

ケーススタディ：ウルグアイ共和国大学での次世代技術による成功例

Agilent 5200 Fragment Analyzer System によって促進された ウイルスゲノムのキャラクタライゼーション

ウルグアイ共和国大学におけるウイルスゲノム進化の研究

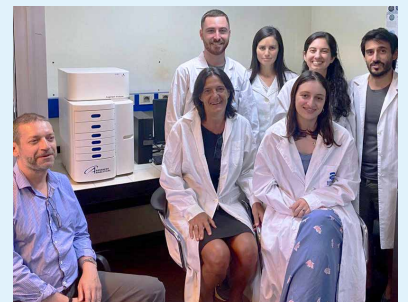
Yanina Panzera 博士は、ウルグアイのモンテビデオにある共和国大学（UdelaR）の教授であり、動物生物学部の進化遺伝学学科において研究および教育の職務を担っています。Panzera 博士とそのチームは、ウイルスゲノムの進化の解明と、異なる遺伝的バリエーションを探索する新たな検出法の開発に特化した研究に取り組んでいます。ウイルスゲノムに起こってきた変異の変化をより深く知ることができれば、重要な見識を引き出すきっかけになります。さらに、それらの発見は、ウイルスの起源、伝播経路、進化的関係など、疾病疫学のより深い理解につながります。Panzera 博士が述べているとおり、「ゲノム変化の研究は、ウイルス集団のダイナミクスや進化を理解するための基礎となります。」

COVID-19 が大流行したことで、世界中の研究者や医療従事者は、SARS-CoV-2 ウイルスのすばやく適応する性質を理解するという課題に直面しています。Panzera 博士とその研究チームは、SARS-CoV-2 の遺伝的多様性をもとに、このウイルスの発生と進化を分析しています。

NGS – ウイルスゲノミクスのためのキーテクノロジー

ウイルスにおける次世代シーケンシング（NGS）の実施には、大きな課題が伴います。宿主細胞 DNA のコンタミネーションに対処するために、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）など、NGS に先立ってウイルスゲノムを濃縮するさまざまな手順を踏まなければなりません。また、ウイルスの NGS には複雑な手順が必要となり、高い質の結果を確保するためには、品質管理（QC）システムが不可欠です。

次世代シーケンシングは、Panzera 博士のチームの研究においてきわめて重要な技術として用いられてきました。従来、分析は、必要な設備が整っているフランスの非営利組織であるパスツール研究所の協力で行われていました。しかし、2018 年に、UdelaR は学内に NGS プラットフォームを設置することができました。現在、チームは、Agilent 5200 Fragment Analyzer System による核酸の品質分析を含む、サンプル調製やライブラリ生成から、シーケンシング、データ解析にいたる NGS ワー



Yanina Panzera 博士と
研究チーム

共和国大学
モンテビデオ、ウルグアイ

クフローを最適化しています。「ワークフロー全体をコントロールすることが、常に私たちの目標でした」と、Panzera 博士は述べています。研究の成否を左右する重要な要因の 1 つに、SARS-CoV-2 変異株検出に用いられる装置があります。NGS 技術と、Fragment Analyzer System によるパラレルキャピラリー電気泳動を使用することで、研究チームは、ウルグアイのモンテビデオで大流行した SARS-CoV-2 の一つのアウトブレイクで罹患した患者にユニークな 12 ヌクレオチドの欠失の出現を検出することに成功しました。これにより、このウイルスが遺伝物質の損失に関わらず機能を維持でき、それが SARS-CoV-2 の進化の重要な側面であることが証明されました¹。

ウイルスゲノム変異の検出

Panzera 博士は、「私たちのラボでは、ライブラリサイズを分析したりライブラリ品質を確認するために、パラレルキャピラリー電気泳動装置である Fragment Analyzer System を頻繁に使用しています」と語っています。このシステムが、ウイルス株のアンプリコンサイズの比較による SARS-CoV-2 ゲノム上の特定の変異検出に役立つことにも言及しています。実際、欠失のない株と野生株との比較分析を実行したところ、このシステムがそれぞれの株を識別できることが判明し、目的にかなう装置であるという判断を強固なものにしました。「私たちは、872 ヌクレオチドの大きな欠失変異を含むゲノムの欠失のスクリーニングに Fragment Analyzer を使用しました²。この変異は、これまでに文献で報告されてきた中でも最大の SARS-CoV-2 変異株です。この他、より小さな変異も検出しました。その 1 つが 12 ヌクレオチド、もう 1 つが 68 ヌクレオチドです³」と、Panzera 博士は述べています。Fragment Analyzer は、ウルグアイで流行していた欠失のあるすべての株で欠失株と野生株を識別することができました。

また、違いが数ヌクレオチドのみの DNA フラグメントを高精度で識別できる性能から、Fragment Analyzer system はチームにとって NGS ライブラリ調製の QC に最適な選択肢となりました。以上のように、この装置は、NGS ライブラリの QC 分析と、NGS 後の変異同定を目的とした迅速なスクリーニングメソッドとしての PCR アンプリコンのフラグメント解析という 2 つの目的を果たしました。

パンデミック中のイノベーション革新を実現

世界的パンデミックが起きている中での研究は、通常にも増して困難を強いられました。この時期、Ruben Pérez 博士率いるチームは、世界各地の多くのチームと同様、ラボ向け消耗品の入手に苦勞し、必要な作業が思うように進められない状況に陥りました。Panzera 博士のチームでは、入手しやすいリソースを最大限に利用せざるを得ず、打開策として、独自のウイルスゲノミクスプラットフォームを確立することにしました。また、徹底的なスタッフのトレーニングに加え、Fragment Analyzer の活用を幅を広げることで、研究を支えました。

Panzera 博士は、この経験を通して、自国でのウイルス研究における Fragment Analyzer System の可能性を認識し、この装置を存分に活用することに目標を定めました。アジレントの技術者の支援のもと、あらゆる状況で装置を使いこなせるようスタッフがトレーニングを受けたことにより、ラボではこの資産を最大限に活かせるようになりました。また、Panzera 博士は、他の研究チームを応援するプロモーションセミナーを主催することで、特に限られたリソース下での Fragment Analyzer System の価値を広く知ってもらおうと考えました。「私たちは、このイノベーションにとっても満足しています」と、Panzera 博士が述べているとおり、このリソースにより、研究チームはチャンスを広げることができました。Panzera 博士とそのチームは、消耗品が入手困難な南米各国で役立つことを願い、現在、この装置で、ウイルスゲノムを最小限のコストでキャラクタライゼーションできる技術の開発に取り組んでいます。

成果と今後の展望

Panzera 博士の活動の 1 つとして、また素晴らしい成果として、ウルグアイ保健省への技術移転があります。この技術移転では、保健省スタッフを対象に、同省所有の十分に活用されていない NGS プラットフォームの機能に関するトレーニングが実施されました。同省は SARS-CoV-2 シーケンシングプログラムの実行にこの知識を活かしています。最終的には、このトレーニングと、UdelaR から民間セクターおよび政府機関への技術移転を引き続き推進し、ウイルスの検出およびキャラクタライゼーション法の基準を打ち立てることが目標です。

Panzera 博士は、UdelaR の理学部教授として、修士課程の教育、学士および修士論文の指導、インターンシップによるトレーニングなど、さまざまな形でスタッフをトレーニングすることを目指しています。NGS 法およびキャピラリー電気泳動法の知識を深め、専門チームの協力のもと、この技術をできる限り多くの人に伝えることが、Panzera 博士の最大の目標です。「今後、これらの技術は定着し、ウイルスの検出およびキャラクタライゼーションの標準法となるでしょう」と、Panzera 博士は締めくくっています。

参考文献:

1. Panzera, Y., Ramos, N., Frabasile, S., et al. A Deletion in SARS-CoV-2 ORF7 Identified in COVID-19 Outbreak in Uruguay. *Transbound Emerg Dis.* **2021**, 00, 1–8. <https://doi.org/10.1111/tbed.14002>
2. Panzera, Y., Cortinas, M.N., Marandino, A., et al. Emergence and Spreading of the Largest SARS-CoV-2 Deletion in the Delta AY.20 Lineage from Uruguay. *Gene Reports* **2022**, 29, 101703. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2022.101703>
3. Panzera, Y., Calleros, L., Gofii, N., et al. Consecutive Deletions in a Unique Uruguayan SARS-CoV-2 Lineage Evidence the Genetic Variability Potential of Accessory Genes. *PLOS ONE* **2022**, 17 (2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263563>

<http://www.agilent.co.jp/chem/fragment-analyzer>

[お問い合わせ窓口]

アジレント・テクノロジー株式会社

本社 / 〒192-8510 東京都八王子市高倉町9-1

●カスタマコンタクトセンター ☎ 0120-477-111

mail : email_japan@agilent.com

※仕様は予告なく変更する場合があります。

※本資料掲載の製品はすべて試験研究用です。

診断目的にご利用いただくことはできません。

G230564 / PR7000-9181

<http://www.agilent.com/chem/genomics:jp>

© Agilent Technologies, Inc. 2023

本書の一部または全部を画面による事前の許可なしに複製、
改変、翻訳することは、著作権法で認められている場合を除き、
法律で禁止されています。

Printed in Japan, April 12, 2023

5994-5902JAJP