

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服政策研究事業）
令和4年度 研究報告書
全国規模の肝炎ウイルス感染状況の把握及びウイルス性肝炎 elimination に向けた
方策の確立に資する疫学研究

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¹⁾

研究協力者 高橋 和明¹⁾、Ko Ko¹⁾

¹⁾ 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。

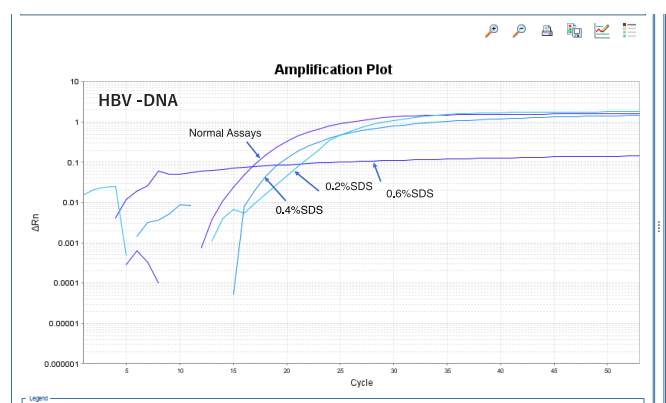
B. 研究方法

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。

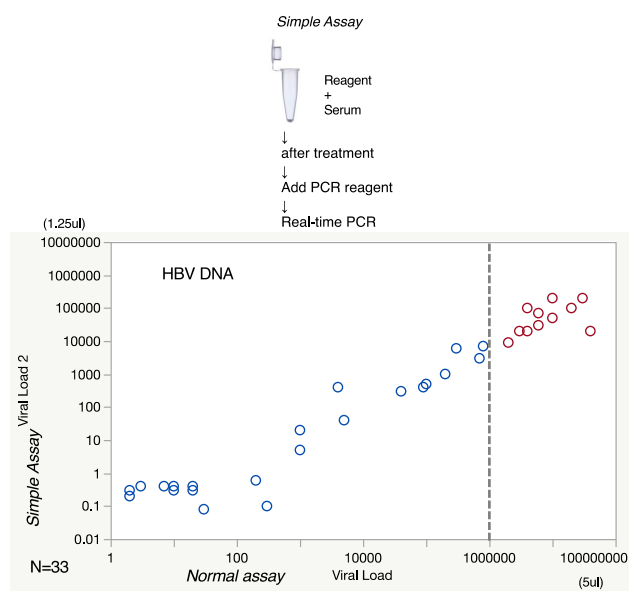
C. 研究結果

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。