

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 22 日現在

期間番号：33916

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590539

研究課題名（和文）

Multiplex 定量 LAMP 法によるヘルペスウイルス迅速診断法の確立

研究課題名（英文）

Development of quantitative multiplex DNA amplification method by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) using Qprobe.

研究代表者

井平 勝 (IHIRA MASARU) 藤田保健衛生大学・医療科学部・准教授

研究者番号：10290165

研究成果の概要（和文）：

LAMP 法は、等温で迅速かつすぐれた特異性・増幅効率をもつ遺伝子増幅法である。しかし、標的核酸の定量的評価という観点では real-time PCR 法に及ばない。本研究では、グアニン塩基蛍光現象を利用した Qprobe を LAMP 法と組み合わせた HSV-1、HSV-2 の迅速定量法を開発した。本法は、singleplex 反応において 15 分以内に DNA の増幅が可能であり優れた感度、再現性をもっていた。しかし multiplex 反応のための至適条件を決定できなかつた。また、Qprobe を用いた融解温度解析により、HHV-6 のガンシクロビル耐性遺伝子変異を検出する検討も行った。次に DNA-RNA からなるキメラ probe と RNase の組み合わせることにより、SNP を含む特定塩基配列を効率よく検出するサイクリング probe を用いて、VZV 野生株とワクチン株を識別する迅速定量法を評価した。

研究成果の概要（英文）：

The loop-mediate isothermal amplification method (LAMP) amplifies DNA with high specificity efficiency, and speed. However, the LAMP is insufficient for quantification of target DNA in comparison to the real-time PCR. In this study, we developed quantitative LAMP assay for HSV-1 and HSV-2 by Qprobe, which is quenched via electron transfer between the dye and guanine base at particular position. In singleplex reaction, the quantitative LAMPs amplified HSV DNA within 15min. The quantitative LAMP for HSV-1 and HSV-2 had high sensitivity and reproducible. However, it was impossible to determine an optimal condition for multiplex amplification. In addition, a new molecular method by using Qprobe was evaluated for screening of GCV resistant HHV-6B. The results of the new molecular method were consistent with those of the direct sequence. The sequence-specific DNA-RNA chimeric probe (cycling probe) is also appropriate method for the detection of SNP. The combination of LAMP and cycling probe might be good tool for quantitative analysis. As the first step, we developed quantitative assay combine real-time PCR with cycling probe to discriminate wild type and Oka-vaccine strain of VZV.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・病態検査学

キーワード：臨床検査医学

1. 研究開始当初の背景

LAMP 法は、独自のプライマーデザインと DNA 合成酵素を用いることにより、等温でのすぐれた核酸増幅効率を実現したわが国独自の技術である。濁度を利用した増幅産物の確認は、迅速且簡便なためベッドサイドでの病原体核酸検出を行う (point of care test) 上で極めて大きなアドバンテージである。本法は感染症の迅速診断法として極めて優れている一方、標的核酸の定量的評価並びに multiplex 化という観点ではいまだ課題が多く real-time PCR 法に及ばない。一方、産業技術総合研究所で開発された Q-probe は、標的 DNA のグアニン塩基との相互作用により蛍光が消光するという特異な評価蛍光色素である。この新規蛍光プローブを用いることにより、LAMP 法でも核酸増幅に伴い蛍光強度が減少することで定量評価が可能となると推測した。また複数の蛍光プローブにより、multiplex 化の道も開けると考えた。

2. 研究の目的

わが国独自の LAMP 法という核酸増幅技術と Q-probe という新たな国産蛍光 probe 技術を組み合わせることにより、LAMP 法の問題点を解決することを着想した。Q-probe は、Taq man probe と比較して安価な点も特徴の一つであり、現在病原体遺伝子定量法の主流となっている real-time PCR 法と比較し、より安価、迅速、反応阻害物質に強いなどの LAMP 法の利点を生かしながら、迅速かつ定量性を併せ持つ LAMP 法の構築を目標とする。また、複数の標的を同時に定量する Quantitative-multiplex LAMP 法の構築も視野に入れる。

3. 研究の方法

我々がこれまで作製したヘルペスウイルス LAMP 法の primer を基にして、定量的 LAMP 法を開発する。最初は、singleplex 反応で定量的 LAMP 法の確立を目指し、最適な反応条件を検討する。次に、臨床検体を用いて定量的 LAMP 法と従来の Taq man real-time PCR による定量評価を比較する。最終的には、複数の標的を同一チューブで測定可能な multiplex 化を目指して最適条件を決定する。

4. 研究成果

(1) Quenching probe による定量的 LAMP 法の開発

① はじめに

単純ヘルペスウイルス (HSV) は、皮膚粘膜疾患をはじめ中枢神経疾患、母子感染など様々な臨床像と関連する重要なウイルスである。今回は HSV LAMP 法と、近年開発されたグアニン消光現象を利用した Qprobe 法を組み合わせた HSV-1、HSV-2 DNA 迅速定量法開発を目的とした。

②方法

HSV-1(US4)、HSV-2(UL10)に特異的な遺伝子配列部位に各 LAMP primer を設定した。キャリブレーション系列にはそれぞれの標的領域をサブクローニング (pl-HSV1_US4, PI-HSV_UL102) 後、抽出したプラスミド DNA を用いた。各 LAMP 法の mixture は、In-house LAMP 試薬とし、その組成は以下の通りである。20mM Tris HCL(pH8.8), 10mM KCl, 10mM (NH₄)₂SO₄, 1.2mM MgSO₄, 0.8M, Betaine, 0.1% Tween 20 0.4mM dNTPs HSV-1, (HSV-2 0.5mM), 0.15μM Qprobe-G (HSV-1) または、Qprobe-Y (J-Bio21), 8U Bst polymerase であり、それぞれの primer 濃度は、HSV-1、HSV-2 ともに FIP, BIP が 2.4μM、LPB, LPF が 1.2μM、F3、B3 が 0.6μM である。mixture の total 量は 10μl とし 15μl のサンプルを加えた後、63 度・30 分間 StepOne (ABI) を用いて連続的に蛍光強度変化を測定した。Ct 値の決定は QP-PCR データ解析ツール (J-Bio21) を用いた。

標的領域をサブクローニング、コピー数を決定した plasmid DNA を段階希釈してスタンダード系列とし、同時再現性として HSV-1、HSV-2 それぞれの希釈系列を 5 回同時測定した。日差再現性として 5 日間連続してスタンダード系列を 2 重測定した。初期検討として髄液から DNA を抽出、Taq man real-time PCR によって HSV-1、HSV-2 がともに陰性であった髄液に既知濃度 (10⁸ ~ 10²/200μl ; pl-HSV1_US4, PI-HSV2_UL10) のプラスミド DNA をスパイクした後 DNA 抽出、Taq man real-time PCR と HSV 定量的 LAMP 法と比較した。

両 primer, probe による同一チューブ内での multiplex 反応系についても検討した。反応条件は singleplex 反応に比して primer 量を HSV-1 では 50%、HSV-2 では 80% とした。その他の mixture 組成は singleplex と同様である。Multiplex 反応では、HSV-1 用のスタンダード系列 (10¹⁰-10⁶/反応) のすべてに 10⁴/反応になるように HSV-2 plasmid をミックスした。

③結果

HSV-1、HSV-2 定量的 LAMP 法の感度は、両者とも 100 コピー/反応で、10²-10⁶ コピー/tube の間で良好な直線関係をみとめた (図 1)。

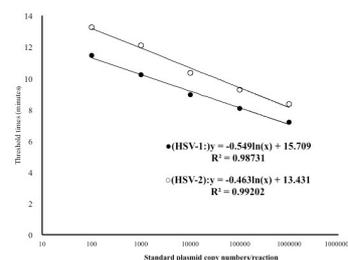


図1: HSV 定量的 LAMP 法の標準曲線

日差再現性では、HSV-1、HSV-2 の変動係数(CV%)は HSV-2 の 100 コピー/反応をのぞいて 5%以下であった。コントロール髄液に段階希釈した既知濃度の plasmid DNA をスパイク、DNA を抽出後、Taq man real-time PCR と定量的 LAMP 法を行い両者を比較した。図 2,3 に示すように両者の間には HSV-1 で $R^2=0.99$ 、HSV-2 で $R^2=0.96$ という非常に高い相関を確認した。

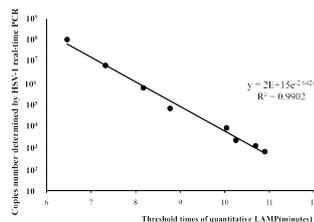


図2: Real-time PCR と定量的 LAMP 法の比較 HSV-1

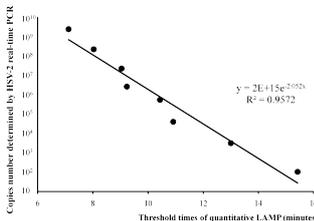


図3: Real-time PCR と定量的 LAMP 法の比較 HSV-2

HSV-1, HSV-2 それぞれの plasmid DNA を同一チューブに混合し、multiplex 反応を行った場合、HSV-1 では plasmid DNA が少なくなるにつれて Ct 値は上昇し HSV-1 コピー数と Ct 値の間には $y = -0.467\ln(x) + 13.696$ 、 $R^2 = 0.99$ の良好な相関を認めた。しかし、HSV-2 のウイルス DNA 量は 10^4 コピー/反応に固定してあるため、HSV-2 の Ct 値は変化しないと予想していたが、実際は 10.1~24.1 の間で変化した。

③ 小括

今回の定量的 LAMP 法は、日差再現性、同時再現性ともに良好で信頼性の高いウイルス DNA 定量的評価法と考えられた。Quenching probe をもちいた HSV-1、HSV-2 定量的 LAMP 法は、15 分以内で測定が可能でありその臨床的有用性は高いと思われる。髄液にスパイクした plasmid DNA による検討でも、real-time PCR 法と定量的 HSV-1 LAMP 法に良好な相関がみられた。今後臨床検体を用いた評価が必要になると考えられる。また、multiplex 反応では、さらなる基礎検討が必要と考えられた。

(2)サイクリングプローブ法を用いた VZV ワクチン株、野生株の鑑別法確立

①目的

LAMP 法は迅速、簡易な遺伝子増幅法であるが、定量的評価という点では real-time PCR 法に及ばない。昨年度は、グアニン消光現象

を利用したプローブ(Qprobe)と LAMP 法を組み合わせて HSV-1、HSV-2 の迅速鑑別、定量法の開発を試みた。Singleplex 測定系では、測定系が構築できたが、multiplex 反応では十分な結果が得られなかった。そこで本年度は、DNA-RNA からなるキメラ probe と RNase の組み合わせにより、SNP を含む特定塩基配列を効率よく検出できるサイクリング probe を使い、まず real-time PCR 法と組み合わせて varicella zoster virus(VZV)ワクチン株、野生株の迅速鑑別、定量方法開発を試みた。

②方法と対象

VZV ワクチン株と野生株間で遺伝子変異が多く認められる ORF 62 の中に標的領域を設定し、プライマー (野生株、ワクチン株共通)、と野生株、ワクチン株用の型特異的サイクリング probe を設計した。ワクチン株、野生株それぞれの標的領域をサブクローニングし DNA を抽出後、コピー数を決定、段階希釈して同時再現性 (5 重測定)、日差再現性 (5 日間連続して 2 重測定) を行った。交差反応の確認として、異なった標的の probe による測定を行い蛍光強度変化測定した。

帯状疱疹など VZV 感染が疑われた患者 38 名の皮疹部位を綿棒で拭い、生理食塩液 (1ml) に浸した。拭い液 200 μ l から DNA を抽出、また拭い液をそのままサンプルとして用い singleplex 反応での VZV 野生株、ワクチン株サイクリング probe real-time PCR を行った。我々が既に報告した LAMP 法による野生株、ワクチン株の型判別と比較、ウイルス DNA 量は Taq man real-time PCR 法と比較した。

③結果

ワクチン株、野生株それぞれの singleplex 反応では、 10^1 - 10^6 コピー/反応の間で優れた直線性と相関係数 (野生株 $R^2=0.99$ ワクチン株 $R^2=0.98$) を示した。(図 4: 5 重測定)

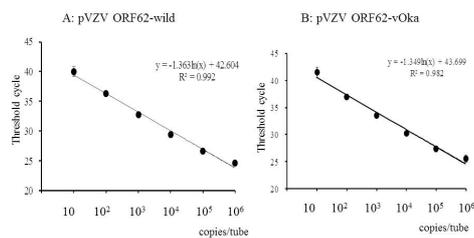


図4: Singleplex 反応における野生株、ワクチン株の標準曲線

5 日連続して行った日差再現性でも野生株、ワクチン株の %CV は、野生株で 0.4~1.5%、ワクチン株で 1.0~2.9% に分布していた。この条件下でワクチン株プローブは 10^8 コピーの野生株と、野生株プローブは 10^8 コピーのワクチン株と交差反応を示さなかった。

拭い液から抽出した DNA を用いた場合、LAMP-RFLP とサイクリング probe real-time PCR の間には 5 つの不一致検体(偽陽性 3 検体、偽陰性 2 検体)が見られた。他の検体については両者の型判別法の結果は一致していた。(表 1)

表 1 サイクリング probe real-time PCR による VZV 野生株、ワクチン株の型判別

A. Extracted DNA was used for analysis.

Cycling probe real-time PCR	LAMP - RFLP		
	Wild-type	vOka	Negative
Wild type	23	0	3
vOka	0	1	0
Negative	2	0	9
Total (n=37)	25	1	12

B. Swab sample without DNA extraction was used.

Cycling probe real-time PCR	LAMP - RFLP		
	Wild-type	vOka	Negative
Wild type	23	0	2
vOka	0	1	0
Negative	2	0	10
Total (n=37)	25	1	12

臨床検体による Taqman VZV real-time PCR と野生株サイクリング probe による定量結果の相関は、抽出 DNA をサンプルとした場合 $R^2=0.85$ 、ぬぐい液をそのままサンプルとした場合は $R^2=0.76$ であった。(図 5)

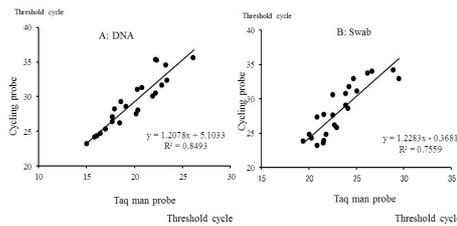


図 5 : DNA と Swab サンプルにおける野生株サイクリング probe real-time PCR と Taq man real-time PCR の比較

サイクリング probe real-time PCR において DNA と拭い液をそのままサンプルとして使用した場合、両者には非常にすぐれた相関 ($R^2=0.76$)をみとめた(図 6)。

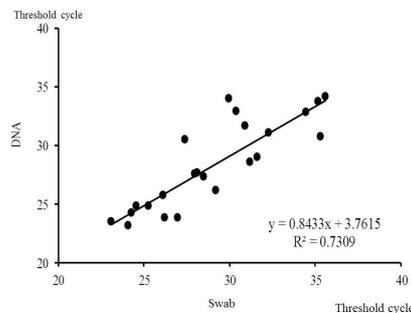


図 6 : Swab と DNA によるウイルス量の比較

④小活

Singleplex 反応におけるサイクリング probe real-time PCR 法の感度は、野生株、ワクチン株それぞれ 10 コピー/反応であり、plasmid DNA 量とサイクリング probe real-time PCR の Ct 値の間には正の相関があった。また、日差再現性の検討結果でも、CV 値は 5%以下で高い再現性を確認した

Singleplex 反応による臨床検体の検討では、今回のサイクリング probe 法と LAMP+RFLP によるワクチン株、野生株識別結果は完全に一致していた。サイクリング probe real-time PCR 法は、TaqMan real-time PCR 法との比較で、定量性についても良好な結果が得られた。また、DNA 抽出を行わず拭い液を直接サンプルとした場合でも、DNA 抽出を行った結果と非常に高い相関を確認した。

DNA-RNA からなるキメラ probe と RNase 処理を組み合わせたサイクリング probe は、一塩基置換を正確に検出、定量可能であった。(3) 臨床分離株における Q プロブ法によるガンシクロビル耐性 HHV-6B スクリーニング

①目的

最終年度は、Qprobeを用いた融解温度解析による SNP タイピング法の開発を目的に基礎検討を行った。HHV-6B に対する抗ウイルス薬として用いられるガンシクロビル (GCV) の投与により、HHV-6 U69 遺伝子の一塩基置換が生じウイルスが耐性化することが実験的に証明されている。そこで、U69 に存在する GCV 耐性に関連する SNPs を検出するため Qprobe を作成し、臨床分離株を用いて GCV 耐性株の出現頻度を検討した。

②方法

Isegawa らにより供与された GCV 耐性 HHV-6B、U69 変異遺伝子 (M318V、A447D、C448G、L450S、A462D、C463Y) DNA をサブクローニングし、各遺伝子変異を持つプラスミドを作製した。変異領域を 3 組の primer で増幅し (region 1-3)、変異位置に Q プロブを設定した (3 種類)。臨床株は、突発疹患児、造血幹細胞移植後に同一患者から反復して分離された HHV-6B 30 株 (20 名) である。

③結果

各変異挿入プラスミド DNA をそれぞれの primer で増幅、Qprobe による融解温度を図 10 に示す。Region 1 での融解温度 (T_m) は、HHV-6B 標準株 Z29 で 42.9°C 、M318V は 49.1°C であった。Region 2 では Z29 59.4°C であり、A447D 56.5°C 、C448G 56.0°C と両者の区別は困難であった L450S 53.4°C であった。Region 3 では、Z29 の 59.5°C 、A462D 53.2°C 、C463Y 48.6°C であった。(図 7)

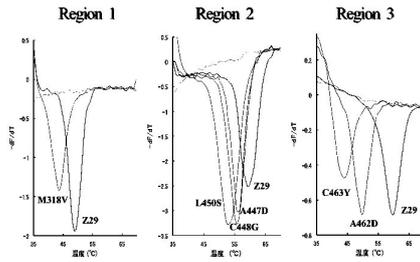


図7 変異挿入plasmidとHHV-6B(Z29)の融解曲線
Region1においてすべての臨床分離株のTm値はZ29と同じであった。Region2の融解曲線でも臨床分離株はZ29(HHV-6B)と一致しており変異株とは明らかに異なっていた。Region3では、臨床分離株の融解曲線は明らかに変異株とは異なっていたが、Z29(HHV-6B)とも一致しなかった。しかし、HHV-6B標準株HSTと臨床分離株の融解曲線は一致した。

今回確認したregion 1-3領域における変異をダイレクトシーケンスによりそれぞれの塩基配列を確認したところ、今回スクリーニングしたすべての株においてU69耐性遺伝子変異は確認されずQプローブの結果と一致した。

④小活

Qプローブ法によるHHV-6U69変異遺伝子スクリーニング法は、ダイレクトシーケンスの結果と一致していた。Region3において、Z29とHSTはGCV耐性とは異なった部分で遺伝子配列が異なっていた。すべての臨床株はHSTと一致していた。Region1-3において今回検討したSNPは、すべて標準株と一致しており、GCV耐性遺伝子は検出されなかった。今回我々が検討したQprobeを用いた融解温度解析によるSNPタイピング法は、ダイレクトシーケンスにくらべ簡易、迅速であり臨床分離株の解析に有用であると考えられた。

(4) 総括

簡易、迅速な遺伝子増幅法であるLAMPと、グアニン消光現象を利用したQprobeの組み合わせによって迅速な定量法を確立するという目的は、HSV-1, HSV-2のsingleplex反応において達成された。本法は迅速でありながらワイドな測定レンジを確保し、HSV-2スタンダード系列100コピーのCV値をのぞいて5%以下であり、再現性においても一定のレベルに達した。本定量的LAMP法の測定時間は、約15分と従来のreal-time PCRと比較して非常に迅速であった。また従来のTaq man real-time PCRとの相関も良好で、臨床的に有用であることが示唆された。本法の有用性をさらに増すためのmultiplex反応における検討では、一方の標的遺伝子が多い場合、他方のthreshold timeが遅くなり、至適条件を研究期間中に設定できなかった。また、multiplex反応では、Qprobeのシトシンに標識した蛍光色素がアニールした際に近傍に存在するグ

アニンによる交差反応が観察され、もともとprimerの数が多くprimer設計の制限があるLAMP法において、さらにprimer, probe設計が困難になることがわかった。これを解決するために、Qprobeの代わりにサイクリングprobeをもちい検討を行った。サイクリングprobeは、DNA-RNAからなるキメラprobeとRNaseの組み合わせにより、SNPを含む特定塩基配列を効率よく検出する方法である。よって、Qprobeのように配列依存が少なく、LAMP法と組み合わせやすい可能性がある。本研究では、まずVZVを対象に野生株とワクチン株のSNPを検出するサイクリングprobeとreal-time PCR法とを組み合わせ評価を行った。本法は、再現性、測定レンジ、SNP検出において非常に優れていた。今後、さらに研究を継続し、LAMP法とサイクリングprobeにより迅速定量測定法の開発を進めてゆきたい。

近年、抗ウイルス薬に耐性を示す株の存在が示され、移植後のヘルペスウイルス感染症においてもウイルスDNA量を定量するだけでなく、薬剤耐性株を迅速にモニタリングする必要が生じている。本研究ではHHV-6GCV耐性のSNPをQprobeによって迅速に検出できることを示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

- 1) Ihira M, Enomoto Y, Kawamura Y, Nakai H, Sugata K, Asano Y, Tsuzuki M, Emi N, Goto T, Miyamura K, Matsumoto K, Kato K, Takahashi Y, Kojima S, Yoshikawa T. 2012 Development of quantitative RT-PCR assays for detection of three classes of HHV-6B gene transcripts. J Med Virol. 査読有, 84(9):1388-95.
- 2) Matsumoto Y, Kawamura Y, Nakai H, Sugata K, Yoshikawa A, Ihira M, Ohashi M, Kato T, Yoshikawa T. 2012 Cytokine and chemokine responses in pediatric patients with severe pneumonia associated with pandemic A/H1N1/2009 influenza virus. Microbiol Immunol. 査読有, 56(9):651-5.
- 3) Higashimoto Y, Ohta A, Nishiyama Y, Ihira M, Sugata K, Asano Y, Peterson DL, Ablashi DV, Lusso P, Yoshikawa T. 2012 Development of a human herpesvirus 6 virus species-specific immunoblotting assay. J Clin Microbiol. 査読有, 50(4):1245-51.
- 4) Nakai H, Kawamura Y, Sugata K, Sugiyama H, Enomoto Y, Asano Y, Ihira M, Ohashi M, Kato T, Yoshikawa T. 2011 Host factors associated with the kinetics of EBV DNA load in patients with primary EBV infection. Microbiol Immunol. 査読有, 56(2):93-8.

- 5) Sugata K, Taniguchi K, Yui A, Nakai H, Asano Y, Hashimoto S, Ihira M, Yagasaki H, Takahashi Y, Kojima S, Matsumoto K, Kato K, Yoshikawa T. 2012 Analysis of rotavirus antigenemia in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 査読有, 14(1):49-56.
 - 6) Kawamura Y, Sugata K, Ihira M, Mihara T, Mutoh T, Asano Y, Yoshikawa T. 2011 Different characteristics of human herpesvirus 6 encephalitis between primary infection and viral reactivation. 2011 *J Clin Virol*. 査読有, 51(1):12-9.
 - 7) Yoshikawa T, Kato Y, Ihira M, Nishimura N, Ozaki T, Kumagai T, Asano Y. 2010 Kinetics of cytokine and chemokine responses in patients with primary human herpesvirus 6 infection. *J Clin Virol*. 査読有, 50(1):65-8
 - 8) Suzuki R, Ihira M, Enomoto Y, Yano H, Maruyama F, Emi N, Asano Y, Yoshikawa T. 2010 Heat denaturation increases the sensitivity of the cytomegalovirus loop-mediated isothermal amplification method. *Microbiol Immunol*. 査読有, 54(8):466-70.
 - 9) Ihira M, Sugiyama H, Enomoto Y, Higashimoto Y, Sugata K, Asano Y, Yoshikawa T. 2010 Direct detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by variant specific loop-mediated isothermal amplification in hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Virol Methods*. 査読有, 167(1):103-6
[学会発表] (計 14 件)
 - 1) 松尾高博 乾燥化 LAMP 法による簡便な突発性発疹迅速診断法の確立 第 7 回日本臨床検査学教育学会学術大会 2012 年 8 月 23 日 愛知
 - 2) 加藤友理 HHV-6 重感染の可能性解析: TRS 繰り返し回数検討 第 7 回日本臨床検査学教育学会学術大会 2012 年 8 月 23 日 愛知
 - 3) 井平 勝 乾燥化した LAMP 試薬による簡便な突発性発疹迅速診断法の有用性 第 12 回ヘルペスウイルス研究会 2012 年 6 月 8 日 愛知
 - 4) 井平 勝 *Mycobacterium tuberculosis*(Mtb) transrenal DNA の LAMP 法による検出条件の検討第 4 回 LAMP 研究会 2011 年 3 月 3 日 東京
 - 5) M.Ihira Suitable experimental condition for detection of *Mycobacterium tuberculosis* DNA in urine by the loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method Scientific meeting for HIV/AIDS, Influenza and TB Diagnosis by LAMP Zambia Lusaka 2011 October
 - 6) 岡田卓也 乾燥 LAMP 試薬による突発性発疹迅速診断の簡易、迅速化 第 43 回 藤田医学会 2011 10 月 愛知
 - 7) Y.Enomoto Analysis of HHV-6 gene expressions in malignant lymphoma tissues using real-time RT-PCR Union of Microbiological Societies Sapporo 2011 September
 - 8) Y.Higashimoto Development of human herpesvirus 6 variant specific immunoblotting assay International Herpesvirus Workshop Gudansk Poland 2011 July
 - 9) 井平 勝 サイクリングプローブ法を用いた VZV ワクチン株、野生株の鑑別法開発 第 52 回日本臨床ウイルス学会 三重県総合文化センター 2011 年 6 月 11 日
 - 10) 井平 勝 ヘルペスウイルス迅速診断法開発 愛知県臨床検査技師会教育セミナー 名古屋大学 2011 年 5 月 14 日
 - 11) 影山努 Direct RT-LAMP 法を用いたインフルエンザウイルス A/HN1pdm 検出法の開発 第 58 回日本ウイルス学会 2010 年 11 月 7 日
 - 12) 井平 勝 Qprobe を用いた定量的 HSV LAMP 法の開発 第 58 回日本ウイルス学会 2010 年 11 月 7 日
 - 13) T.Yoshikawa Kinetics of Cytokine and Chemokine Responses in Patients with Primary Human Herpesvirus 6 Infection 35th Annual International Herpesvirus Workshop USA Utha 2010 July
 - 14) M.Ihira The development of LAMP assay for quantification of HSV (herpes simplex virus) using quenching probe 35th Annual International Herpesvirus Workshop USA Utha 2010 July
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
井平 勝 (IHIRA MASARU)
藤田保健衛生大学・医療科学部・准教授
研究者番号: 10290165
 - (2) 研究分担者
杉山 博子 (SUGIYAMA HIROKO)
藤田保健衛生大学・医学研究科・研究員
研究者番号: 10387714
榎本 喜彦 (ENOMOTO YOSHIHIKO)
藤田保健衛生大学・医学研究科・研究員
研究者番号: 00387713
吉川 哲史 (YOSHIKAWA TETSUSHI)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号: 80288472