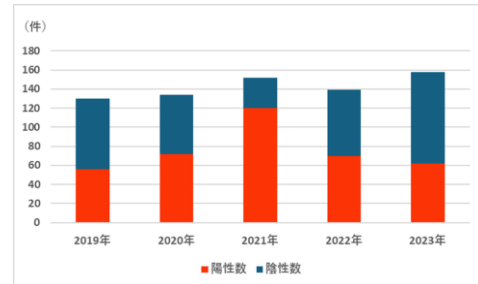


NGSによる原因不明疾患の病原体検索法の確立

微生物部 ○成田 翼、新田 真依子、水流 奈己
鬼塚 咲良、矢野 浩司

1 はじめに

当研究所には、SFTS、つつが虫病、日本紅斑熱等のマダニ媒介性感染症が疑われ、検査依頼が来るが、その一部は陰性である(図)。陰性となった検体についてはその後の検査は行われず、他の病原体については調査することなく検査が終了する。一方で、検査依頼があった感染症以外の病原体を調べ、患者情報と突き合わせる事で、マダニ媒介性感染症に類似した症状を示す別の病気について、新たな知見を得る事ができ、今後の鑑別診断に役立つ可能性がある。



図：マダニ媒介感染症患者数

現在、ウイルス性感染症のメタゲノム解析には、Rapid Determination System of Viral RNA Sequences (RDV 法)¹⁾や Sequence-independent single-primer amplification 法 (SISPA 法)²⁾が用いられているが、本研究ではこれらの方法について比較を行い、地方衛生研究所で運用可能なウイルスのメタゲノム解析の方法の検証を行う事を目的とする。

2 方法

本研究では主に以下の項目について検証を行い、ウイルスのメタゲノム解析法の確立を行う。

- ・ RDV 法と SISPA 法の比較
- ・ 検体の抽出方法による違い
- ・ iSeq100 と Nanopore シーケンサーによる違い
- ・ データ解析方法による違い
- ・ 細胞培養検体と臨床検体による違い

これらについて、SFTSV やインフルエンザウイルスなどの複数ウイルス検体を用いて、メタゲノム解析を行う。qRT-PCR によりウイルスコピー数を算出し、参照配列に対するカバレッジとウイルスコピー数を比較し、検査コストについても検証することで、最適なウイルスメタゲノムの方法を確立する。

3 調査研究の効果等

現在、ウイルスのメタゲノム解析については RDV 法や SISPA 法を始めとする複数の方法で行われているが、それらの比較はあまり行われておらず、スタンダードな検査法が確立していない。本研究では、ウイルスの網羅的解析によく用いられている RDV 法と SISPA 法を比較することで、地方衛生研究所で検査可能なメタゲノム解析の方法を確立する。これにより、今まで原因不明であった疾患の解明につながり、県民の健康福祉向上に貢献できると考えている。

参考文献

- 1) 水谷 哲也. 新興ウイルス感染症の網羅的検出方法 (RDV 法) の確立と応用. ウイルス 2007 ; 57(2) : 217-226.
- 2) Klaudia Chrzastek, Dong-hun Lee, Diane Smith, et al. Use of Sequence-Independent, Single-Primer-Amplification (SISPA) for rapid detection, identification, and characterization of avian RNA viruses. Virology 2017; 509: 159-166.