

〔報 文〕

蛍光RT-マルチプレックスPCR法を利用した胃腸炎ウイルス検出法の検討

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部 成相 絵里・児玉 洋江・崎川 曜子

〔和文要旨〕

蛍光RT-マルチプレックスPCR法を用いて胃腸炎ウイルス一斉検出法の検討を行った。その結果、異なるアニーリング温度を設定することができるサーマルサイクラーで、2組の蛍光RT-マルチプレックスPCR法を同時に実施することにより、ノロウイルスGI、ノロウイルスGII、サポウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス及びパレコウイルスの6種類の遺伝子を一斉に検出することが可能であった。従来実施していた単一のウイルス毎の検出法に比べ、大幅な省力化と検査に要する時間の短縮が可能となり、特に感染症発生動向調査事業における検査に有用であった。

キーワード：蛍光RT-マルチプレックスPCR法、胃腸炎ウイルス

1 はじめに

食中毒や感染症発生時には、事例をいかに早期に探知し、病因物質の特定等の原因究明を行い、その対策をとるかが行政の重要な課題である。胃腸炎の原因となるウイルスはノロウイルスをはじめサポウイルス、ロタウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス、パレコウイルスなど様々である。これらのウイルスのうち主なウイルス数種類を一斉に検出できれば、原因ウイルス特定までに要する時間の大幅な短縮が可能となり、迅速かつ的確な行政対応に非常に有用である。

マルチプレックスPCR法は、複数の対象を同時に検出する方法であり、これに蛍光標識プライマーを用いることにより増幅産物の色とサイズで数種類の識別を可能とする、蛍光RT-マルチプレックスPCR法を用いたウイルスの一斉検出法が報告されている¹⁾。

我々は、この方法を参考に、6種類のウイルス（ノロウイルスGI、ノロウイルスGII、サポウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス、パレコウイルス）を一斉に検出する方法を確立したので、本報ではこれについて報告する。

2 材料と方法

2・1 試料及び検討内容

(1) 蛍光RT-マルチプレックスPCR法の検討
既知検体を用いて、蛍光RT-マルチプレックスPCR法のウイルスの組み合わせ、最適条件、検出感度等の検討を行った。

なお、使用した既知検体は、平成24～27年度に感染症発生動向調査事業における小児科病原体定点医療機関を受診した感染性胃腸炎患者から採取された糞便のうち、(RT-) PCR法²⁾⁻⁴⁾によりノロウイルスGI、ノロウイルスGII、サポウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス、パレコウイルス遺伝子が検出された検体、各1検体（計6検体）である。

ア ウイルスの組み合わせの検討

事前検討において、既報¹⁾に基づきMultiplex PCR Assay Kit Ver.2（タカラバイオ）を用いてノロウイルスGI、ノロウイルスGII、サポウイルス、アストロウイルスの4種類の一斉検出を試みたが、青色蛍光（Alexa Fluor 350）標識したアストロウイルスの検出が難しく、プライマーの変更によっても改善しなかった。そのため、使用する蛍光を3種類とし、この組み合わせ（Aセット）

Study on Detection Method of Enteric Virus Using a Reverse Transcription Fluorescent Multiplex PCR Assay. by NARIAI Eri, KODAMA Hiroe and SAKIKAWA Yoko (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : reverse transcription fluorescent multiplex PCR assay, enteric virus

表1 蛍光RT-マルチプレックスPCR法で使用するプライマーセット

セット	対象ウイルス	プライマー	蛍光標識	プライマー配列 (5'→3')	増幅産物のサイズ
A	ノロウイルスGI	G1-SKF	Alexa Fluor 488 (緑)	CTGCCCGAATTYGTAAATGA	330
		G1-SKR	なし	CCAACCCARCCATTRTACA	
	ノロウイルスGII	G2-SKF G2-SKR	Alexa Fluor 594 (赤) なし	CNTGGGAGGGCGATCGCAA CCRCCNGCATRHCCRTTRTACAT	344
B	サボウイルス	SV-F2 SV-R2	なし Alexa Fluor 532 (黄)	TAGTGTTTGARATGGAGGGC GWGGGRTCAACMCCWGGTGG	433
	アストロウイルス	Mon244 82b	Alexa Fluor 594 (赤) なし	GGTGTACAGGACCAAAACC GTGAGCCACCAGCCATCCCT	410
	アデノウイルス	AdnU-S'2 AdnU-A2	Alexa Fluor 532 (黄) なし	TTC CCC ATG GCN CAC AAY AC TGC CKR CTC ATR GGC TGR AAG TT	554
	パレコウイルス	F2 (nt 313-335) R2 (nt 556-534)	Alexa Fluor 488 (緑) なし	YCACACAGCCATCCTCTAGTAAG GTGGGCCTTACAACACTAGGTTTG	243

からアストロウイルスを除くこととした。Aセットから除いたアストロウイルスは、アデノウイルス、パレコウイルスとともに新たな組み合わせ (Bセット) に組換え、6種類のウイルスを2つのセット (A, B) に分け (表1)、最適条件の検討等を行うこととした。

イ 最適条件の検討

Aセット (ノロウイルスGI, ノロウイルスGII, サボウイルス) については、既報とほぼ同一のプライマーを用いていることから、既報と同条件とし、最適条件の検討は省略し、94℃・1分の熱変性後、94℃・30秒、57℃・1分30秒、72℃・1分30秒を40サイクル行い、最後に72℃・10分の最終伸長を行った。

Bセット (アストロウイルス, アデノウイルス, パレコウイルス) については、1台のサーマルサイクラーでA, B両セットの検査ができるようAセットと同条件とする方向で検討を進めることとし、使用するプライマーにより最適温度が異なるアニーリング温度について、55℃~65℃の間で最適条件の検討を行った。すなわち、

94℃・1分の熱変性後、94℃・30秒、55℃~65℃・1分30秒、72℃・1分30秒を40サイクル行い、最後に72℃・10分の最終伸長を行った。

ウ 検出感度等の検討

感度及び有用性検討の比較対照法 (以下、対照法) として、TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version (タカラバイオ) を用い、表2に示す条件で各々のウイルスを対象に個別にPCRを実施した。

(2) 食中毒・感染症事例における有用性検討

平成27年4月から平成28年3月に石川県で発生した感染性胃腸炎の集団事例 (食中毒及び感染症) のうち、4事例の患者または調理従事者等 (無症状) の糞便34検体 (事例あたり3~14検体) を用いて、(1) で検討した最適条件における有用性を検討した。

(3) 小児散発事例における有用性検討

前記(2)と同期間に感染症発生動向調査事業における小児科病原体定点医療機関を受診した感染性胃腸炎患者から採取された糞便50検体を用いて、(1) で検討した最

表2 対照法で使用するプライマーとPCR条件

対象ウイルス	プライマー	PCR条件
ノロウイルスGI	G1-SKF/G1-SKR	98℃・1秒 (98℃・10秒→50℃・30秒→72℃・1分) ×40サイクル 72℃・5分
ノロウイルスGII	G2-SKF/G2-SKR	98℃・1秒 (98℃・10秒→50℃・30秒→72℃・1分) ×40サイクル 72℃・5分
サボウイルス	SV-F2/SV-R2	98℃・1秒 (98℃・10秒→46℃・30秒→72℃・1分) ×40サイクル 72℃・5分
アストロウイルス	Mon244/82b	98℃・1秒 (98℃・10秒→59℃・30秒→72℃・1分) ×40サイクル 72℃・5分
アデノウイルス	AdnU-S'2/AdnU-A2	98℃・1秒 (98℃・10秒→50℃・30秒→72℃・1分) ×40サイクル 72℃・5分
パレコウイルス	F2 (nt 313-335) /R2 (nt 556-534)	98℃・1秒 (98℃・10秒→55℃・30秒→72℃・1分) ×40サイクル 72℃・5分

適条件における有用性を検討した。

2・2 ウイルスRNA抽出と逆転写反応

糞便をPBS (-) で10%乳剤とし、RNA抽出はQIAamp Viral RNA Mini キット (Qiagen) を用いて行った。逆転写反応はPrimeScript® RT reagent Kit (Perfect Real Time) (タカラバイオ) を用いてcDNA合成を行った。

2・3 マルチプレックスPCR反応

マルチプレックスPCR反応は、Multiplex PCR Assay Kit Ver.2 (タカラバイオ) を用い、表1に示す3色のAlexa蛍光で標識したプライマーを終濃度0.2μMになるように加えた反応液22.5μlにcDNAを2.5μl 加えて行った。

機器は、GeneAmp PCR System 9700 (アプライドバイオシステムズ) またはVeriti (アプライドバイオシステムズ) を使用した。

2・4 電気泳動条件

蛍光RT-マルチプレックスPCR法の電気泳動は、1.5%アガロースゲルを用い、マルチプレックスPCR反応液5μLに6 x Loading Buffer Orange G (ニッポンジーン) 1μLを混合しアプライした。サイズマーカーには100 bp DNA Ladder (Bioneer) 5μLにEZ-Vision® One (AMRESCO) を1μL混合したものを使用した。

なお、対照法は、PCR反応液5μLにEZ-Vision® One (AMRESCO) を1μLを混合しアプライした。サイズマーカーは蛍光RT-マルチプレックスPCR法と同様に100 bp DNA Ladder (Bioneer) 5μLにEZ-Vision® One (AMRESCO) を1μL混合したものを使用した。

電気泳動後にUVトランスイルミネーター上で蛍光RT-マルチプレックスPCR法はUV (312nm) を、従来法はUV (365nm) を照射して、増幅産物の蛍光バンドまたは単色バンドを観察した。アガロースゲルの撮影には、STAGE-2000 (アムズシステムサイエンス) を使用

し、カラー撮影には紫外線吸収フィルター SC-46 (富士フイルム) を、モノクロ撮影にはSTAGE-2000付属のエチジウムプロマイド用フィルターを使用した。

3 成 績

3・1 蛍光RT-マルチプレックスPCR法の検討

(1) Aセット (ノロウイルスGI, ノロウイルスGII, サボウイルス)

Aセットの各ウイルスの陽性検体をテンプレートとして、蛍光RT-マルチプレックスPCR法を実施した結果、既報と同条件で想定したサイズと色のバンドが確認でき、非特異反応もみられなかった (図1)。

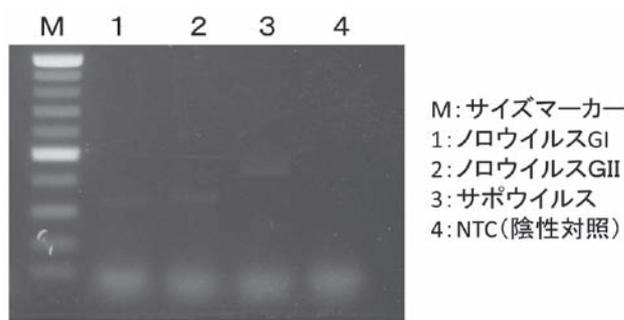


図1 蛍光RT-マルチプレックスPCR法 (Aセット) 陽性検体アガロースゲル電気泳動写真

次に各ウイルスの陽性検体由来cDNAの10倍段階希釈シリーズをテンプレートとして、蛍光RT-マルチプレックスPCR法と対照法を比較した。いずれのウイルスも感度は対照法と同じか、それ以上であった (表3)。

さらに、既知検体を混合し、Aセットのウイルスのうち2種類を含む模擬検体を作成し、それぞれのウイルスを検出できるか確認した。ノロウイルスGIとノロウイルスGIIの組み合わせは、増幅産物のサイズがあまり変わらないため、蛍光が重なるものの、いずれの組み合わせ

表3 蛍光RT-マルチプレックスPCR法と対照法の比較

セット	対象ウイルス	検査法	検体希釈率							
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
A	ノロウイルスGI	蛍光RT-マルチプレックスPCR	+	+	+	+	+	-	NT	NT
		対照法	+	+	+	-	-	-	NT	NT
	ノロウイルスGII	蛍光RT-マルチプレックスPCR	+	+	+	+	+	-	NT	NT
		対照法	+	+	+	+	+	-	NT	NT
	サボウイルス	蛍光RT-マルチプレックスPCR	+	+	+	+	-	-	NT	NT
		対照法	+	+	+	+	-	-	NT	NT
B	アストロウイルス	蛍光RT-マルチプレックスPCR	+	+	+	+	+	+	+	-
		対照法	+	+	+	+	+	+	-	-
	アデノウイルス	蛍光RT-マルチプレックスPCR	+	+	-	-	-	-	NT	NT
		対照法	+	+	+	-	-	-	NT	NT
	パレコウイルス	蛍光RT-マルチプレックスPCR	+	+	+	+	+	-	NT	NT
		対照法	+	+	+	+	+	-	NT	NT

+ : 陽性, - : 陰性, NT : not tested

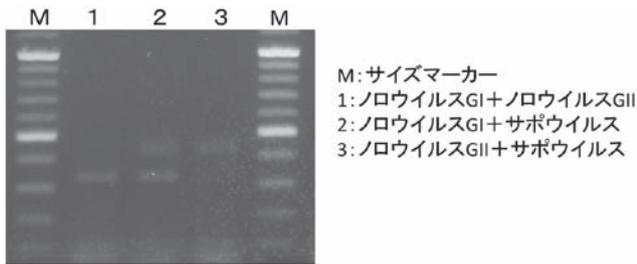


図2 蛍光RT-マルチプレックスPCR法（Aセット）混合検体アガロースゲル電気泳動写真

も2種類のウイルスを検出することが可能であった（図2）。

(2) Bセット（アストロウイルス，アデノウイルス，パレコウイルス）

Bセットの各ウイルスの陽性検体をテンプレートとし、アニーリング温度を変えて蛍光RT-マルチプレックスPCR法を実施した。その結果、アニーリング温度は59℃が最適であり、想定したサイズと色のバンドが確認でき、非特異反応もみられなかった（図3）。

次に各ウイルスの陽性検体由来cDNAの10倍段階希釈シリーズをテンプレートとして、蛍光RT-マルチプレックスPCR法と対照法を比較した。アデノウイルスは蛍光RT-マルチプレックスPCR法が対照法に比べ若干感度が劣るが、それ以外のウイルスの感度は対照法と同じか、それ以上であった（表3）。

さらに、既知検体を混合し、Bセットのウイルスのう

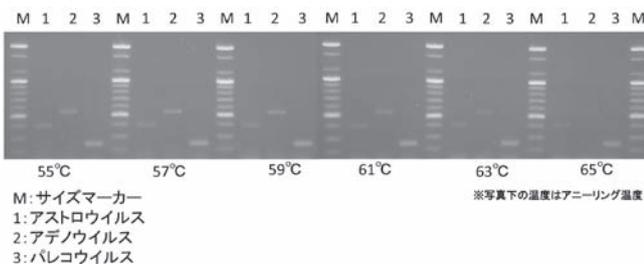


図3 蛍光RT-マルチプレックスPCR法（Bセット）陽性検体アガロースゲル電気泳動写真

ち2種類を含む模擬検体を作成し、それぞれのウイルスを検出できるか確認した。いずれの組み合わせも2種類のウイルスを検出することが可能であった（図4）。

これらの結果、Bセットの最適なアニーリング温度がAセットと異なったことから6種類のウイルスを同時に検出するため、以後、本研究では、1台の機器で異なる温度設定が可能なVeriti（アプライドバイオシステムズ）を使用することとした。

3・2 食中毒・感染症事例の検討

今回対象とした4事例のうち、2事例（事例番号1, 2）からノロウイルスGIIが、1事例（事例番号3）からノロウイルスGIが検出され（表4）、当該事例発生時の検査結果とすべて一致した。なお、事例発生時のノロウイルス検出法はリアルタイムPCR法⁵⁾またはLAMP法⁶⁾であり、ノロウイルスが検出されたこれら3事例については、当該時にはノロウイルス以外のウイルス検出は実施していない。

また、ノロウイルスが検出されなかった1事例（事例番号4）では、2組の蛍光RT-マルチプレックスPCR法に含まれる6種類のウイルスはいずれも陰性であった。この事例は、A群ロタウイルスが検出された事例であった。

3・3 小児散発事例の検討

50検体について蛍光RT-マルチプレックスPCR法を実施した結果、30検体（60.0%）から、6種類のいずれか

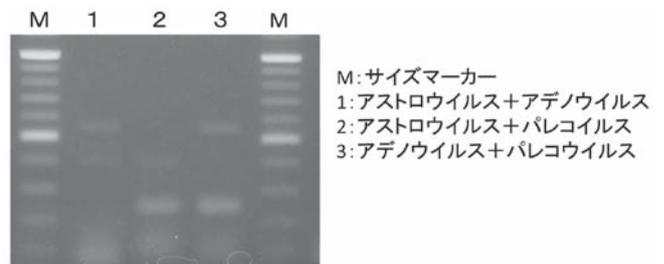


図4 蛍光RT-マルチプレックスPCR法（Bセット）混合検体アガロースゲル電気泳動写真

表4 食中毒・感染症事例の検査結果

事例番号	検査検体数	蛍光RT-マルチプレックスPCR法						事例発生時			
		Aセット			Bセット			リアルタイムPCR法		LAMP法	
		ノロウイルスGI	ノロウイルスGII	サポウイルス	アストロウイルス	アデノウイルス	パレコウイルス	ノロウイルスGI	ノロウイルスGII	ノロウイルスGI	ノロウイルスGII
1	3	陰性	陽性(3)	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性(3)	NT	NT	
2	12	陰性	陽性(8)	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性(8)	NT	NT	
3	14	陽性(10)	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性(10)	陰性	NT	
4	5	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	NT	NT	陰性	

NT：not tested
()は陽性となった検体数

のウイルスが検出された(表5)。このうちノロウイルスGIIは15検体(30.0%)から、パレコウイルスが10検体

表5 小児散発事例の検査結果

検体番号	蛍光RT-マルチプレックスPCR法(Aセット)	蛍光RT-マルチプレックスPCR法(Bセット)	従来法* (個別の (RT-)PCR法)
1	陰性	陰性	陰性
2	陰性	陰性	陰性
3	陰性	陰性	陰性
4	陰性	陰性	陰性
5	陰性	陰性	陰性
6	陰性	陰性	陰性
7	陰性	陰性	陰性
8	ノロウイルスGII	陰性	ノロウイルスGII
9	陰性	アストロウイルス	アストロウイルス
10	陰性	陰性	陰性
11	陰性	アストロウイルス	アストロウイルス
12	陰性	陰性	陰性
13	サボウイルス	陰性	サボウイルス
14	陰性	陰性	陰性
15	陰性	陰性	陰性
16	陰性	アデノウイルス	アデノウイルス
17	陰性	陰性	陰性
18	陰性	陰性	陰性
19	陰性	陰性	陰性
20	ノロウイルスGII	陰性	ノロウイルスGII
21	陰性	アデノウイルス パレコウイルス	アデノウイルス パレコウイルス
22	陰性	アストロウイルス パレコウイルス	アストロウイルス パレコウイルス
23	陰性	陰性	陰性
24	陰性	アデノウイルス	アデノウイルス
25	陰性	陰性	陰性
26	ノロウイルスGII	陰性	ノロウイルスGII
27	陰性	パレコウイルス	パレコウイルス
28	ノロウイルスGII	パレコウイルス	ノロウイルスGII パレコウイルス
29	ノロウイルスGII	パレコウイルス	ノロウイルスGII パレコウイルス
30	陰性	アデノウイルス	アデノウイルス
31	ノロウイルスGII	アデノウイルス	ノロウイルスGII アデノウイルス
32	ノロウイルスGII	陰性	ノロウイルスGII
33	陰性	パレコウイルス	パレコウイルス
34	ノロウイルスGII	パレコウイルス	ノロウイルスGII パレコウイルス
35	ノロウイルスGII	陰性	ノロウイルスGII
36	ノロウイルスGII	パレコウイルス	ノロウイルスGII パレコウイルス
37	ノロウイルスGII	陰性	ノロウイルスGII
38	陰性	アデノウイルス	アデノウイルス
39	陰性	アストロウイルス	アストロウイルス
40	ノロウイルスGII	陰性	ノロウイルスGII
41	ノロウイルスGII	陰性	ノロウイルスGII
42	陰性	陰性	陰性
43	陰性	アデノウイルス	アデノウイルス
44	ノロウイルスGII	パレコウイルス	ノロウイルスGII パレコウイルス
45	ノロウイルスGI	陰性	ノロウイルスGI
46	陰性	陰性	陰性
47	陰性	陰性	陰性
48	ノロウイルスGII	陰性	ノロウイルスGII
49	陰性	パレコウイルス	パレコウイルス
50	陰性	陰性	陰性

*対象ウイルス:ノロウイルスGI、ノロウイルスGII、サボウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス、パレコウイルス

※結果は陽性となったウイルスのみ記載

(20.0%)、アデノウイルスが7検体(14.0%)、アストロウイルスが4検体(8.0%)、ノロウイルスGI及びサボウイルスが各1検体(2.0%)から検出された(表6)。また、複数のウイルスが検出された検体が8検体あり、うち5検体(5/8, 62.5%)はノロウイルスGIIとパレコウイルスが検出されたものであった。なお、いずれの結果も当該時の検査結果との齟齬は無かった。

表6 小児散発事例の蛍光RT-マルチプレックスPCR法検査結果(まとめ)

検出されたウイルス	検体数
ノロウイルスGI	1
ノロウイルスGII	9
サボウイルス	1
アストロウイルス	3
アデノウイルス	5
パレコウイルス	3
ノロウイルスGII + パレコウイルス	5
ノロウイルスGII + アデノウイルス	1
アデノウイルス + パレコウイルス	1
アストロウイルス + パレコウイルス	1
陰性	20
合計	50

*対象ウイルス:ノロウイルスGI、ノロウイルスGII、サボウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス、パレコウイルス

4 考 察

今回検討した2組の蛍光RT-マルチプレックスPCR法は対照法とほぼ同等以上の感度であった。アニーリング温度が57℃と59℃で異なっているが、当センターで保有しているブロック毎に異なる温度設定が可能な機能を有する機器であれば、1台で2組の蛍光RT-マルチプレックスPCR法を同時に実施でき、一度に6種類のウイルスを検出できることから、有用な検出法であった。

しかしながら、食中毒・感染症事例において検出されるウイルスは、圧倒的にノロウイルスが多く、事例発生の際は、まずノロウイルスについて迅速に結果が判明するリアルタイムPCR法またはLAMP法により検査を行い、その結果により他のウイルス検査実施の判断がなされることが多い。今回検討に用いた4事例についても、その結果と齟齬は無かったが、ノロウイルスに次いで事例の多いA群ロタウイルスが入っていないこともあり、実際には、食中毒・感染症事例において蛍光RT-マルチプレックスPCR法を導入するには課題がある。今後、ノロウイルス以外のウイルスによる事例での検証や新たな組み合わせの検討が必要であるが、これら有事の際の一つの選択肢としての活用は可能であり、また、蛍光RT-マルチプレックスPCR法は、陽性または陰性の判定の後、引き続き遺伝子型解析を行うことが可能な方法で、

この点はリアルタイムPCR法やLAMP法にはない利点である。

一方、感染症発生动向調査事業において感染性胃腸炎患者糞便を検査する場合には、様々なウイルスが検出され、また、複数のウイルスが同一検体から検出されることもあることから、2組の蛍光RT-マルチプレックスPCR法は、大幅な省力化と検査にかかる時間の短縮が可能で有用であった。また、同事業の病原体サーベイランスにおいて感染性胃腸炎患者から検出されたウイルスの約7割は、今回検討した6種類のウイルスが占めており⁷⁻⁸⁾、2種以上のウイルスを保有する例においてもそれぞれ検出が可能である点からも蛍光RT-マルチプレックスPCR法は非常に有用であった。

注意すべき点としては、蛍光RT-マルチプレックスPCR法のアガロースゲル電気泳動では、サイズマーカーにDNA染色試薬 (EZ-Vision® One) を混合して使用するため、泳動槽の泳動用バッファーを繰り返し使用すると検体のバンドの蛍光色が変わってしまうことから、毎回新しい泳動用バッファーを使用する必要がある。

今後、特に食中毒や感染症事例における蛍光RT-マルチプレックスPCR法の有用性を高めるため、事例の検証を重ねつつ他の組み合わせの検討等を行っていきたい。

5 ま と め

- (1) 蛍光RT-マルチプレックスPCR法は、一度に複数のウイルスを検出できる優れた検査法であり、検査に要する労力と時間の大幅な削減が可能となった。
- (2) 食中毒・感染症事例において蛍光RT-マルチプレックスPCR法を活用する場合は、対象ウイルスの追加や組み合わせの再検討など、さらに工夫する必要があると思われた。
- (3) 感染症発生动向調査事業においては、今回検討した2組の蛍光RT-マルチプレックスPCR法は大変有用であり、今後はこれらを常法として使用していくこととしたい。

※図1～4のカラー写真を7頁に再掲

文 献

- 1) SHIGEMOTO Naoki, FUKUDA Shinji, TANIZAWA Yukie, KUWAYAMA Masaru, OHARA Sachiko, SENO Masato: Detection of norovirus, sapovirus, and human astrovirus in fecal specimens using a multiplex reverse transcription-PCR with fluorescent dye-labeled primers. , *Microbiol Immunol*, **55**, 369-372 (2011)
- 2) 国立感染症研究所, ウイルス性下痢症検査マニュアル (第3版), (2003)
- 3) MIURA-OCHIAI Rika, SHIMADA Yasushi, KONNO Tsunetada, YAMAZAKI Shudo, AOKI Koki, OHNO Shigeaki, SUZUKI Eitaro, ISHIKO Hiroaki: Quantitative detection and rapid identification of human adenoviruses., *J. Clin. Microbiol*, **45**, 958-967 (2007)
- 4) HARVALA Heli: Epidemiology and clinical associations of human parechovirus respiratory infections., *J Clin Microbiol*, **46**, 3446-3453 (2008)
- 5) 厚生労働省通知「ノロウイルスの検出法について (平成15年11月5日食安監発第1105001号) (最終改正 平成25年10月22日食安監発第1022第1号)」
- 6) NOTOMI Tsugunori, OKAYAMA Hiroto, MASUBUCHI Harumi, YONEKAWA Toshihiro, WATANABE Keiko, AMINO Nobuyuki and HASE Tetsu: Loop-mediated isothermal amplification of DNA, *Nucleic Acids Research*, **28**, No.12, e63 (2000)
- 7) ウイルス検出状況, 臨床診断名別2013年1月～6月累計: 病原微生物検出情報月報, **34** (7), 218 (2013)
- 8) ウイルス検出状況, 臨床診断名別2013年7月～12月累計: 病原微生物検出情報月報, **35** (1), 30 (2014)

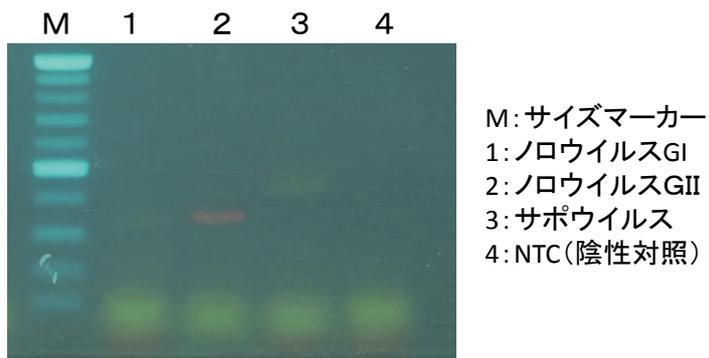


図1 蛍光RT-マルチプレックスPCR法 (Aセット) 陽性検体アガロースゲル電気泳動写真

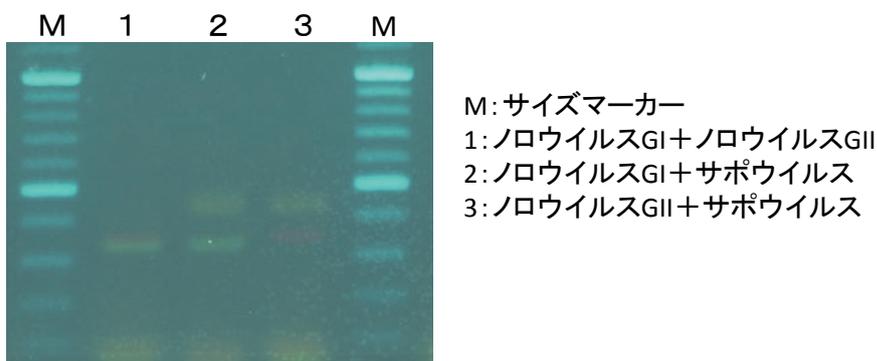
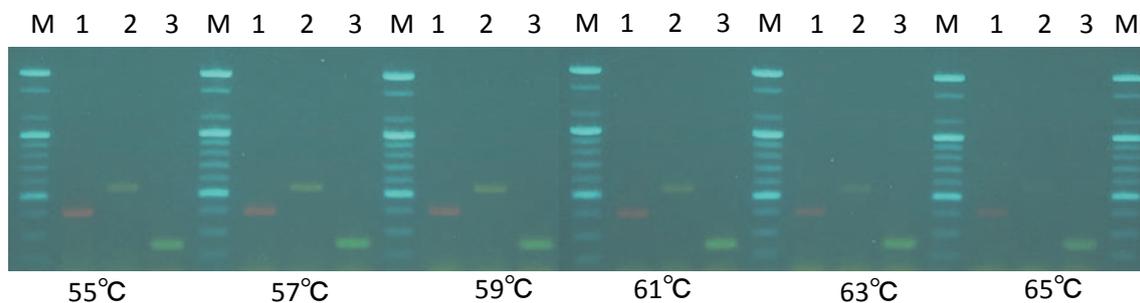


図2 蛍光RT-マルチプレックスPCR法 (Aセット) 混合検体アガロースゲル電気泳動写真



M: サイズマーカー
 1: アストロウイルス
 2: アデノウイルス
 3: パレコウイルス

※写真下の温度はアニーリング温度

図3 蛍光RT-マルチプレックスPCR法 (Bセット) 陽性検体アガロースゲル電気泳動写真

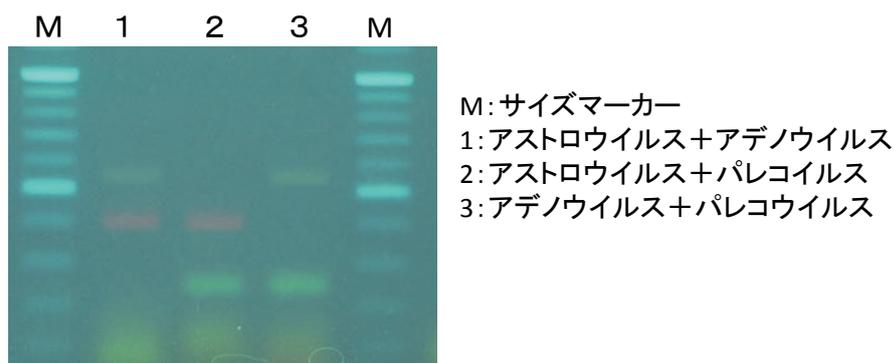


図4 蛍光RT-マルチプレックスPCR法 (Bセット) 混合検体アガロースゲル電気泳動写真