

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：迅速・網羅的病原体ゲノム解析法を基盤とした感染症対策ネットワーク構築に関する研究
2. 研究開発代表者： 黒田誠（国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター センター長）
3. 研究開発の成果

（最終年度により H26-28 年度の全研究開発期間における活動総括概要）

本研究班の目的は、感染症疑いのある不明疾患やバイオテロ、新興再興感染症などによるアウトブレイク対策のため、次世代シーケンサー（Next-Generation Sequencing: NGS）による迅速・網羅病原体検査法を地方衛生研究所（地研）および基幹病院の検査・医療現場に提供し、相互連携を重点的に整備することにある。以下、各分担における個別成果を記述する。

- NGS 検査対応を遂行する各分担で年 50 検体を目標に網羅配列解読を行い（分担者：猿木・調・佐多・館田）、得られた配列をネットワーク経由で感染研（代表者：黒田）に転送し、担当者相互で病原体検索を遂行した。従来の鑑別診断結果と網羅配列解読法の結果が符合するのかが照合し、一般検査法と網羅配列解読法の特異性・感度について検討した（黒田・猿木・調・佐多・館田）。
- NGS 解析パイプライン MePIC2 (Jpn J Infect Dis. 2014;67(1):62-5.)および VirusTAP (Front Microbiol. 2015. 2;7:32.)を開発・公開へと進展させた。結核菌ゲノム用の NGS 解析ツール TGS-TB (PLoS One. 2015. 13;10(11)) を公開し、地研ネットワークを有効活用する基盤整備を行った。解析サーバーの増強とツールの最適化を行い、上記ツールの解析時間を大幅（1/10 以下）にまで短縮することに成功した。
- 死亡例を含む重症感染症例由来検体の NGS による網羅配列解読により、一部の検体ではあるが病原体を特定することができた。また、先端的なバイオインフォマティクスアルゴリズムによる分子疫学解析法を応用し (Sci Rep. 2015 Feb 2;5:8185.)、種々のウイルスの時系列系統解析、進化速度解析および各抗原エピトープのマップ化などが地方衛生研究所レベルで行うことが可能になった（木村）。
- 原因不明疾患の病理検体の病原体網羅的定量的 PCR を用い原因ウイルスの同定を試みた（片野）。有意なウイルスが検出されなかった症例については NGS 検査法にて新規病原体の同定を行い。心筋炎から trichodysplasia-spinulosa associated polyomavirus (TS ポリオーマウイルス、TSV)の検出同定と血清学的評価を行った(Int J Clin Exp Pathol 2014. 7:5308-5312.; J Clin Virol 2015. 65:76-82)。
- コムギ無細胞系を用いたタンパク質の発現アフィニティタグを用いたウイルスタンパク質アレイのプロトタイプを作製し、ウイルス特異 IgM/IgG 抗体の検出系を構築した（梁）。
- 地研各位の病原体担当者の NGS 検査法の技術トレーニングを執り行い、検査体制の高度化に貢献した（黒田、木村）。（トレーニングを修了した計 15 拠点： 青森県、岩手県、群馬県、茨城県、栃木県、東京都、愛知県、名古屋市、富山県、福井県、山口県、愛媛県、福岡県、沖縄県、東邦大学）
- RNA ウイルスであるパラミクソウイルス（麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、パラインフルエンザウイルスなど）のゲノム多様性と疫学情報との関連性を解析（竹田）。未知・既知の動物由来感染症病原体の遺伝子網羅的解析データベースの構築（森川）。新興・再興ウイルスの細胞培養系の改良・改変に向けた基盤構築（花田）、生物製剤（血漿）中の迷入ウイルスの多様性について（浜口、加藤）、慢性感染症における経時的かつ網羅的配列解析による病原体ゲノムの変化機序解析（俣野）を遂行した。