

## 核酸抽出操作を必要としない簡便な HBV DNA 力価検出法の開発

研究代表者 田中 純子<sup>1)</sup>

研究協力者 高橋 和明<sup>1)</sup>、Ko Ko<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 広島大学 大学院医系科学研究科 疫学・疾病制御学

### 研究要旨

PCR 検査において、自動核酸抽出装置がない施設と地域では、核酸抽出操作に時間がかかり、コンタミネーションの機会も多くある。そこで、抽出操作を必要としない簡便な方法として、HBsAg 陽性の血清に直接 SDS を添加し、HBV DNA を抽出する方法を検討した。現時点では、感度は低いものの、HBV DNA の高力価と中力価の検体はすべて検出可能である。

### A. 研究目的

PCR 検査は感度や特異性に優れているが、手間がかかり、特に核酸抽出には多くの時間と費用を要する。本研究班では、HBV 核酸抽出操作を必要とせず、世界中どこでも実施できる簡便な HBV DNA 力価検出法の開発を目指している。

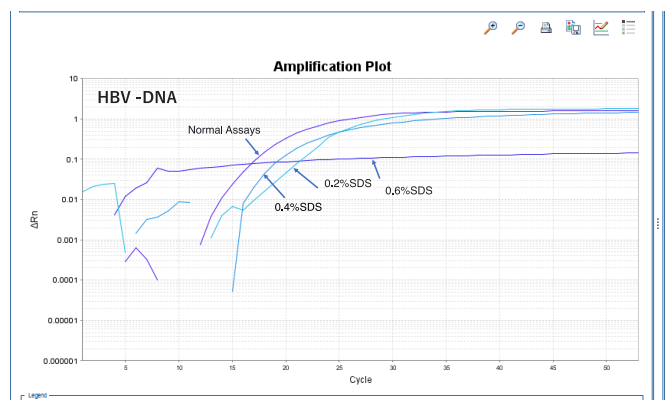
### B. 研究方法

Hepatitis B virus の Dane 粒子の Core 粒子をプロナーゼまたは SDS で処理すると粒子が壊れ、可溶化して HBeAg ポリペプチドが溶出された。

(Takahashi K, et al, 1979; J. Immunol. 122:275)。  
SDS により粒子が破壊されてウイルス中の HBV DNA が露出すると想定し、HBsAg 陽性血清に直接 SDS を加えて HBV DNA の抽出を行った。

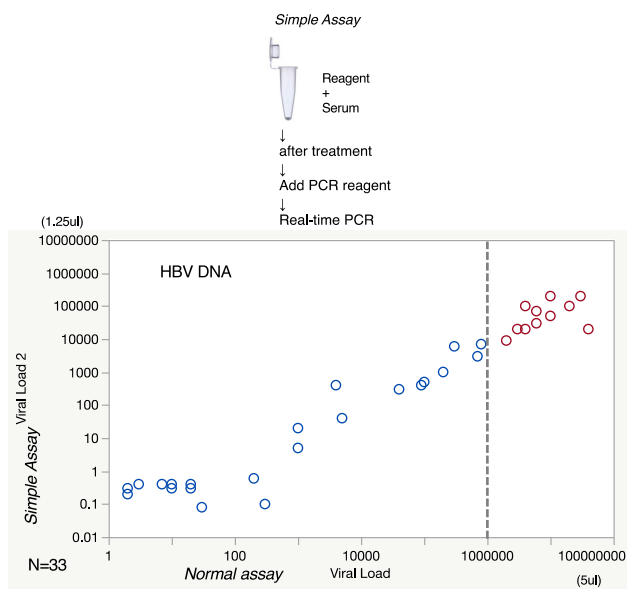
### C. 研究結果

PCR チューブを用いて、HBsAg 陽性血清に等量の 0.2-0.6% SDS を加え、95°C で 5 分間、HBV DNA を抽出した。0.4% 前後の SDS が抽出に効率的であった。(図 1)



(図 1)

HBsAg 陽性血清に直接 SDS を添加することで、HBV DNA を抽出することができた。現時点では、従来の抽出法で得られたサンプルに比べ、感度は10～100 倍程度低いが、高力価と中力価のサンプルはすべて検出することが可能である。(図 2)



(図 2)

#### D. 考察

現時点では、従来の抽出法で得られたサンプルと比較して感度が低いが、今後は、SDS の濃度を詳細に検討し、SDS に代わる他の抽出試薬検索し、感度を上げるために Taq ポリメラーゼを検討する予定である。また、他の DNA ウイルスについても検討する予定である。

#### E. 結論

SDS を用いた簡易的な HBV DNA の核酸抽出が可能である。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

特になし。

##### 2. 学会発表

特になし。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

特になし。