

事後6	新型コロナウイルス培養系の確立とゲノム解析への応用	課題番号	22-04																					
研究目的	新型コロナウイルスの細胞培養系を確立し、これまでゲノム解析ができなかったウイルス量が少ない検体についても、培養でウイルスを増殖させ、解析可能にする。																							
研究内容	当研究所でも新型コロナウイルスの細胞培養系を立ち上げ、これまでゲノム解析ができなかったウイルス量が少ない検体についてもゲノム解析を可能にし、道におけるゲノム解析データを補完する。																							
研究期間	令和4～令和5年度	課題担当者	3人																					
関係施策 行政検査	感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（平成10年10月） 北海道感染症予防計画（第5版）（平成30年3月）																							
○ 研究ニーズ（背景、必要性、緊急性） - 世界的に甚大な影響をもたらした新型コロナウイルス感染症は、現在も感染者が出続けており、道内の感染者は130万人以上、死亡者は4,600人を超えた。 - 道内においてはこれまでにアルファ株やデルタ株、オミクロン株による大規模な流行が発生している。 - 担当者は新型コロナウイルスのゲノム解析を担当しているが、ウイルス量が少ない検体については、全ゲノムを明らかにすることができず、判定不能やウイルス型のみの結果しか出せていない。 - 全ゲノムを明らかにできない検体が存在することにより、感染経路の追跡に空白が生じてしまう。 - 今後も新型コロナウイルス感染症の流行が続くと予想されることから、本研究は必要性が高いと考える。 ○ 道が取り組む必要性 - 道内における新型コロナウイルス検査や対策は、道が主体となって実施したため、検体の入手、患者の個人情報の保護、研究が実施できる機器等の整備状況を鑑みると、本研究は道が取り組む必要がある。 ○ 研究の成果 <table><thead><tr><th>年次等</th><th>主な目標（項目）</th><th>達成状況</th></tr></thead><tbody><tr><td>令和4年度</td><td>細胞培養系の確立と、ウイルス量が少ない検体の培養</td><td>VeroE6/TMPRSS2細胞の培養を立ち上げた。その後、数検体の新型コロナウイルス臨床検体について培養を試みた。数日～2週間経った後、CPEが観察され、リアルタイムPCRにてウイルスの増殖を確認した。また、Ct値が高い検体については、CPEやウイルスの増殖は確認できなかった。</td></tr><tr><td>令和5年度</td><td>ゲノム解析の実施と結果のとりまとめ</td><td>前年度確立したウイルス培養系を用いて、全ゲノムを解読できなかった215検体について培養を試みた。その結果、約35%に当たる75検体についてCPEが確認できた。CPE陽性75検体のCt値は14.4～29.78（平均25.93）、CPE陰性の検体のCt値は15.59～39.94（平均26.29）であった。 CPE陽性の75検体についてゲノム解析を行ったところ、全ての検体で全ゲノムが解読できた。解読できた検体にはB.1.1.7（アルファ株）、B.1.1.214（デルタ株）、BA.1、BA.2、BA.5、XBB系統など幅広い株が含まれていた。</td></tr></tbody></table> ○ 成果の活用策（活用の可能性） - 本成果と合わせてゲノム解析の結果を道内10カ所の保健所で報告した。 - 培養可能であれば、ゲノム解読も100%可能であったという事実は、新型コロナウイルスだけではなく、他のウイルスのゲノム解析を実施するに当たっても有用な知見である。流行初期など、検体が少数ながら正確かつ成功率が高いゲノム解析が求められる場合に、本方法は利用できる。 <table><thead><tr><th></th><th>評価結果</th><th>説明</th></tr></thead><tbody><tr><td>自己評価</td><td>Ⓐ・B・C</td><td>実施計画の通り、新型コロナウイルスの培養系を確立し、従来ゲノム解析ができなかった検体の33%程度がゲノム解析が可能となった。</td></tr><tr><td>外部評価</td><td>S Ⓐ・B・C</td><td>同上</td></tr><tr><td>総合評価</td><td>Ⓐ・B・C</td><td>本研究により、今後の流行対策や疫学解析等への活用が見込まれることから、一定の研究成果が得られている。</td></tr></tbody></table>				年次等	主な目標（項目）	達成状況	令和4年度	細胞培養系の確立と、ウイルス量が少ない検体の培養	VeroE6/TMPRSS2細胞の培養を立ち上げた。その後、数検体の新型コロナウイルス臨床検体について培養を試みた。数日～2週間経った後、CPEが観察され、リアルタイムPCRにてウイルスの増殖を確認した。また、Ct値が高い検体については、CPEやウイルスの増殖は確認できなかった。	令和5年度	ゲノム解析の実施と結果のとりまとめ	前年度確立したウイルス培養系を用いて、全ゲノムを解読できなかった215検体について培養を試みた。その結果、約35%に当たる75検体についてCPEが確認できた。CPE陽性75検体のCt値は14.4～29.78（平均25.93）、CPE陰性の検体のCt値は15.59～39.94（平均26.29）であった。 CPE陽性の75検体についてゲノム解析を行ったところ、全ての検体で全ゲノムが解読できた。解読できた検体にはB.1.1.7（アルファ株）、B.1.1.214（デルタ株）、BA.1、BA.2、BA.5、XBB系統など幅広い株が含まれていた。		評価結果	説明	自己評価	Ⓐ・B・C	実施計画の通り、新型コロナウイルスの培養系を確立し、従来ゲノム解析ができなかった検体の33%程度がゲノム解析が可能となった。	外部評価	S Ⓐ・B・C	同上	総合評価	Ⓐ・B・C	本研究により、今後の流行対策や疫学解析等への活用が見込まれることから、一定の研究成果が得られている。
年次等	主な目標（項目）	達成状況																						
令和4年度	細胞培養系の確立と、ウイルス量が少ない検体の培養	VeroE6/TMPRSS2細胞の培養を立ち上げた。その後、数検体の新型コロナウイルス臨床検体について培養を試みた。数日～2週間経った後、CPEが観察され、リアルタイムPCRにてウイルスの増殖を確認した。また、Ct値が高い検体については、CPEやウイルスの増殖は確認できなかった。																						
令和5年度	ゲノム解析の実施と結果のとりまとめ	前年度確立したウイルス培養系を用いて、全ゲノムを解読できなかった215検体について培養を試みた。その結果、約35%に当たる75検体についてCPEが確認できた。CPE陽性75検体のCt値は14.4～29.78（平均25.93）、CPE陰性の検体のCt値は15.59～39.94（平均26.29）であった。 CPE陽性の75検体についてゲノム解析を行ったところ、全ての検体で全ゲノムが解読できた。解読できた検体にはB.1.1.7（アルファ株）、B.1.1.214（デルタ株）、BA.1、BA.2、BA.5、XBB系統など幅広い株が含まれていた。																						
	評価結果	説明																						
自己評価	Ⓐ・B・C	実施計画の通り、新型コロナウイルスの培養系を確立し、従来ゲノム解析ができなかった検体の33%程度がゲノム解析が可能となった。																						
外部評価	S Ⓐ・B・C	同上																						
総合評価	Ⓐ・B・C	本研究により、今後の流行対策や疫学解析等への活用が見込まれることから、一定の研究成果が得られている。																						