in China: First indication of the international dissemination of the Chinese MSM lineage. *J. Virol.* 87 (10), 5351-5361, 2013.

2) 鈴木理恵子、近藤真規子他：神奈川県の風疹流行状況と麻疹疑い患者からの風疹ウイルスの検出：病原微生物検出情報、34 (4)、96-97、2013。

3) 近藤真規子、佐野貴子、今井光信、加藤真吾：保健所等における無料匿名HIV検査の現状とその課題：病原微生物検出情報、34 (9)、253-254、2013。

4) 鈴木理恵子、木村睦未、金城恵子、近藤真規子、丹羽加代子：麻しん疑い患者からの風疹ウイルス検出状況と遺伝子解析、神奈川県衛生研究所研究報告、43、10-13、2013。

### 2. 学会発表

1) 武部豊、近藤真規子、内藤雄樹：中国におけるHIV-1 CRF01\_AE流行を形成するファウンダー株の同定：我が国および周辺アジア諸国における流行との相互関係の解析、第61回日本ウイルス学会学術集会（2013年11月10～12日、神戸）。

2) 鈴木理恵子、渡邊寿美、佐野貴子、近藤真規子：神奈川県における風疹ウイルス検出状況と遺伝子解析、第61回日本ウイルス学会学術集会（2013年11月10～12日、神戸）。

3) 近藤真規子、佐野貴子、井戸田一朗、吉村幸浩、立川夏夫、山中晃、岩室紳也、今井光信、武部豊、加藤真吾：中国のMSM間で大流行しているHIV-1CRF01\_AE variantの日本への流入、第27回日本エイズ学会学術集会（2013年11月20～22日、熊本）。

4) 井戸田一朗、星野慎二、佐野貴子、近藤真規子、金子典代：ハッテン場におけるHIV感染リスク低減に向けた意識行動調査、第27回日本エイズ学会学術集会（2013年11



月 20～22 日、熊本)。

(2013 年 9 月 26～27 日、千葉市)。

- 5) 武部豊、近藤真規子：中国における CRF01\_AE 流行の動因となっているファウンダー株の分析：我が国および周辺アジア諸国における流行との相互関係、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 6) 椎野禎一郎、近藤真規子、杉浦互 他：国内感染者集団の大規模塩基配列解析 4：サブタイプと感染リスクによる伝播効率、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 7) 佐野貴子、井戸田一朗、川畑拓也、千々和勝己、須藤弘二、近藤真規子、今井光信、加藤真吾：民間クリニックにおける HIV 即日検査の導入支援および結果解析、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 8) 須藤弘二、佐野貴子、近藤真規子、今井光信、加藤真吾：HIV 郵送検査に関する実態調査と検査精度調査（2012）、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 9) 山崎さやか、近藤真規子、加藤真吾：リアルタイム PCR を用いた HIV-1 と HIV-2 の同時検査法の開発、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 10) 重見麗、近藤真規子、杉浦互 他：新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の動向、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 11) 渡邊寿美、佐野貴子、伊達佳美、近藤真規子、黒木俊郎、2012/2013 シーズンの神奈川県におけるインフルエンザ検出状況、第 28 回関東甲信静支部ウイルス研究部会、（2013 年 9 月 26～27 日、千葉市）
- 12) 鈴木理恵子、木村睦未、近藤真規子、黒木俊郎、神奈川県における麻疹疑い患者からの風疹ウイルス検出状況と遺伝子解析、第 28 回関東甲信静支部ウイルス研究部会、

表1 HIV-1遺伝子検査法(KK-TaqMan)の地方衛生研究所への技術支援

◆ 実施施設(15施設)

北海道立衛生研究所(札幌市衛生研究所)、福島県衛生研究所、  
 栃木県保健環境センター、埼玉県衛生研究所、  
 東京都健康安全研究センター、神奈川県衛生研究所、横浜市衛生研究所、  
 川崎市健康安全研究所、大阪府立公衆衛生研究所(堺市衛生研究所、  
 東大阪市環境衛生検査センター)、大阪市立環境科学研究所、  
 福岡県保健環境研究所、大分県衛生環境研究センター、

◆ 導入検討施設(7施設)

千葉県衛生研究所、相模原市衛生試験所、静岡県環境衛生科学研究所、  
 名古屋市衛生研究所、富山県衛生研究所、尼崎市立衛生試験所、  
 鹿児島県環境保健センター

◆ H25年度技術研修参加施設(17施設)

北海道、青森県、横須賀市、愛知県、名古屋市、岐阜県、岐阜市、  
 京都市、滋賀県、広島市、鳥取県、香川県、福岡県、福岡市、熊本県、  
 鹿児島県、沖縄県

図1 HIV感染とウイルスマーカー

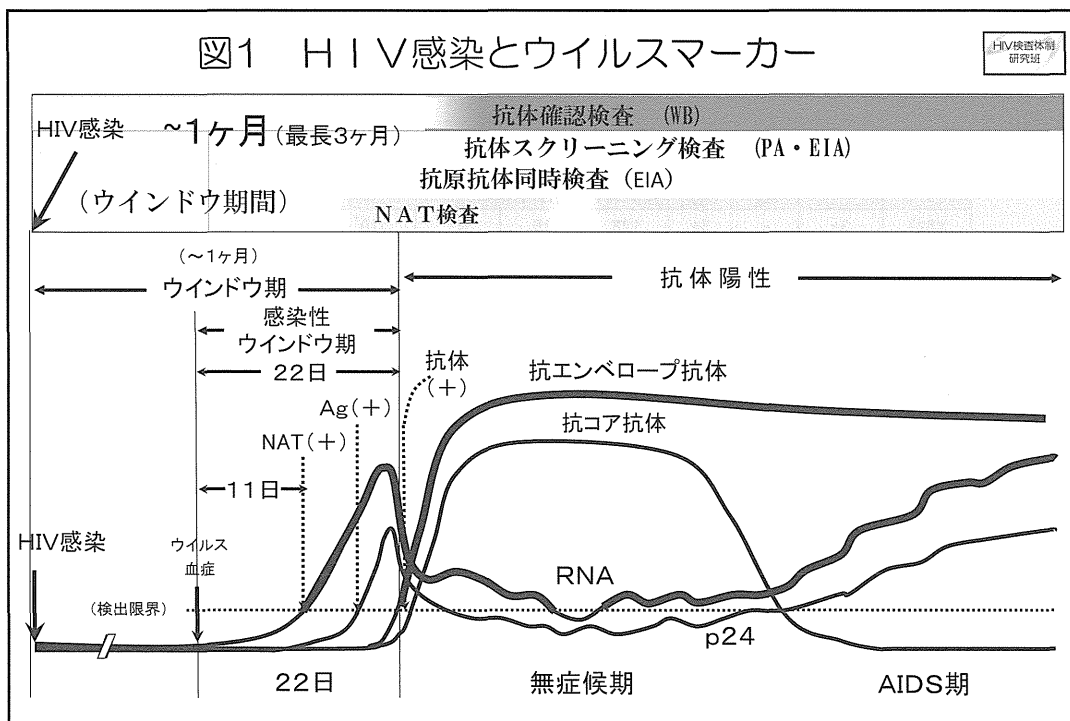


図2 HIVスクリーニング検査実施フローチャート

HIV検査体制  
研究班

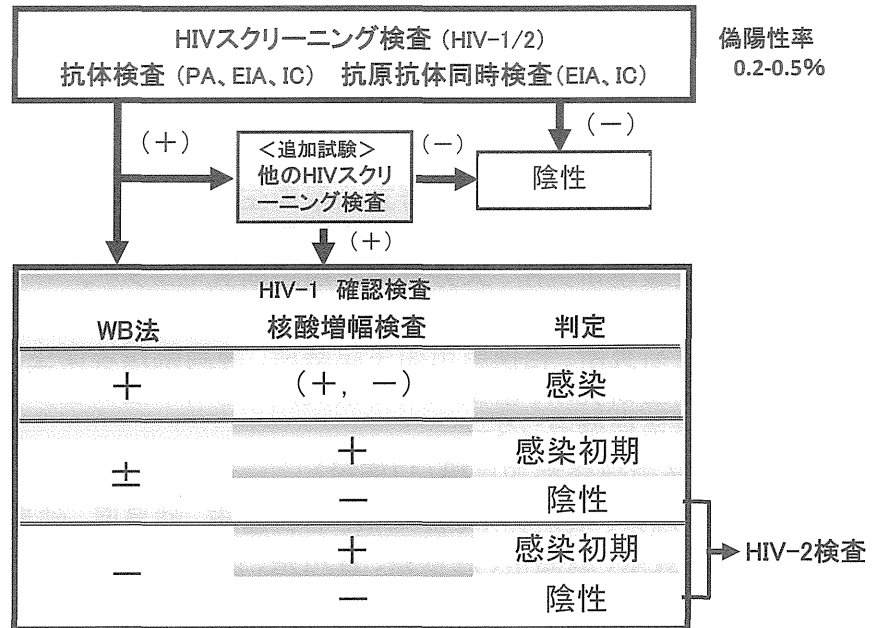


表2 スクリーニング検査法とWB法の感度比較

検体番号	ダイナスクリーン	エスブライン		PA		VIDAS DUOII*	HIV-1 RNA#	WB
		Ag	Ab	HIV-1/2	HIV-1			
Y527	3+	-	3+	128	16	NT	>10 <sup>7</sup>	-
GM3176	+/-	-	3+	256	-	+(7.4)	3.0X10 <sup>6</sup>	±(p18)
GM3197	3+	-	+	1280	64	+(6.5)	2.0X10 <sup>6</sup>	±(GP160,p55,p25)
GM3330	3+	-	3+	2560	320	+(5.8)	3.2X10 <sup>6</sup>	±(GP160,p55,p25)
GM3411	3+	-	+	10240	64	+(14.4)	>10 <sup>7</sup>	±(GP160,p55,p25)
GM3421	+	-	+	32	-	+(19.4)	>10 <sup>7</sup>	±(p25)
GM3654	3+	NT	NT	1024	64	+(3.4)	92000	±(GP160,p55,p25)
GM3700	3+	NT	NT	128	4	+(2.8)	5.0X10 <sup>5</sup>	-
GM3728	3+	-	+	128	32	+(2.3)	390	±(GP160,p55,p25)
GM3756	3+	-	+	64	32	+(18.7)	9.1X10 <sup>6</sup>	±(GP160,p25)
GM3820	3+	-	+	1024	512	+(13.3)	3.6X10 <sup>6</sup>	±(GP160,p55,p40,p25)
GM4069	+	-	+	8	2	+(18.4)	>10 <sup>7</sup>	-
GM4070	2+	-	3+	64	4	+(3.5)	4.7X10 <sup>5</sup>	±(GP160,p55,p25)
GM4090	2+	-	3+	1024	256	+(12.7)	2200	±(GP160,p55,p25,p18)

\*抗原抗体同時検査法、#コバスTaqManHIV-1、copies/ml

## 18. 日本で流行している HIV の遺伝子解析

研究分担者 近藤真規子（神奈川県衛生研究所）  
協力研究者 佐野貴子（神奈川県衛生研究所）、  
岩室紳也（厚木市立病院）、吉村幸浩、立川夏夫（横浜市立市民病院）、  
井戸田一朗（しらかば診療所）、山中晃（新宿東口クリニック）、  
今井光信（田園調布学園大学）  
須藤弘二、加藤真吾（慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室）

### 研究要旨

HIV 検査法、特に遺伝子検査法の信頼性を確保し、問題点については素早い対応策を講じられるように、日本で流行している HIV の遺伝子型の特徴について解析している。最近の注目すべき HIV 遺伝子の特徴について報告する。

2004 年から 2012 年に登録された HIV-1 感染者 581 例についてウイルス遺伝子の解析を行った結果、MSM あるいは感染経路不明の日本男性 9 名から、中国の MSM 間で大流行している CN. MSM. 01-1 バリエントを検出した。これらバリエントの日本の MSM 集団への播種は 2006～2009 年と推定された。また、同時に日本の MSM 集団に広く浸淫している欧米型サブタイプ B との間で共感染、あるいは組み換えが起こっていることが明らかになった。日本国内で組換えウイルス形成が進んでいると考えられ、集団内のリスク行動、感染ネットワークが組換えウイルスを生むような状況にあることが示唆された。

HIV-1RNA 定量法、KK-TaqMan に低反応性検体が 1 例（サブタイプ C）見つかった。解析の結果、KK-TaqMan 法の forward primer の 3' 末端から 2 番目塩基の A から C への変異が原因であると考えられた。この変異の検出率を Los Alamos データベースで解析したところ、サブタイプ B で 0.03%、サブタイプ C で 0.06% であった。PCR を原理とする方法では、変異の影響を完全に避けることはできないため、確認検査の場合は、抗体検査の結果と併せて判断し、状況によっては時期をずらした再検査が必要である。

### A. 研究背景と目的

日本における HIV/AIDS 報告数は年々増加し、2008 年には検査数および報告数ともにピークを迎え、HIV 感染者 1126 名、AIDS 患者 431 名となった。その後 2009 年の新型インフルエンザの大流行、2011 年の東日本大震災の影響等により、2012 年の保健所等での検査数は 2008 年に比べ 26% 減少したが、陽性数は 469 名で 6.4% 減に過ぎなかった。

エイズ動向委員会での HIV 感染者報告数は 11% 減少（2008 年比）し 1002 名であったが、AIDS 患者数は若干増加しており、2008 年以降

若干減少したものの、毎年 1500 名程度の患者・感染者が報告されている。

HIV 感染者の増加を防ぐためには、感染者の早期発見、早期治療が重要であり、HIV 検査体制の一層の充実が求められている。中でも感染初期の確認や患者病態を把握するためには HIV 遺伝子検査が重要な役割を担っている。遺伝子検査は、PCR を原理とする方法が広く使用されているため、ウイルスの変異によっては感染していても遺伝子が検出されないことも予測される。そのため、通常から流行している HIV 遺伝子の特徴を把握しておく

ことは重要である。

我々は以前より日本で流行している HIV の遺伝子型解析を行っているが、最近興味深い知見が得られている。注目すべき HIV 遺伝子の特徴について報告する。

## B. 研究方法

### 1. 試料

2004 年から 2012 年に主として神奈川県および東京都内の医療機関に来院した新規 HIV 感染者 581 名の血液を用いた。

### 2. サブタイプ解析

主としてプロテアーゼ (PR)、RT、インテグラーゼ (IN)、env C2V3 の領域を用いてサブタイプを判定したが、必要に応じて他領域の解析も行った。

患者血液より HIV-1 遺伝子を抽出し、PCR で増幅後、ダイレクトシーケンシング法 (BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit: アプライドバイオシステムズ) により塩基配列を決定した。Neighbor-joining 法による系統樹を作成し遺伝子型の解析を行った。

### 3. HIV-1RNA 測定法増幅領域の遺伝子解析

感染者 216 例について HIV-1 遺伝子の gag 領域の塩基配列を決定し、市販の定量キット、コバス TaqMan HIV-1 (ロシュ・ダイアグノスティックス社、コバス TaqMan と略す) と KK-TaqMan 法 (in house 法、当研究班で開発) 増幅領域について解析した。

(倫理面への配慮)

HIV 遺伝子の解析については主治医から患者に研究内容を説明し同意を得ている。患者名は記号化して扱っており、プライバシーの流出防止など患者の人権保護に十分配慮した。なお、本研究は当研究所の倫理委員会で承認されている。

## C. 結果および考察

### 1. 中国 MSM 間で大流行している HIV-1 バリ

### アートの流入

2004 年から 2012 年に得られた HIV 感染者 581 名の血液を用いて感染経路別にサブタイプの解析を行った (図 1、2)。581 例中サブタイプ B が最も多く 83% (482 例) を占め、次いで CRF01\_AE (01AE) が 11% (65 例)、B と 01AE の組み換え (B/01AE) が 1.7% (10 例)、その他、僅かではあるがアフリカ由来のサブタイプ A、C、D、G、CRF02\_AG、南米由来のサブタイプ F 等が検出された。感染経路は男性同性間性行為感染 (MSM) が 51%、不明 28%、異性間性行為 20%、その他 1% であった (図 1)。

581 例中 509 例が日本人で、MSM および感染経路不明の 86% は日本男性であった。これらの遺伝子型は 98% がサブタイプ B であったが、少数ながら B/01AE、01AE も検出された (図 2)。

MSM および感染経路不明の日本男性における 01AE について年毎の検出率を表 1 に示した。01AE の検出率は 2004 年から 2009 年では 1.8% (4/218) に過ぎなかったが、2010 年から 2012 年では 8.5% (19/223) で有意に増加した ( $P < 0.01$ )。

これらリスクグループの日本男性における 01AE 増加の要因を探るため、中国および近隣諸国の遺伝子情報を Los Alamos データベースから抽出し、系統樹解析を行った結果を表 2 に示した。2010 年から 2012 年に検出された 01AE 19 例のうち 9 例から中国由来バリエーションが検出された。近年中国の MSM 間では 01AE が大流行しており、これらの 95% 以上は 2 種類のクラスターに分類されている。9 例は全てクラスター、CN. MSM. 01-1 に一致し、このうち 2 例はサブタイプ B との共感染、あるいは組み換え体であった。9 例は系統学上、枝の長さが非常に短いサブクラスターを形成しており、CN. MSM. 01-1 バリエーションの日本への流入はごく最近のことと考えられた。

BEAST プログラムにより流行拡大時間軸 Timescale を推定した結果、中国における

CN. MSM. 01-1 の出現時期は 1993～1999 年、日本の MSM 集団への播種は 2006～2009 年と推定された。

また、日本の MSM 間で流行しているサブタイプのほとんどは欧米由来サブタイプ B であるが、そのうち 3 分の 1 は一つのクラスター、JP. MSM. B-1 に属している。このバリエーションは欧米から 1984～1991 年ごろ日本へ播種したと推定された。興味深いことに中国遼寧省の MSM から分離された 3 株が JP. MSM. B-1 クラスター内でサブクラスターを形成していた。日本と中国の流行が互いに影響しあっており、中国由来 01AE と日本由来サブタイプ B の混合感染も起こっていることが明らかとなった。

## 2. サブタイプ B と CRF01\_AE の組み換え HIV-1 (B/01AE) の増加

2004 年に長期間日本に滞在しているタイ女性 (Y231) から B/01AE (Y231) を検出した。その後しばらくは組み換えウイルスは検出されなかったが、2009 年以降組み換え、あるいは共感染症例が 9 例検出された (表 3)。異性間性行為感染による 4 例は外国籍で、このうちラオス、タイの 3 例は Y231 のサブタイプ B および 01AE 領域と同一のクラスターに属し、同じ組換えフォームである可能性が高いと考えられた。

Y231 の組み換えフォームは日本男性 GM3222 の組み換えパターンとも非常によく似ていたが、系統樹上これら 2 株に関連性は認められなかった (図 3)。

中国籍 GM3013 は pro-RT 領域に一部サブタイプ B が含まれていたが、ほとんどは 01AE であり、01AE 部分は中国広西自治区の IDU 間で流行している CN. GX. IDU. 01 クラスターに属していた。

MSM および感染経路不明の 5 例は全て日本男性であり、このうち 2 例からは先に述べた中国の MSM 間で流行している CN. MMSM. 01-1 バリエーションが検出された。これら 2 例は用い

るプライマーによってサブタイプ B、あるいは 01AE が検出され、B と 01AE の共感染後組み換えが進行していることが強く疑われた。

アジア地域においてサブタイプ B と 01AE の組み換え型流行株 (CRF<sub>xx</sub>01B) が続々と発見されており、Los Alamos データベースにおいて現在 10 種類の CRF<sub>xx</sub>01B が登録されている。しかし、我々の検出した 10 例の B/01AE は既存の CRF とは異なっており、日本国内で組み換えウイルス形成が進んでいると考えられた。このことは、集団内のリスク行動、感染ネットワークが組み換えウイルスを生むような状況にあることを示唆している。国際的連携のもとに、注意深いモニタリングを継続し、有効な対策を取る必要があると考えられる。

## 3. 変異により HIV-1RNA 定量値が減少した症例について

感染者 216 例について HIV-1 遺伝子の gag 領域の塩基配列を決定し、市販の定量キット、コバス TaqMan 法と in house の KK-TaqMan 法の増幅領域について解析した。

2009 年にヨーロッパのグループがコバス TaqMan ver. 1.0 に低反応性の検体について解析し、ヌクレオチド番号 1485 番 (標準株 HXB2 に対応) の塩基 A が C、あるいは T に変異していたことを報告した。我々もコバス TaqMan ver. 1.0 に低反応性検体を 2 例検出し、これらはいずれも 1485 番塩基 A が C に変異していた。これら 2 例は病態と定量値に乖離があったため発見に至り、我々の開発した KK-TaqMan 法では 100 倍以上高い値が得られた。

その後、複数の医療機関からコバス TaqMan ver. 1.0 に低反応性検体の報告があり、本キットは 2011 年から gag と LTR の 2 つの領域をターゲットとした ver. 2 に改良された。

Ver. 1.0 での測定値は検出限界以下 (<40) が続いていたが、改良された ver. 2.0 では 10<sup>5</sup>

コピー/ml 以上となった検体 (GM3694) の報告があった。この検体は KK-TaqMan での定量値も 100 コピー/ml と低い値であったため、プライマー、プローブ領域について解析したところ、ヌクレオチド番号 1386 番 (標準株 HXB2 に対応) の塩基 A が C に変異していた。1386 番は KK-TaqMan 法の forward primer の 3' 末端から 2 番目に相当し、3' 末端付近の変異は PCR 反応に大きな影響をもたらすため、定量値は非常に低くなったと考えられた (図 5)。

GM3694 の遺伝子型はアフリカ由来サブタイプ C で、日本での検出はまだ少ないものの、変異の頻度を把握することは重要であるため、Los Alamos データベースを用いて 1386 番塩基 A の変異率を解析した。サブタイプ C での変異率は 0.06% (4/6545 株)、日本で最も多いサブタイプ B で 0.03% (2/6875 株) 存在したが、CRF01\_AE 1037 株、その他 (CRF02、07、08、サブタイプ A、G、F 等) 3446 株中に 1386 番の変異は検出されなかった (図 5)。

KK-TaqMan 法ではプライマーやプローブの複数の塩基を縮重型にし、変異の影響が出来るだけ少なくなるようにしているが、PCR を原理とする方法では、変異の影響を完全に避けることはできない。フォローアップ患者で病態と定量値に乖離のある場合は、複数の方法で測定することが望ましい。確認検査として用いる場合は、抗体検査の結果と併せて判断し、場合によっては時期をずらした再検査も必要である。

#### D. 結語

中国の MSM 間で大流行している HIV-1 CRF01\_AE バリエント (CN.MSM.01-1) が 2010 年以降、日本男性感染者 9 例から検出され、同時に日本の MSM 集団に広く浸淫している欧米型サブタイプ B との間で共感染、あるいは組み換えが起こっていることが明らかになった。

また、日本の MSM 間で流行しているサブタイプ B のバリエントが、中国遼寧省で 3 株発見され、互いの流行が影響を及ぼしあっていることが明らかになった。

アジア地域においてサブタイプ B と 01AE の CRF が続々と発見されているが、我々の検出した 10 例の B/01AE は既存の CRF とは異なっており、日本国内で組換えウイルス形成が進んでいると考えられ、集団内のリスク行動、感染ネットワークが組換えウイルスを生むような状況にあることが示唆された。

HIV-1RNA 定量法、KK-TaqMan に低反応性検体が 1 例 (サブタイプ C) 見つかった。解析の結果、KK-TaqMan 法の forward primer の 3' 末端から 2 番目塩基の A から C への変異が原因であると考えられた。この変異の検出率をデータベース解析したところ、サブタイプ B で 0.03%、サブタイプ C で 0.06% であった。PCR を原理とする方法では、変異の影響を完全に避けることはできないため、確認検査の場合は、抗体検査の結果と併せて判断し、状況によっては時期をずらした再検査が必要である。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kondo M, Lemey P, Sano T, Itoda I, Yoshimura Y, Sagara H, Tachikawa N, Yamanaka K, Iwamuro S, Matano T, Imai M, Kato S, Takebe Y; Emergence in Japan of an HIV-1 variant associated with transmission among Men Who have Sex with Men (MSM) in China: First indication of the international dissemination of the Chinese MSM lineage. *J. Virol.* 87 (10), 5351-5361, 2013.
- 2) 鈴木理恵子、近藤真規子他：神奈川県 の風疹流行状況と麻疹疑い患者からの風疹ウイルスの検出：病原微生物検出情報、34 (4)、96-97、2013。

- 3) 近藤真規子、佐野貴子、今井光信、加藤真吾：保健所等における無料匿名 HIV 検査の現状とその課題：病原微生物検出情報、34 (9)、253-254、2013。
- 4) 鈴木理恵子、木村睦未、金城恵子、近藤真規子、丹羽加代子：麻疹疑い患者からの風疹ウイルス検出状況と遺伝子解析、神奈川県衛生研究所研究報告、43、10-13、2013。
- ## 2. 学会発表
- 1) 武部豊、近藤真規子、内藤雄樹：中国における HIV-1 CRF01\_AE 流行を形成するファウンダー株の同定：我が国および周辺アジア諸国における流行との相互関係の解析、第 61 回日本ウイルス学会学術集会（2013 年 11 月 10～12 日、神戸）。
- 2) 鈴木理恵子、渡邊寿美、佐野貴子、近藤真規子：神奈川県における風疹ウイルス検出状況と遺伝子解析、第 61 回日本ウイルス学会学術集会（2013 年 11 月 10～12 日、神戸）。
- 3) 近藤真規子、佐野貴子、井戸田一朗、吉村幸浩、立川夏夫、山中晃、岩室紳也、今井光信、武部豊、加藤真吾：中国の MSM 間で大流行している HIV-1 CRF01\_AE variant の日本への流入、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 4) 井戸田一朗、星野慎二、佐野貴子、近藤真規子、金子典代：ハッテン場における HIV 感染リスク低減に向けた意識行動調査、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 5) 武部豊、近藤真規子：中国における CRF01\_AE 流行の動因となっているファウンダー株の分析：我が国および周辺アジア諸国における流行との相互関係、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 6) 椎野禎一郎、近藤真規子、杉浦互 他：国内感染者集団の大規模塩基配列解析 4：サブタイプと感染リスクによる伝播効率、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 7) 佐野貴子、井戸田一朗、川畑拓也、千々和勝己、須藤弘二、近藤真規子、今井光信、加藤真吾：民間クリニックにおける HIV 即日検査の導入支援および結果解析、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 8) 須藤弘二、佐野貴子、近藤真規子、今井光信、加藤真吾：HIV 郵送検査に関する実態調査と検査精度調査（2012）、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 9) 山崎さやか、近藤真規子、加藤真吾：リアルタイム PCR を用いた HIV-1 と HIV-2 の同時検査法の開発、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 10) 重見麗、近藤真規子、杉浦互 他：新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の動向、第 27 回日本エイズ学会学術集会（2013 年 11 月 20～22 日、熊本）。
- 11) 渡邊寿美、佐野貴子、伊達佳美、近藤真規子、黒木俊郎、2012/2013 シーズンの神奈川県におけるインフルエンザ検出状況、第 28 回関東甲信静支部ウイルス研究部会、（2013 年 9 月 26～27 日、千葉市）
- 12) 鈴木理恵子、木村睦未、近藤真規子、黒木俊郎、神奈川県における麻疹疑い患者からの風疹ウイルス検出状況と遺伝子解析、第 28 回関東甲信静支部ウイルス研究部会、（2013 年 9 月 26～27 日、千葉市）。



図1 HIV-1 感染者(581名)の感染経路とサブタイプ(2004~2012)

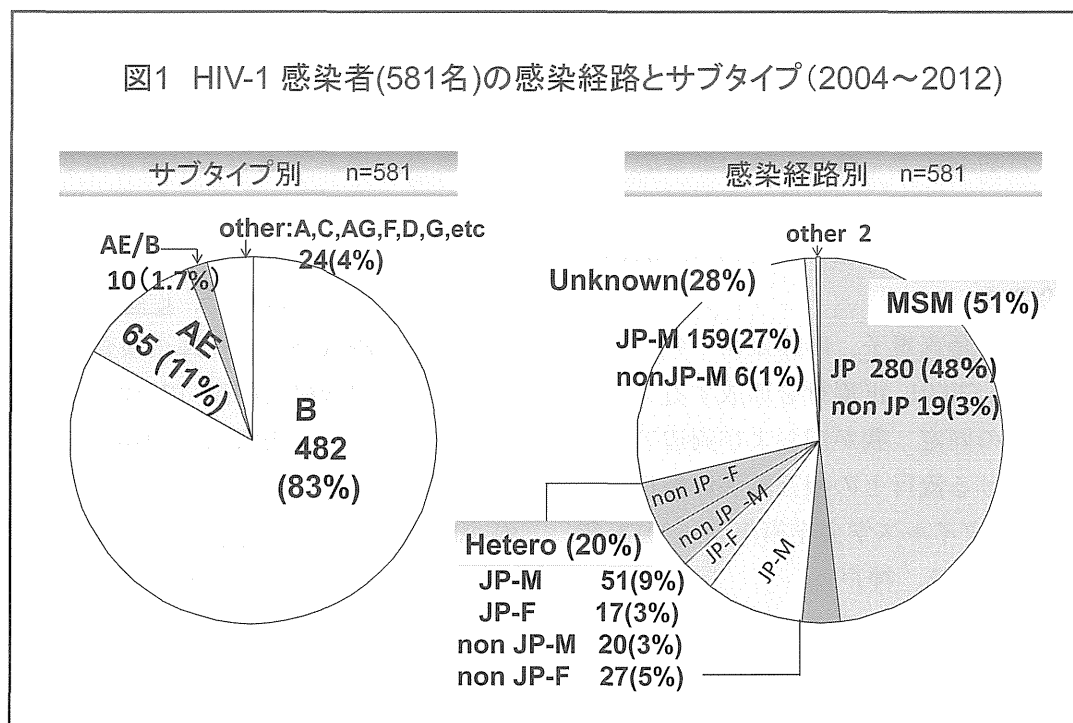


図2 HIV-1 日本人感染者(509名)の感染経路とサブタイプ(2004~2012)

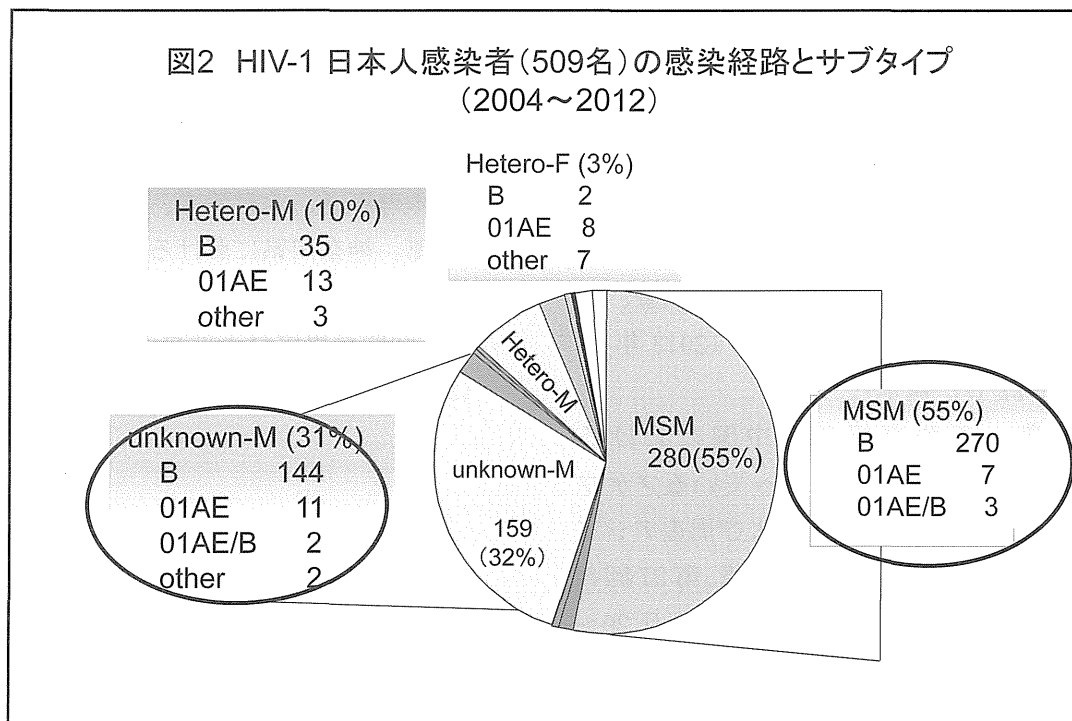


表1 日本男性 (MSM, unknown) におけるCRF01\_AEおよび  
CN.MSM.01-1バリエント検出率 n=441

Year of collection	CRF01_AE 検出率	CN.MSM.01-1 CRF01_AE
2004-2009	1.8% ( 4/218)	— (0/4)
2010-2012	8.5% (19/223)	47.4% (9/19)
2010	12.9% (9/70)	44.4% (4/9)
2011	8.1% (6/74)	33.3% (2/6)
2012	5.1% (4/79)	75.0% (3/4)

表2 日本男性 (MSM, unknown) に検出されたCN.MSM.01-1

	risk	Year of collection	<i>pro-RT</i> 1.1 kb	<i>env C2V3</i> 325 bp	<i>env gp120-gp41</i> 1.4k bp
1	MSM	2010	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
2	MSM	2010	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
3	MSM	2010	JP.MSM.B-2	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
4	unknown	2010	JP.MSM.B-1	CN.MSM.01-1/ B(US)	B(US)
5	unknown	2011	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
6	unknown	2011	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
7	MSM	2012	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
8	unknown	2012	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
9	unknown	2012	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1

表3 サブタイプBとCRF01\_AE組換え体、あるいは共感染例の詳細

Strain	採血年	国籍	性別	Risk factor	HIV-1 genotype			
					1.1-kb pro-RT (HXB2: 2253-3392 nt)	866-bp integrase (HXB2: 4230-5096 nt)	325-bp env C2/V3 (HXB2: 7011-7336 nt)	1.4-kb env gp120-gp41 (HXB2: 6940-8346 nt)
Y231*	2004	Thai	F	hetero	B(US) #	AE	AE#	AE
GM3013	2009	Chinese	M	hetero	AE/B-AE (CN.GX.IDU.01)	na	AE (CN.GX.IDU.01)	na
GM3615	2011	Thai	F	hetero	B(US) #	AE	AE#	na
GM3630	2011	Laos	M	hetero	B(US) #	AE	AE#	na
GM3632	2011	Laos	F	hetero	B(US) #	AE	AE#	na
GM3426	2010	JP	M	MSM	B (JP.MSM.B-1)	B	CN.MSM.01-1/ B(US)	B(US)
GM3289	2010	JP	M	MSM	B (JP.MSM.B-2)	B	CN.MSM.01-1	CN.MSM.01-1
GM3312	2010	JP	M	MSM	B(US)/AE	na	AE	na
GM3197	2010	JP	M	MSM	AE/B (JP.MSM.B-1)	na	B (JP.MSM.B-1)	B (JP.MSM.B-1)
GM3222*	2010	JP	M	unknown	B(US)	B	AE	AE

\*NFLGを図3に示した。#系統樹解析上、関連性が認められた。

図3 日本で検出されたサブタイプBとCRF01\_AEの組換えHIV-1

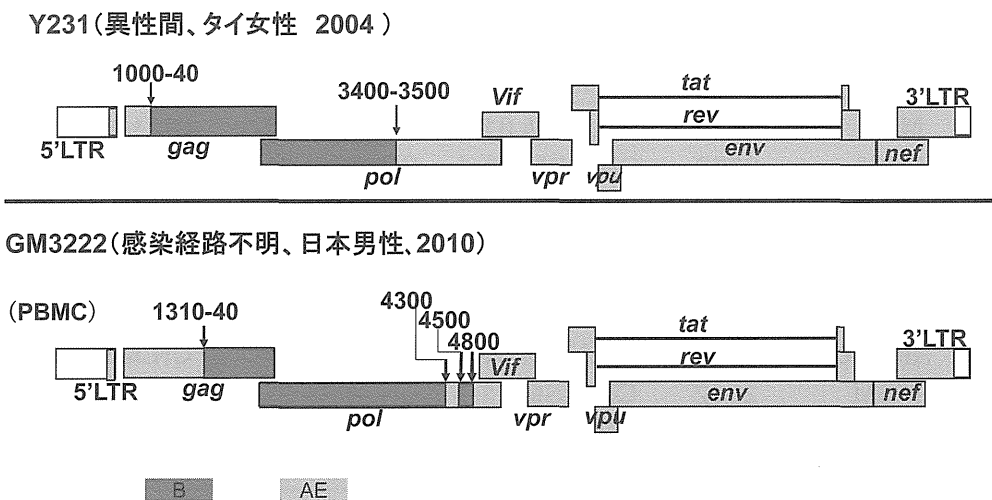


図4 Amplicor HIV-1 Monitor ver.1.5 とKK-TaqMan法のreverse primer位置

Amplicor: ACCAAGGGGA AGTGACATAG CAGGAACTAC TAGTACC  
 KK-TaqMan: GGA AGTGAYATAG CAGGAACTAC TAGTA

Y271 B -----C-----  
 Control  
 GM2563 B -----

---

\*Patient 1 B -----T-----A-  
 Patient 2 B C-----C-----  
 Patient 4 A1 -----C-----  
 Patient 3 AG -----A--C-----G--G-----  
 Patient 5 F1 -----C-----T-----T-----A-----G-

\* 下段はJ.Clin. Microbiol.,47,1238-40,2009より抜粋

図5 KK-TaqMan法のforward primer位置

29 30  
 ↓ ↓

Amplicor: AGTGGGGGGA CATCAAGCAG CCATGCAAAT GTTAAAAGAG  
 KK-TaqMan: AGTRGGGGGA CAYCARGCAG CHATGCARAT

GM3694 -----C-----  
 (subtype C)

Los Alamos データベース検索

	検索数	29変異	30変異
Subtype B	6875	2(0.03%)	0
Subtype C	6545	4(0.06%)	1(0.02%)
01_AE	1037	0	0
その他	3446	0	0
合計	17903	6(0.03%)	1(0.006%)