



ブルネーバートル・ウヤンガ

職業：モンゴル医療大学 研究員
研修項目：HIV検査の知識・技術、HIV遺伝子解析技術、HIV遺伝子塩基配列の分析
研修機関：神奈川県衛生研究所
Name：BURNEEBAATAR Uyanga
Occupation：Researcher, Health Sciences University of Mongolia
Training Subject：HIV testing and technique, Molecular Biological technology of HIV and sequencing of HIV genes
Place of Training：Kanagawa Prefectural Institute of Public Health

来日前について

私は、モンゴルから来ました。モンゴルは中央アジアの真ん中に位置しており、中国とロシアの間にあります。人口は280万人、面積は1,566,500km²です。1990年に、それまでの社会主義体制から民主主義体制に変わりました。ウラーンバートルはモンゴルの首都です。今、120万人が住んでいます。私もウラーンバートル市に住んでいます。

私は、「医学の勉強をしてモンゴルの人たちの健康を守る仕事をしたい」と考え、2005年にモンゴル健康科学大学 (HSUM) を卒業しました。

モンゴル国立医科大学は、1942年に創立されました。2003年にはHSUMに再編されました。HSUMは、モンゴルでの健康に関する最高水準の教育機関です。大学は、医科の研究機関や学校を備えています。医学部、生物医学部、歯学部、公衆衛生学部、伝統医学部、薬学部、看護学部および大学院です。私は卒業後、HSUMの医科学系研究科で研究をしていました。その時、血液学や生化学を研究しました。

モンゴルでは、現在、HIVの病気になる人がどんどん増えています。私は、HIVの研究をしたことがありませんでしたが、「モンゴルのこのような問題に取り組むことが大切」と考え、頑張ろうと思いました。しかしながら、モンゴルでは、現在HIVの検査や治療に必要な十分な施設や設備もありませんし、知識を持った人たちもとても限られています。従って、HIVの研究もなかなか困難です。このような時に、日本で研究をする機会があると聞き、それに応募しました。その結果、日本での研修員に選ばれることになりました。いろいろと不安もありましたが、とても嬉しかったです。

専門研修について

私は、2006年10月から2007年3月まで、神奈川県衛生研究所で微生物について研究をさせていただきました。専門研修の課題は、HIV検査の知識・技術、HIV分子生物学技術、HIV遺伝子塩基配列の分析です。

2006年10月から11月まで

血清学的方法：

1. ゼラチン粒子凝集法 (PA法)
- HIV Ab、HBsAg、Anti-HBs、Anti-HBc、

HCV Ab、TP AbおよびHTLV-1に関するスクリーニング検査

-スクリーニング再検査 (滴定検査、確認検査)
PA法は、HIV抗体検査で最も広く用いられる検査法です。希釈した血清5 μ lに、精製したHIV抗原を被覆したゼラチン粒子の懸濁液をマイクロプレートの上で混合し、室温で2時間培養後、判定します。

2. 即日検査

- ダイナスクリーニング法
- エスプライン
- クイックチェイサー

即日検査は、HIV抗体を即座に検出する方法で、世界各国の多くの研究所で採用されています。検査に要する時間は10分から15分です。反応後、比色により陽性、陰性の判定を行います。

3. ウェスタンブロット法

ウェスタンブロット法は、より多くの情報を提供するのでスクリーニング検査や酵素抗体法 (ELISA) 後の確認検査に用いられます。この方法は、感度・特異度に優れていますが、他の方法に比べ費用がかかります。

2006年12月

細胞培養：

1. 細胞培養培地の準備
2. 細胞培養継代
3. 試料の接種
4. ウイルス分離
5. 分離ウイルスの同定 (中和試験、蛍光分析、赤血球凝集阻止試験)
6. ウイルス滴定
7. 細胞変性効果 [作用] の観察

ウイルス学における細胞培養の技術は、めざましい進歩を遂げました。細胞培養とは、原核細胞または真核細胞を特定の条件下で培養するプロセスを指しますが、実際は、「細胞培養」という言葉は、真核細胞、とくに動物細胞に由来する細胞を培養することを指します。細胞は、適切な温度とガス混合度 (一般的には37 $^{\circ}$ C、5%、CO₂) に保たれたインキュベーターの中で培養します。培養条件は、それぞれの細胞のタイプによって大きく異なり、特定の細胞タイプに対する条件を変化させることにより、異なった表現型が出現します。

2007年1月から3月まで

遺伝子学的方法：

1. 末梢血単核細胞 (PBMC) の分離
2. PBMCからのプロウイルス性DNA抽出
3. 血漿からのウイルス性RNA抽出
4. ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法
5. アガロースゲル電気泳動によるPCR産物の検出
6. PCR産物の精製
7. HIV遺伝子塩基配列の解析
8. HIVサブタイプの解析及び薬剤耐性の相違

PCR法は、迅速、かつ感度の高い診断法です。PCR法は、ウイルス遺伝子の検出、HIVサブタイプおよびその薬物耐性を調べることにより行われます。検査では、血漿およびPBMCよりHIVのRNAまたはDNAを分離します。抽出したRNAまたはDNAはPCR検査でターゲット遺伝子の増幅に用いられます。PCR法による増幅はサーマルサイクラーの中で行われます。サーマルサイクラーは、内部の反応チューブを反応ステップごとに定められた温度に正確に加熱または冷却します。PCRサイクラーでは次の3つのステップが繰り返されます。

ステップ1. 熱変成 (90-100℃)

ステップ2. 二つのプライマーのアニーリングによるターゲット配列の断片合成 (50-60℃)

ステップ3. 相補鎖としてのプライマーの伸長 (72℃)

私たちは、アガロースゲル電気泳動によりPCR産物を検出しました。HIV遺伝子型は直接塩基配列解析を行い同定しました。ウイルスの遺伝子型変異を検出にはシークエンス法を用います。この方法により異なる遺伝子タイプの薬剤耐性を調べることができます。

出張研修：

1. 名古屋市立大学医学部の見学とウイルス学会に参加しました。
(2006年11月、名古屋)
2. ロシュ・ダイアグノスティクス社のアンプリコアモニター (Amplicor HIV-1 Monitor ver1.5b) の技術研修
(2006年12月、東京)
3. ロシュ・ダイアグノスティクス社の技術研修
(2007年1月、東京)

帰国後について

神奈川県衛生研究所でこの研究を始めてから、もう6か月が過ぎました。実験室でいろいろなウイルスの病気をどうやって診断することができるかを勉強しました。国へ帰ったら、私は、この研修で得た知識や技法を他の研修者に伝えたとともに、自分でも使っていきたいと考えています。私の所属しているHSUMでは、新しい研究施設が作られています。そこで日本で得た知識を生かして高度技術を実践していきたいです。

また、今回の研修では、技術だけでなく、いろいろな国のライフスタイルや文化を学びました。世界中で国際化が進んでいるため、異文化を理解することがますます必要になってくると思います。

日本での7か月間の滞在について

日本での生活は、初めての物や事柄がたくさんありました。また、初めて家からこんなに遠い所に来ました。成田空港に着いた時、日本はとてもきれいな国だと思いましたが、そのときは8月で、とても蒸し暑く、サウナに入ったような気持ちがしました。

私たち研修員は、色々な国から来ています。昼間は、みんな別々の研修機関に行っていますが、一緒に生活はとても楽しかったです。

日本に来て、きれいな景色をたくさん見ることができました。その中で一番印象に残っているのは、江ノ島の海です。海のないモンゴルから来た私にとって、広くて、きれいな海はとても新鮮でした。他に、鎌倉の大仏や東京タワー、六義園、富士山にも行きました。また、草津で温泉に入り、気持ち良かったです。けれども、始めは温泉の入り方に戸惑いました。サウナは、私の国にもありますが、温泉はありません。大勢で一緒に入ることもありません。温泉のお湯は、とても熱くて慣れるまで時間がかかりましたが、入ってみると、とても気持ちの良いものでした。仕事で名古屋に行く機会もありました。名古屋城を見ました。日本の文化も体験しました。日本のお茶セレモニーや、盆踊りがとても面白かったです。

私は、一生の中で、今回がもしかすると唯一の良い機会かもしれないと思い、何ごとも勉強し、取り組んでみようと思いました。いろいろなことが、私にとって大変良い経験になりました。日本の食べ物 (料理やお菓子) は、とても美味しく、毎回食べるのが楽しみでした。モンゴルでは、生の肉を食べることはありません。私は、日本で初めて馬刺しを食べました。日本での生活は、楽しくてとても面白かったので、時間が早く過ぎてしまいました。

最後に、神奈川県と、神奈川県国際研修センターの皆さんに、お礼を申し上げたいと思います。研修センターの皆さんは、私が7か月間日本に滞在している間、本当にお世話やご支援していただきました。

また、専門研修でお世話になりました神奈川県衛生研究所の皆さんに深く感謝いたします。日本語の先生方は、日本に来た最初の1か月で、一生懸命日本語を教えてくださいました。そのおかげで、日本語でのコミュニケーションが取れるようになりました。

終わりに、センターに住んでいる全ての留学生と日本人チューターさん、そして研修員の皆さんの、すばらしい交流と助け合いに心からお礼を言いたいです。

(原文：英語、日本語)

BEFORE COMING TO JAPAN

I am from Mongolia. Mongolia is situated in the middle of Central Asia between China and Russia. It covers 1,566,500 km² of land and has a population of about 2.8 million people. Mongolia transitioned from socialism to democracy in 1990. The capital is Ulaanbaatar, which is home to approximately 1.2 million people including myself.

With the hope of working in a field where I can contribute to the health of Mongolian People, I studied medicine at the Health Sciences University of Mongolia (HSUM) graduating in 2005.

The university's forerunner was the Medical Faculty of the Mongolian State University, which was founded in 1942, and restructured to the present institution in 2003. HSUM offers the highest level of education about health issues in Mongolia. It is equipped with research institutes and schools in faculties of medicine, biomedicine, dentistry, public health, traditional medicine, pharmacy and nursing. It also has institutes of postgraduate education. After the graduation, I continue my studies at HSUM's Graduate School of Medicine, and have been engaged in hematological and biochemical research.

In recent Mongolia, the number HIV-infected patients is increasing. Although I had never studied HIV infection before, I thought it was critical to get involved in such an issue that Mongolian society is facing. However, our country lacks adequate facilities or equipment for HIV testing or treatment. The peoples' knowledge on HIV is very limited too, all of which makes it difficult to conduct HIV studies.

With all this going on, I heard about the study program in Japan. I applied for it and was luckily chosen as a trainee. I do admit that I wasn't without some worries, but also I was very thrilled to come.

ON SPECIALIZED TRAINING

I received training at the Kanagawa Prefectural Institute of Public Health from October 2006 to March 2007 and studied microbiology. Specialized training was conducted on the acquisition of knowledge and techniques on HIV testing, HIV molecular biological technology, and sequencing of HIV genes.

From October to November 2006

Serologic Methods:

1. PA Method

-Screening test for HIV Ab, HBsAg, Anti-HBs, AntiHBc, HCV Ab, TP Ab and HTLV-1.

-Re-screening test. (Titration and Confirmation test)

Particle agglutination assay is the most widely used screening test for HIV antibody. It was performed by mixing 5 μ l of a deluted serum with a suspension of gelatin particles coated with purified HIV antigen. The assay is performed in a microplate and can be read after

incubating for 2 hours at room temperature.

2. Rapid Test: -Daina Screen Method

-ESPLINE

-Quick Chaser

Rapid tests can detect HIV antibodies in blood quickly. They are in use in many laboratories around the world. These assays's results can be obtained in 10-15 minutes. The tests are read as positive or negative on the basis of the color reaction as compared to positive and negative spots.

3. Western Blot

The Western Blot is a more informative and used for confirmation after screening test or ELISA. Western Blot has sensitivity and specificity, but it is expensive than other tests.

December 2006

Cell Culture:

1. Preparation of cell culture mediums
2. Passage of cell culture
3. Inoculation of Sample
4. Virus isolation
5. Identification of isolated viruses (Neutralization test, Fluorescence analysis, Hemagglutination inhibition test)
6. Virus titration
7. Observation of cytopathic effect (CPE)

Cell culture techniques were advanced significantly in virology.

Cell culture is the process by which either prokaryotic or eukaryotic cells are grown under controlled conditions. In practice the term "cell culture" has come refer to the culturing of cells derived from eukaryotes, especially animal cells. Cells are grown and maintained at an appropriate temperature and gas mixture (typically, 37 °C, 5% CO₂) in a cell incubator. Culture conditions vary widely for each cell type, and variation of conditions for a particular cell type can result in different phenotypes being expressed.

From January to March 2007

Genetic Methods:

1. Isolation of PBMC (peripheral blood mononuclear cell)
2. Proviral DNA extraction from PBMC
3. Viral RNA extraction from Plasma
4. PCR (Polymerase Chain Reaction) methods
5. Detection of PCR products by agarose-gel electrophoresis
6. Purification of PCR product
7. Analysis of base sequence of HIV genes
8. Analysis of HIV subtype and variation of drug resistance

PCR Diagnostics are rapid and high sensitive. PCR Diagnostics are using to detect virus genes and to study viral HIV subtypes and its drug resistance. This test is used to isolate HIV RNA or DNA from plasma and PBMC. The extracted RNA or DNA was used in PCR assay to amplify target genes.

The PCR process is carried out in a thermal cycler. This is a machine that heats and cools the reaction tubes within it to the precise temperature required for each step of the reaction. PCR cycler have(has) 3 steps.

1 step- denaturation by heat (90-100°C)

2 step- primer pair anneals to ends target sequence (50-60°C)

3 step- primer extension as complementary (72°C)

We detected of PCR products by agarose-gel electrophoresis. HIV genotypes were identified by direct sequence analysis. Sequencing method is use to detect genotypic mutation of the virus. From the sequencing method we can detect drug resistance of dissimilar gene types.

Other specialized training:

1. Visit to the Medical School of Nagoya City University, and attendance at a general meeting of the Japanese Society of Virology (Nagoya, November 2006)
2. Technical training on the use of Amplicor HIV-1 Monitor ver1.5b (Roche Diagnostics) (Tokyo, December 2006)
3. Technical training held at Roche Diagnostics (Tokyo, January 2007)

AFTER GOING BACK HOME

Six months have already passed since I started my training at the Kanagawa Prefectural Institute of Public Health. During this time, I studied how to examine a variety of viral diseases in the laboratory. On my return to Mongolia, I will spare no effort to pass on to my fellow researchers all the knowledge and techniques I have acquired in training, and put them into practice myself. HSUM, which I belong to, is building a new research complex. Taking advantage of the knowledge I have received in Japan, I will strive to apply the above high-tech methods to my research.

Aside from skills, I could learn about the lifestyles and cultures of numerous trainees from various countries. As internationalization is being accelerated around the world, I think it will become more important for us to appreciate other cultures.

MY LIFE IN JAPAN FOR 7 MONTHS

My time in Japan was filled with new experiences. I had never before traveled so far from home. I arrived at Narita Airport in August. My first impression of Japan was "beautiful," but soon I found it so humid, actually sauna-like.

The trainees in this program are from every corner of the world. We study at different institutes during the day but come back at night to the dormitory. I really enjoyed having them around.

I could also enjoy many beautiful Japanese landscapes. What most impressed me was the sea I saw from Enoshima. The vast, picturesque sea

stretching ahead to the horizon was a novel sensation to a person like me from landlocked Mongolia. Other places I remember fondly are the Big Buddha in Kamakura, Rikugien Garden in Tokyo and Mt. Fuji. In Kusatsu, a famous hot spring resort in Japan, I had an opportunity to experience an onsen (Japanese hot spring). At first, I was puzzled about the bathing etiquette. We have saunas in Mongolia but not hot springs, and we never share a bath with others. The hot water of the onsen took me a while to get used to, but once you do, it is very relaxing and enjoyable. As part of the training, I had a chance to go to Nagoya I visited Nagoya Castle, and experienced a bit of traditional Japanese culture, such as tea ceremony and a Bon festival dance, which I found very interesting.

As the whole experience might be a once in a lifetime chance, I took every opportunity that came my way, be it study or the chance to take on new things. Every experience was valuable to me. I should note that Japanese sweets are very delicious and I always looked forward to eating them. I ate raw horse meat for the first time as well. We never eat raw meat in Mongolia. Days in Japan were so enjoyable that time flew by.

Lastly, I would like to extend my sincere appreciation to Kanagawa Prefecture and the staff of the Kanagawa Prefectural International Training Center, for their warm support and assistance during my seven-month stay in Japan.

My special thanks are also extended to the staff of the Kanagawa Prefectural Institute of Public Health for their kind support during my specialized training. Japanese language teachers also worked untiringly to teach us in the one-month language training at the beginning. Thanks to their efforts, we are all able to communicate in Japanese.

Finally, I would like to offer my deepest appreciation to all international students, trainees and Japanese tutors, for many wonderful exchanges and mutual cooperation.

(original text: English & Japanese)

