

【目的】 昨年の本学会において単一のプライマー対を用いたインフルエンザウイルスの全ゲノム増幅法並びに本法を用いて未知の亜型を含む全ての株の亜型を判別する方法を報告した。その後、ブタ由来の新型 H1N1 ウイルス(AH1pdm)がヒトの間に出現して大流行を引き起こした。現在の流行株は AH1pdm が大部分であるが、季節性インフルエンザウイルス(AH1/H3sn)の動向は不明である。本研究では、AH1pdm と AH1/H3sn を簡便に判別するため臨床分離株 HA 遺伝子の RFLP 解析を行った。

【方法】 データベース検索によって AH1pdm と AH1/H3sn の HA 遺伝子の塩基配列を比較し、RFLP 解析に有効な制限酵素を選択した。2009 年 9 月以降本学クリニックにおいて簡易検査で A 型インフルエンザと診断された患者鼻腔スワブから MDCK 細胞を用いてウイルスを分離し、我々が開発した全ゲノム増幅法に供した。選択した制限酵素で増幅された HA 遺伝子を消化し、RFLP 解析を行った。

【結果・考察】 データベース検索の結果、AH1pdm の HA 遺伝子には *Bam*H I、*Hind* III 及び *Kpn* I 切断部位が各々 1 箇所存在する一方、AH1sn の HA 遺伝子には存在しないことが分かった。臨床分離株の HA 遺伝子の増幅産物を *Bam*H I、*Hind* III 及び *Kpn* I で消化したところ、各々 200/1500、500/1200 及び 800/900bp 付近にバンドを生じた。これらの HA 遺伝子の塩基配列を決定したところ、AH1pdm のそれと高い相同性を示した。また、AH3sn では *Kpn* I 切断部位の有無及び他 2 酵素による断片長の違いによって AH1pdm との判別が可能であった。以上の切断パターンは全ての AH1pdm 株間で保存されていたことから、RFLP 解析は AH1pdm と AH1/H3sn とを区別する簡易同定法として有用と考えられる。現在までに約 70 株のウイルスが得られており、今後は薬剤耐性等の遺伝子解析を行う予定である。