

課題番号3

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

微生物部

○成田翼 水流奈己 宮原加奈
三浦美穂 吉野修司 岡林環樹¹⁾

¹⁾ 宮崎大学

1

重症熱性血小板減少症候群

Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS)

● 原因ウイルス

ブニヤウイルス目フェニユイウイルス科
パンダウイルス属 *Huaiyangshan Banyangvirus*

- マダニ媒介性人獣共通感染症
- 2011年に中国の研究者らにより初めて報告
- 日本国内では、2013年1月に初めての患者を報告



タカサゴキラマダニ

2

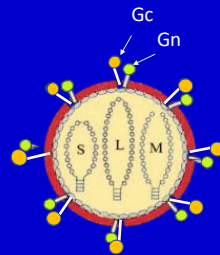
SFTSVの特徴

- ・ マイナス鎖RNAで長さの異なるL分節、M分節、S分節に分かれる

L分節 L

M分節 Gn Gc

S分節 Np NSs



3

本研究の目的

患者血清を用いてSFTSVゲノムの全ゲノム

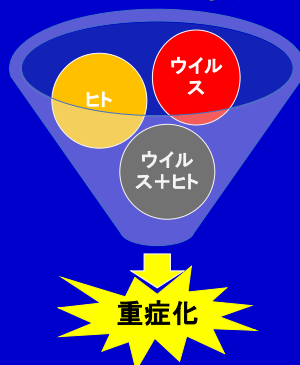
解析を行い、県内のウイルスの変異を確認

するとともに、SFTSVの重症化の原因調査

を行う

4

SFTSの重症化の要因は？



5

NGSについて

Wet工程

→シーケンサーにかけるまで



Dry工程

→シーケンサーから出力されたデータの解析(統計解析含)



6

Wet工程

当所にあるNGSは2種類

Nanopore
Mk1C

- ロングリード
- 低コスト
- 精度がやや劣る
- 長い配列を解読可能

iSeq

- ショートリード
- 精度が高い
- 長い配列は解読不能

Dry工程

重要な工程、Dry工程を実施しなければ、データの解析はできない

プログラミング

- 知識が必要
- 安価

有料ソフト

- プログラミングの知識がなくてもできる
- 高価
- CLC Workbenchなど

無料ソフト

- プログラミングの知識がなくてもできる
- 無料
- Galaxy
- Genepid-J

7

8

研究方法

精度を高めるためにiSeqとMk1Cを併用した解析

1. プライマーの作成
2. iSeqによるNGSのプロトコルの確立 (Wet)
3. Mk1CによるNGSのプロトコル確立(Wet)
4. ゲノムデータ解析方法の確立(Dry)
5. 系統樹解析
6. アミノ酸変異解析
7. 患者情報を用いた重症化変異の解析

9

プライマーの作成

Primal schemeを用いてS/M/L各分節のプライマーを作成

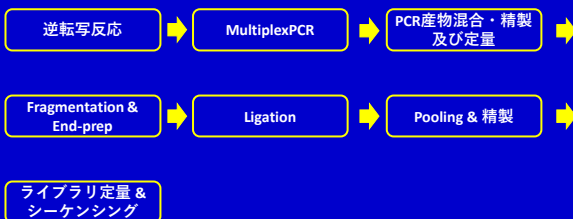


<https://primalscheme.com/>

10

プロトコルの確立 (iSeq)

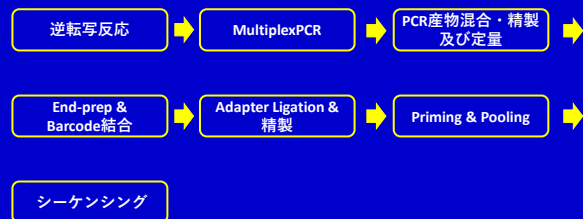
国立感染症研究所の作成したCOVID-19用のNGSプロトコルをアレンジしてプロトコルを作成



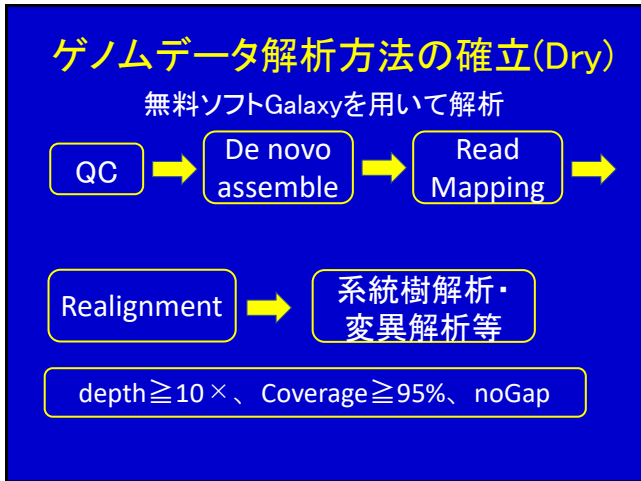
11

プロトコルの確立 (Mk1C)

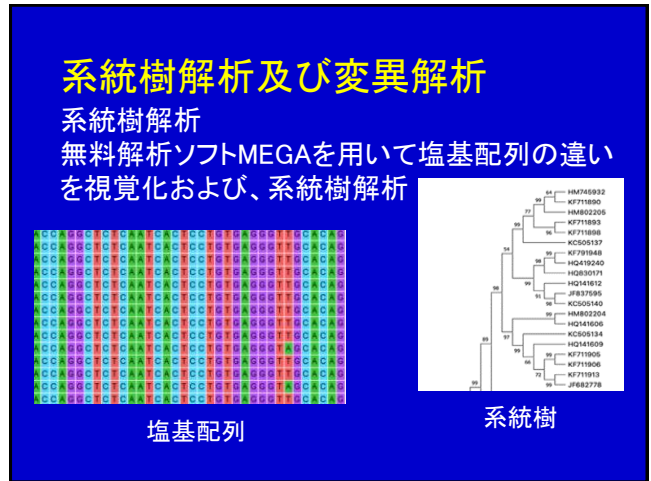
国立感染症研究所の作成したCOVID-19用のNGSプロトコルをアレンジしてプロトコルを作成



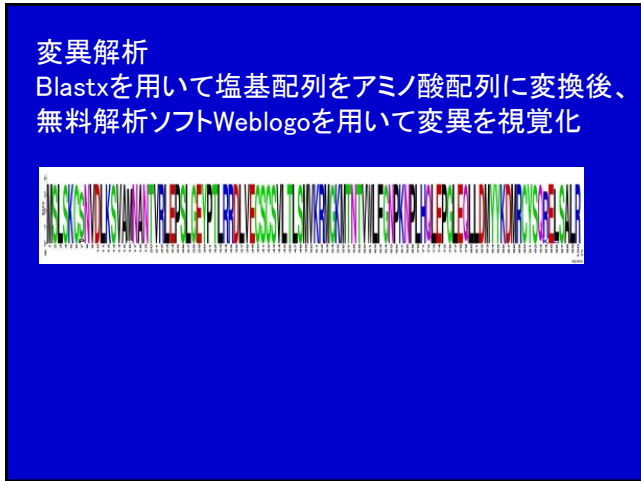
12



13



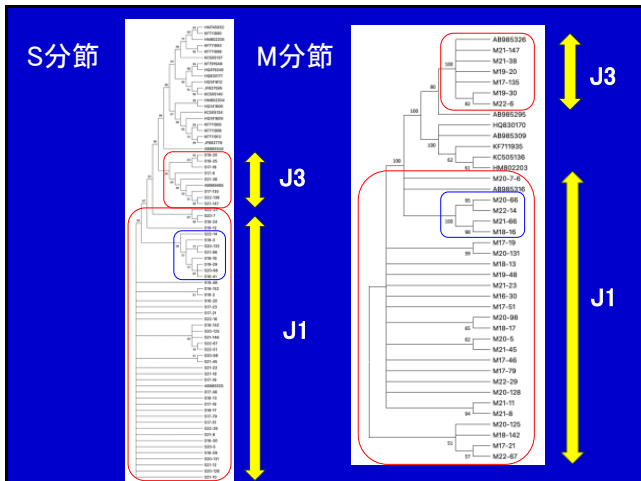
14



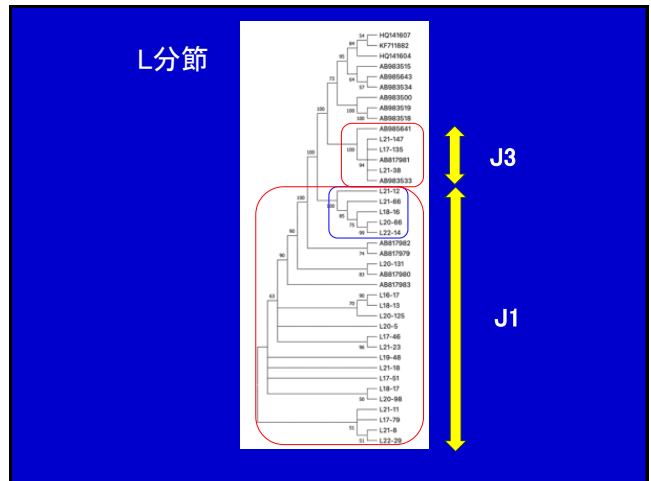
15

系統樹解析結果

16



17



18

変異解析結果例(S分節-NP)

1-100



100-233



19

変異解析結果例(S分節-NSs)

1-100



100-200



200-293



20

まとめ

- 新型コロナウイルスのプロトコルでSFTSのNGS解析が可能
 - ロングリードのMk1Cを補助的に用いることで、より詳細な解読が可能
 - 変異解析を行うことで、SFTSVのアミノ酸変異箇所の特定が可能
- **病原性の調査**

21

研究の展開

- 致死率や症状とSFTSVの変異との関連性の調査
- 本プロトコルのマダニ検体での適用可能性
- ゲノムと抗原性の関連の有無

22

期待される効果

- 1 学術研究への寄与
SFTSVのゲノム構造とウイルスの特性の関係
- 2 感染予防に対する新たな知見
県民への重症化リスクの周知
- 3 新たな検査体制の確立
より詳細な検査体制の構築

23