

調査研究に関する中間報告書

| | | | | |
|-----------|--------------------------|--|-------------------|-------------------|
| 提出年月日 | | 令和5年6月15日 | 部 名 | 微生物部 |
| 調査研究課題 | | 宮崎県の重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスに関する遺伝学的解析 | | |
| 調査研究体制 | 主任研究者 | 成田翼 | | 研究区分 (小分類) |
| | その他の研究者 | 水flow奈己、宮原加奈、新田真依子、三浦美穂、吉野修司、岡林環樹 (宮崎大学) | | |
| | 調査研究期間 | 令和4年度 ~ 令和6年度 (3か年間) | | |
| | 調査研究費 | 予算項目 | 令和4年度 | 令和5年度 |
| | 国費 県費 その他 | 千円 500千円 千円 | 千円 500千円 千円 | 千円 500千円 千円 |
| | 合計 | 500千円 | 500千円 | 500千円 |
| 調査研究の目的 | | <p>重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は SFTS ウイルス(SFTSV)によるダニ媒介性感染症で、本県では平成24年10月に初めて患者が確認され、都道府県別では最も多い状況にある。これまで行った SFTSV の系統解析により、宮崎県の SFTSV には J1・J3 の2つの遺伝子型が見られる事が判明している。令和3年度、宮崎県で発生した遺伝子型 J1・J3 のアミノ酸配列について調べたところ、複数の箇所においてアミノ酸配列の違いが見られた。遺伝子型 J1 と J3 の間に抗原性に違いがある可能性があるが、現在、ゲノムの解析に基づく系統解析を行っているのは S 分節の一部であることから、S 分節以外の L 分節・M 分節についても解析を行う。</p> <p>本研究では、SFTSV について、NGS を用いた全ゲノム解析を行い、遺伝子型 J1・J3 について遺伝子型による病原性や抗原性の違いの解析を行う。同時に宮崎県全域からマダニを採取し、地域・植生ごとの SFTSV の保有率及びウイルスのゲノムの特徴を確認し、SFTSV の人への感染の現状確認を行う。</p> <p>また、SFTSV の検査方法について国のマニュアルが変更され、中和試験法・間接蛍光抗体法の方法が示された。これらについての検証を行う。</p> | | |
| 調査研究の進捗状況 | | <p>ヒト血清の抽出物から直接 SFTSV の全ゲノム解析を行うプロトコルを独自に作成し、Illumina 社の iSeq と Nanopore 社の Mk1C の二種類の NGS を用いて、S・M・L 分節の系統解析を行った。出力されたゲノムの解析について、Galaxy を用いて de novo 解析、read mapping、consensus 配列、変異解析データの作成を行う方法を確立した。また、Weblogo を用いてアミノ酸変異解析を行う手法についても確立した。iSeq を用いた解析では、ゲノム末端数 bp の read depth が低くなるが、Nanopore を併用して解析することで、末端の解析も行えることが判った。本プロトコルでは iSeq のプロトコルの途中から Nanopore のプロトコルに移ることができ、検体の節約にもなることが判った。これにより、S・M・L 分節の全ゲノムを用いて系統解析を行えるようになった。現時点で遺伝子再集合を示唆する配列は検出されていない。現在の問題点としては、データ解析について、iSeq のデータと Mk1C のデータの統合(merge)を行っていないので、これらの解析方法を確立したいと考えている。また、今後、患者の症状とゲノムを比較することで、SFTSV の病原性に関する解析を進めていく予定である。</p> <p>今後、宮崎大学の所有する NGS(GridIon)も用いることで、解読できなかった検体の再解析を行うとともに、残りの未解析検体の解析を行っていきたいと考えている。</p> <p>また、マダニからの SFTSV の検出に本プロトコルが適用できるか確認するとともに、中和抗体に関して、研究が先行している宮崎大学と協力することで、手法の確立を行いたいと考えている。</p> | | |
| 備 考 | 第5回SFTS研究会(令和5年9月)にて発表予定 | | | |