

共焦点レーザー顕微鏡によるC型肝炎ウイルスの細胞内局在と動態の研究

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-16 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属: |
| URL | https://doi.org/10.24517/00066435 |

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



共焦点レーザー顕微鏡によるC型肝炎ウイルスの細胞内局在と動態の研究

Research Project

All

Project/Area Number

06670529

Research Category

Grant-in-Aid for General Scientific Research (C)

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

Gastroenterology

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

鶴浦 雅志 金沢大学, 医学部附属病院, 講師 (10175226)

Project Period (FY)

1994 - 1996

Project Status

Completed (Fiscal Year 1994)

Budget Amount *help

¥1,800,000 (Direct Cost: ¥1,800,000)

Fiscal Year 1994: ¥1,800,000 (Direct Cost: ¥1,800,000)

Keywords

C型肝炎ウイルス(HCV) / Flurescent in situ hybridization法 / 共焦点レーザー走査顕微鏡 / ISPCR法 / PRINS法 / B型肝炎ウイルス(HBV) / 蛍光抗体法

Research Abstract

肝組織および肝外のC型肝炎ウイルスHCVの感染ならびに増殖部位として疑われる末梢血単核球を対象としてHCV関連抗原の検出を蛍光抗体法にて、また、HCVRNAをFISH(fluorescent in situ hybridization)法にて検出し、共焦点レーザー走査顕微鏡を用いて、陽性細胞の同定ならびに細胞内局在の検討を行った。しかし、組織におけるRNAの保存状態が不安定なため、安定した検出は困難であった。そこで、検出感度の改善を目的として、polymerase chain reaction(PCR)法を組織におけるin situ hybridization(ISH)法に応用したISPCR法を試みた。しかし、この手法でも組織上でHCVRNAの増幅と検出は一部の組織において可能であったが、再現性よく検出することは困難であった。

HCVRNAを組織上で再現性よく検出するためにはISPCR法による増幅は必須と考えたが、現時点では、陽性対照が得られていない。そこで、肝生検組織での標的核酸の増幅の程度を評価するために、DNAウイルスであるB型肝炎ウイルス(HBV)を対象として、安定した手技の開発を行った。HBVはヒト肝臓に感染するDNAウイルスであり、その感染ウイルス量はHCVの約1000倍と報告されている。さらにDNAウイルスであるため増幅の際のreverse transcriptionの段階を必要とせず、DNA以降の段階における手法を検討することができる。

そこで、HBV及びその変異株に対するprobeならびにprimerを作成し、組織上にて、ISH法ならびにPrimerによるone step検出法であるprimed in situ labelling(PRINS)法による検出を行い共焦点レーザー走査顕微鏡にて観察した。

この手法を確立することはRNAウイルスであり、かつ感染量が少ないHCVの組織上での検出方法の開発のうえで重要と考えられる。

Report (1 results)

1994 Annual Research Report

Research Products (2 results)

All Other

All Publications (2 results)

[Publications] 河合博志、鶴浦雅志、他: "肝生検組織上ならびに末梢血単核球内でのHCVRNAの増幅と検出の試み、direct ISPCR法とindirect ISPCR法による検討" 肝臓. 35補(1). 180 (1994) ▼

[Publications] 河合博志、鶴浦雅志、他: "Sequential Multicolor MRS-PRINS法による組織上でのHBV precore mutantの分布の研究" 1995年度、日本肝臓学会.(発表予定). ▼

URL:

Published: 1994-03-31 Modified: 2016-04-21