

審査の結果の要旨

氏名 柳生文宏

本研究は様々なサブタイプを持つ HIV に対しサブタイプ特異的プライマーを設計し、PCR によってサブタイプ A、B、C、D、F、G、CRF01_AE の鑑別することを目的としており、下記の結果を得ている。

先行研究(Yagyu F., et 2002. Differentiation of subtypes B and E of human immunodeficiency virus type 1 by polymerase chain reaction using novel env gene primers. J. Virol. Methods 101:11-20.)でデザインされたプライマーを用いて PCR を行い、サブタイプ B と CRF01_AE の鑑別を行った。その結果、サブタイプ B 特異的プライマーはサブタイプ B と D に、サブタイプ E 特異的プライマーはサブタイプ A, C, G, CRF01_AE に対してポジティブであった。また、これらのプライマーではサブタイプ F を増幅することができなかった。

以上の結果に基づいて、代表的リファレンス株のアライメントをつくり、それぞれのサブタイプ特異的プライマーを設計した。その結果 87% (26/30) が検出可能で、検出できたものは v3 領域の sequence とすべて一致した。

NJ 法、UPGMA 法を用いてヌクレオチドとアミノ酸の系統樹を書いたところ、アミノ酸を UPGMA 法で描いたものでブラジルからの 1 サンプルはどのサブタイプにも属さない clade を形成した。他の系統樹ではサブタイプ B に属しているもののリファレンス株に対して枝が長かった。Similarity Plot、BootScan ではサブタイプ B という結果になった。リファレンス株の intrasubtype、intersubtype、intersubsubtype およびサンプルとサブタイプ B について distance を計算し比較したところ、サンプルとサブタイプ B について distance は

intersubsubtype の distance に位置していた。よってサンプルはサブタイプ B に属していることは明らかになったが、通常の変異と比べて G→A の変異が非常に多くハイパーミューテーションを起こしていることがわかった。しかしながら、PCR によるサブタイピングでも正しくサブタイプの鑑別を行うことができた。

以上、本論文は HIV のサブタイプ A, B, C, D, F, G, CRF01_AE についてそれぞれ特異的プライマーをデザインし、PCR によりサブタイプ A、B、C、D、F、G、CRF01_AE を鑑別することができることを示した。新しくデザインしたプライマーを用いた PCR によるサブタイプの鑑別は正確かつ低コストであり、HIV 感染者を多く抱える発展途上国における HIV サブタイプスクリーニング等に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。