非A非B肝炎型ウイルスゲノムのクローニング

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-11-17 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 村上, 清史, Murakami, Seishi メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00067354

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

非A非B肝炎型ウイルスゲノムのクロ-ニング

Research Project

All

Project/Area Number

02808048

Research Category

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

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

分子遺伝学・分子生理学

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

村上 清史 金沢大学, がん研究所, 助教授 (90019878)

Project Period (FY)

1990

Project Status

Completed (Fiscal Year 1990)

Budget Amount *help

¥1,700,000 (Direct Cost: ¥1,700,000)
Fiscal Year 1990: ¥1,700,000 (Direct Cost: ¥1,700,000)

Keywords

非A非B肝炎 / HCV / クロ-ニング / ゲノム解析 / PCR

Research Abstract

血清中のカイロン社のHCV抗体価の高値を与えたHCV肝炎肝癌患者で肝部分切除により試料を得た3例を出発材料としてRNAを抽出精製した。これらの試料でOligoーdT及びランダムプラマ-によるcDNAクロ-ニングを試みたが成功せず,PCR法による部分クロ-ニングを行った。RNAを鋳型とした1次プライマ-によるRーPCRの後、2次プライマ-によるPCRを行なう、RーPCR,double PCR法を行なった。プライマ-はカイロン社の報告に基づく10セット以上のプライマ-を用いたがPositiveな結果は2セットのみであった.PCRで強いバンドを得た配列をプライマ-として、再びcDNAクロ-ニングを試みたが長いcDNAを得ることは成功しなかった。
最も強いPCRバンドを与えた試料を用いて既知のHCV配列に基づくプライマ-によるPCRクロ-ニングを繰り返し、HCVサブゲノムのクロ-ニングを行った。同一試料による独立した3個のクロ-ンを単離し、それらの塩基配列を決定する方法でPCRによる変異の影響を排除した。現在3'端の一部を除き全てクロ-ンを得て、その配列を決定した。その結果、1)非構造遺伝子領域の多くの患者試料の塩基配列決定の結果は、カイロン社の報告と約20%以上変異のあるグル-プが日本では高率に検出され、これらのクロ-

ン間の変異率は5%以下で近接していた。従って日本ではカイロン社の型(アメリカ型)とは異なるサブグル-プの存在が示唆された(Kaneko et al.,Lancet,1990及びKaneko et al.,in printing,1991)。2)構造遺伝子領域及び5'非遺伝子領域は非構造遺伝子領域に比べ変異率は低く特にEnvの領域でVariable region以外は配列の保存性は高い(Honda et al,in preparation)。今後サブゲノムの接続によって全ゲノムサイズのクロ-ンの作成と各遺伝子部分の癒合遺伝子産物の大腸菌での発現と精製を基にこれらの部分に対する抗体の作成を計画している。

Report (1 results)

1990 Annual Research Report

Research Products (4 results)

All Other

All Publications (4 results)

[Publications] S,KANEKO,M,Unoura,K,KOBAYASHI,K,Kuno,S,MuRAKAMi & N,HATTORI: "DETECTION OF SERUM HEPATiTis C VIRUS RNA" Lancet. Apr.21. 976 (1990)

[Publications] M.HONDA,S,KANEKO,K,KOBAYASHi & S,MuRAKAMi: "SEQuENCE ANALysis oF THE STRuCTuRAL REGiON OF HEPATiTiS C ViRus GENoMES isoLATED FROM NON−A NONB HEPATiTiS PATiENTS iN JAPAN"

[Publications] 金子 周一,村上 清史: "PCR法によるHCVゲノムの検出" 日本臨床. 49. 264-265 (1991)

[Publications] S,KANEKO,K,KUno,M,UnouRA,K,KoBAYASHi,S,MuRAKAMi & N,HATTORI: "SEQUENE ANALysis OF HEPATiTiS Cuirus GENOMES isoLATED FROM 5 PATiENTS wiTH Non A,Non−B ViRAL HEPATiTis in ProCEEDiNG OF THE 1990 INTERANATiONAL SyMPOSiuM ON ViRAL HEPATiTis." (1991)

URL: https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-02808048/

Published: 1990-03-31 Modified: 2016-04-21