

# G614D変異の検知による SARS-COV-2変異株の 研究所流出可能性の検証

PBL演習2班

二平 泰知 三浦 健人 神崎 達也

アドバイザー教員

掛谷 英紀

- 背景
- 本研究の目的
- 分析手法
- 分析結果
- 結果の考察
- 本研究のまとめ・課題

# 発表内容

- **背景**
- 本研究の目的
- 分析手法
- 分析結果
- 結果の考察
- 本研究のまとめ・課題

# WHOがパンデミックと表明した新型コロナウイルス

## 新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）

- 2019年12月、中国湖北省武漢市で確認
- 2020年3月11日、WHO(世界保健機関)は Covid-19 をパンデミックと表明
- 日本国内で累計約3000万人が感染（2023年5月時点）
- 日本国内で累計約7.5万人が死亡（2023年5月時点） 出典 NHK, 「新型コロナと感染症・医療情報」

### 国内の感染者数（累計）



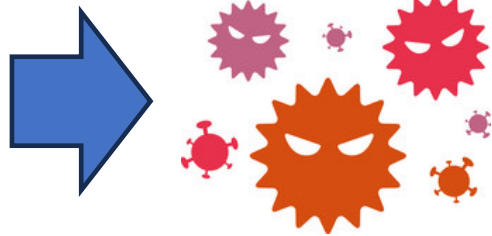
### 国内の死者数（累計）



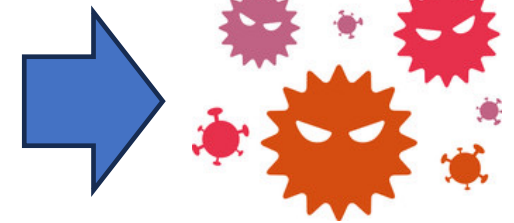
# パンデミックの起源

- パンデミックの起源として2つの可能性

## 動物から人に感染



## 研究所からの流出



# 研究所からのウイルス流出事例

## 天然痘の漏洩事件(出典:ダイヤモンド・オンライン)

- 空気感染、飛沫感染、致死率は20～50%
- 当時、自然界にほぼ存在しないウイルス
- 1982年、イギリスのバーミンガム大学職員が感染、死亡
- その後の調査で、教室の真下で天然痘ウイルスの研究が行われていたことが判明
- 実験室から通気孔を通して到達、感染

# 研究所からのウイルス流出事例

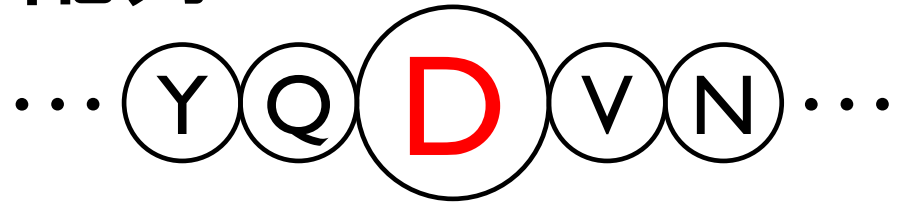
## 台湾での事例（出典：Times, Bulletin of Atomic Science）

- 台湾では、水際対策の成功で感染の報告無し
- 学術機関で、ワクチン開発に携わる研究員が**研究用マウスに噛まれる**事故
  - 研究員が感染、研究員の周囲**110人にも感染**
- その後の調査で、ワクチン開発のために研究所に提供されていた  
デルタ株と同じ型に研究員が感染していたことが判明
- 研究員の上司も、2003年のSARS流行の際に同様の事故

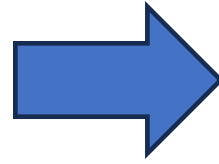
# 研究所流出可能性を示唆する研究結果 (Takeya et al.)

アミノ酸  
配列

614

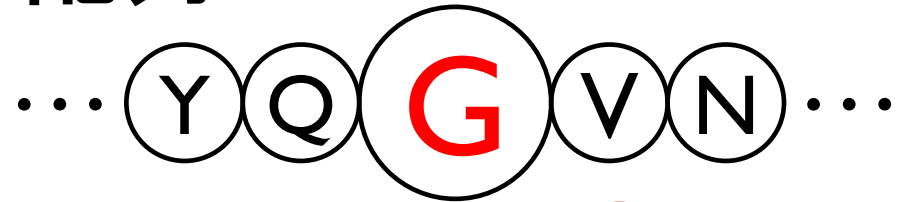


通常



アミノ酸  
配列

614



ヒトの体内で **不安定**

ヒトの体内で **安定**

- ・ 614番目が D (アスパラギン酸)

→ ヒトの体内で不安定、コウモリや実験室の培養環境で安定

- ・ 614番目が G (グリシン) → ヒトの体内で安定

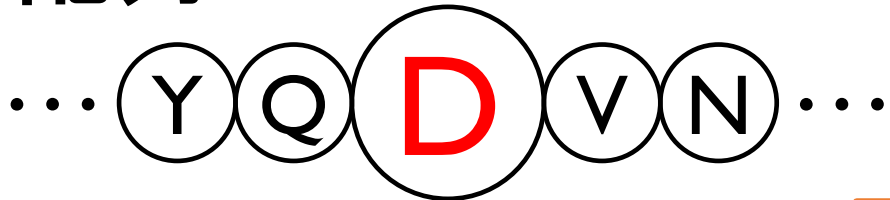
そのため、市中感染の過程では **D → G に変異するのが自然**



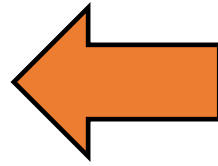
# 研究所流出可能性を示唆する研究結果 (Kakeya et al.)

アミノ酸  
配列

614



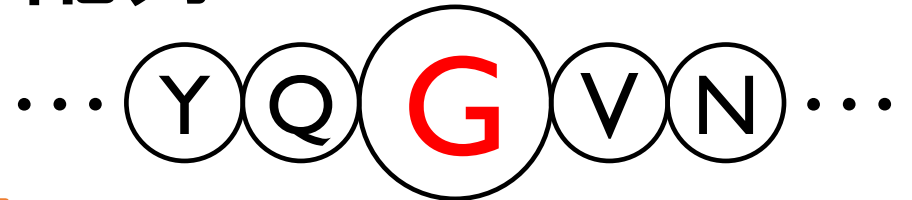
ヒトの体内で **不安定**



**G614D変異**

アミノ酸  
配列

614



ヒトの体内で **安定**

しかしKakeyaらの解析では、B.1.617.2株やBA.2株で

不自然な **G → D** への変異が多数起こっていたことが確認された

→ 研究所で扱っていたウイルスが流出した可能性

# 発表内容

- 背景
- **本研究の目的**
- 分析手法
- 分析結果
- 結果の考察
- 本研究のまとめ・課題

## 本研究の目的

- **Kekeya**らの研究で調査されていない変異株で、  
**多数のG614D変異が見られる変異株がないか調査。**
- **多数のG614D変異が起きている変異株があれば、  
いつ、どこで集中して起きているか**を分析。  
その結果から、**流出元を考察。**

# 発表内容

- 背景
- 本研究の目的
- **分析手法**
- 分析結果
- 結果の考察
- 本研究のまとめ・課題

# 分析手法

## ①NCBIのデータベース GenBank から変異株ごとにデータを取得

Nucleotide (242,578)		Protein (242,578)		RefSeq Genome (0)		GenBank ( <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#/</a> )		
<input type="checkbox"/>	Accession	Organism Name <small>New!</small>	Submitters	Release Date	Pangolin	Isolate	Species	
<input type="checkbox"/>	<a href="#">WNZ35315</a>	Severe acute respiratory s...	Ritter,J., et al.	2023-10-12	AY.103	MT-MTPHL-3898361	Severe acute respiratory s...	
<input type="checkbox"/>	<a href="#">WNZ35339</a>	Severe acute respiratory s...	Ritter,J., et al.	2023-10-12	AY.103	MT-MTPHL-3898371	Severe acute respiratory s...	
<input type="checkbox"/>	<a href="#">WNZ35411</a>	Severe acute respiratory s...	Ritter,J., et al.	2023-10-12	AY.103	MT-MTPHL-3898405	Severe acute respiratory s...	



データを取得

- ・ アミノ酸配列
- ・ 検出された日時
- ・ 検出された場所

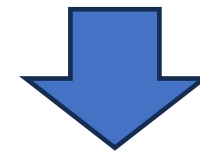
# 分析手法

## ②取得したアミノ酸配列のデータからG614D変異事例を探す

>UVE13302.1 |surface glycoprotein [Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2]

```
MFVFLVLLPLVSSQCVNLI TRTQSYTNSFTRGVVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFLPFFSNVT  
WFHAISGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSTQSLLI VNNATN  
VVIKVCQEFQFCNDPFLDVYYHKNNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGN  
FKNLREFVFKNIDGYFKIYSKHTP INLGRDLPQGFSALEPLVDLP IGINI TRFQTLALH  
RSYLTPGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRFTLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKS  
FTVEKGIYQTSNFRVQPTESI VRFPNI TNLCPFDEVFNATRFASVYAWNRKRISNCVADY  
SVLYNFAPFFAFKCYGVSPTKLNLCFTNVYADSFVIRGNEVSQIAPGQTGNIADYNYKL  
PDDFTGCVIAWNSNKLDSKVGGNYNYRYRLFRKSNLKPFERDISTEIQAGNKPCNGVAG  
VNCYFPLQSYGFRPTYGVGHQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGL  
LTGTGVLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITPGTNTS  
NQVAVL YQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEYVNNSYECDIP  
IGAGICASYQTQTKSHRRARSVASQSI IAYTMSLGAENSVAYSNSIAIPTNFTISVYTE  
ILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECSNLLLQYGSFCTQLKRALTGIAVEQDKNTQEVFAQV  
KQIYKTPPIKYFGGFNFSQILPDPSPKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDI  
ARDL ICAQKFNGLTVLPPLTDEMI AQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAMQMAYR  
FNGIGVTQNVLYENQKLI ANQFNSAIGKIQDSL SSTAALGKLQDVVNHNAQALNTLVKQ  
LSSKFGA ISSLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGRLQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLA  
ATKMSECVLGGSKRVDFCGKGYHLMSPQSAHPGVVFLHVTVYVPAQEKNFTTAPAICHG  
KAHFPRREGVFSNGTHMFTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVWIGIVNNTVYDPLQPEL  
DSFKEELDKEYFKNHTSPDVLGDISGINASVYVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK  
YEQYIKWPWYIWLGF IAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCCLKGCCSCGSCCKFDEDDSEPV  
KGVKLYHT
```

G614D変異が起きていることを示す配列「YQDVN」を検索



多くのG614D変異が見られる変異株をしぼりこむ

その変異株について日時・場所データをもとに分析

# 発表内容

- 背景
- 本研究の目的
- 分析手法
- **分析結果**
- 結果の考察
- 本研究のまとめ・課題

# 分析結果

## 18種類の変異株についてG614D変異が多く見られるか調査

変異名	<b>AY.103</b>	<b>AY.44</b>	B.1.1.519	B.1.427	B.1.429	B.1.526	B.1.637	<b>BA.1.15</b>	BA.5.2.1
G614D変異	163	134	5	4	7	10	8	57	5
全体の数	242444	208550	12534	13062	29260	33588	11185	84850	82004
割合(%)	0.067	0.064	0.04	0.031	0.024	0.03	0.072	0.067	0.006
変異名	BA.5.5	BE.1	BE.3	CH.1.1	D.2	XBB.1.16	XBB.1	<b>B.1.617.2</b>	<b>BA.2</b>
G614D変異	6	1	0	0	0	0	2	403	189
全体の数	34641	6004	5185	1311	11423	3388	3186	45699	84062
割合(%)	0.017	0.017	0	0	0	0	0.063	0.882	0.225

※Kakeyaらの研究と集計方法が異なるため、B.1.617.2変異株とBA.2株も対象とした

→赤字の変異株にしぼり、検出日時・場所データをもとに分析



## 分析結果

＜研究所からの流出がない場合の仮説＞

市中感染でG614D変異は極めて起こりにくいため、

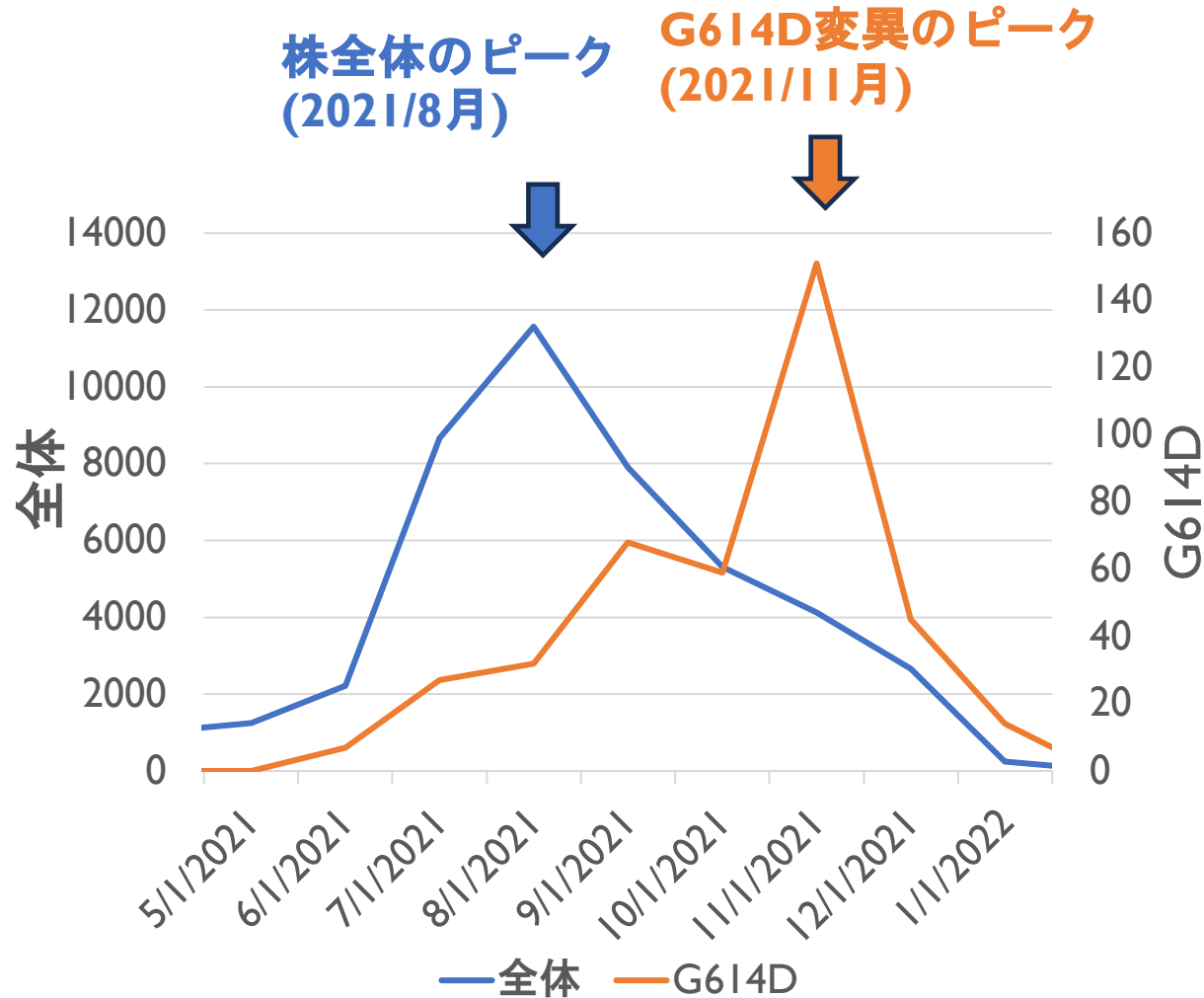
（検出時期）変異株全体の数とG614D変異の数の**多い時期が重なる**

（検出場所）変異株全体の数とG614D変異の数が**多い地域が重なる**

ことが自然。

→ そうならない時期、地域があれば**流出可能性**が示唆される

## B.1.617.2 (検出時期)



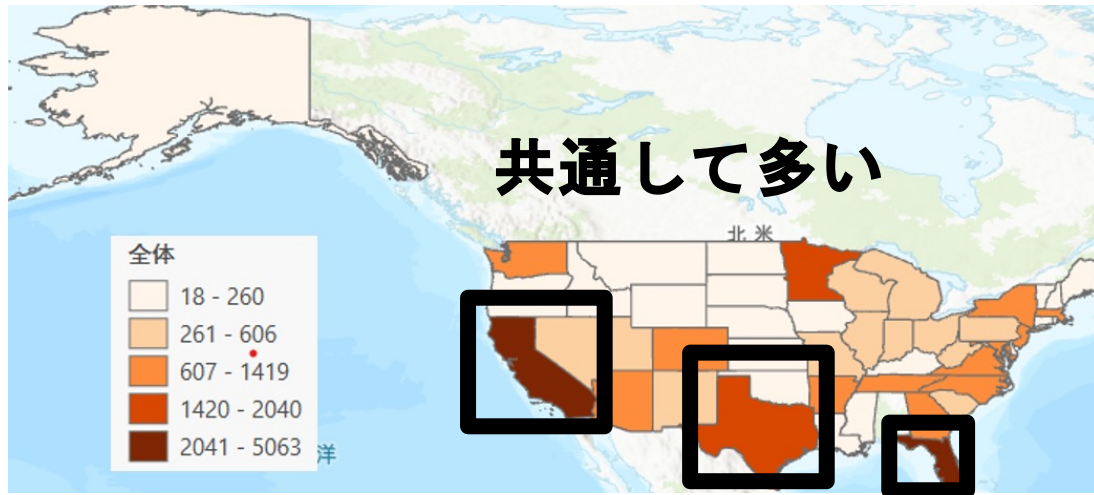
### B.1.617.2 :デルタ株系統

- 変異株全体のピークと比較し G614D変異のピークが遅い

不安定な変異のピークが後から起こることは不自然

## B.1.617.2 (検出位置)

### 株全体

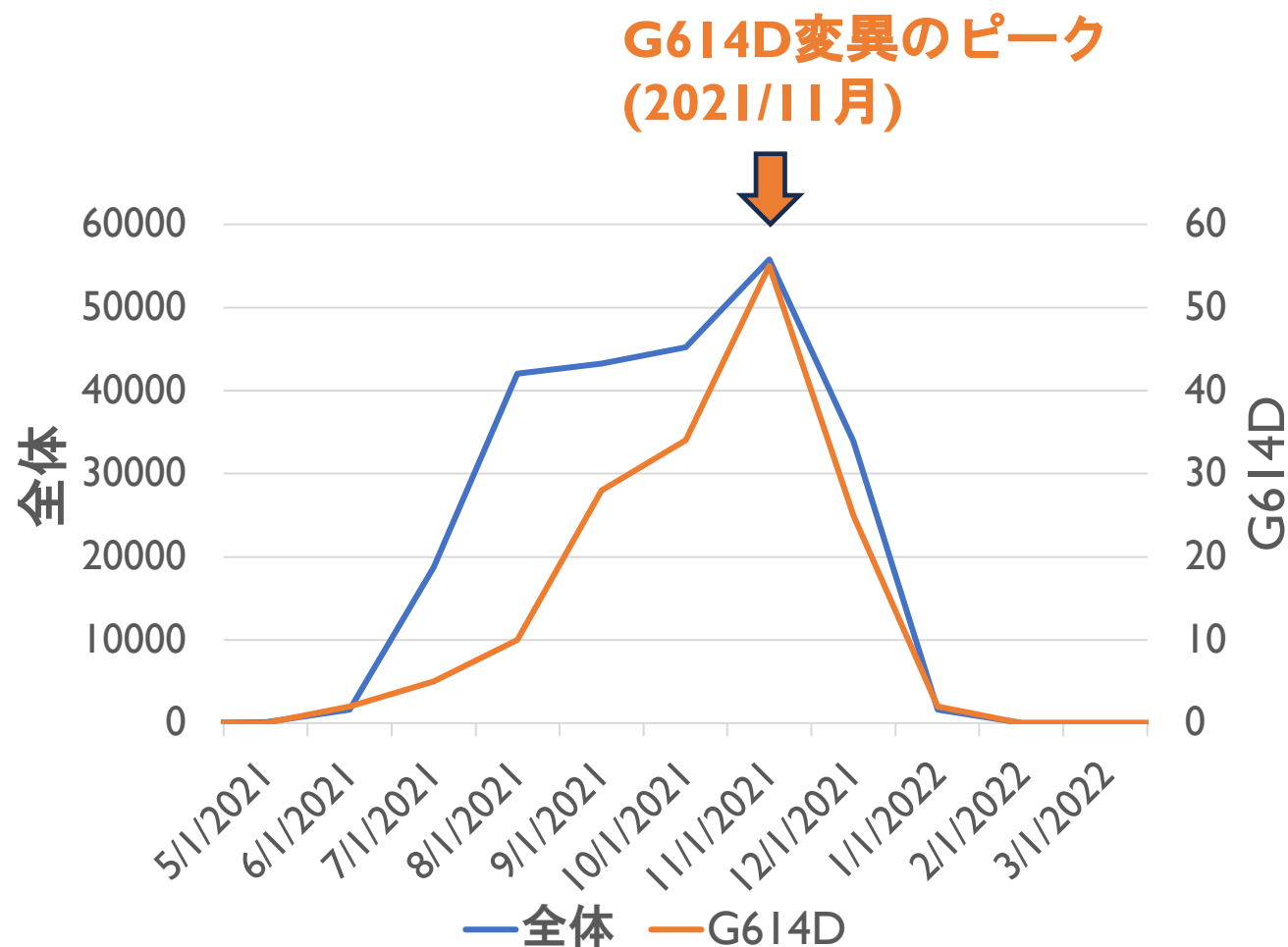


### G614D変異



同変異株と比較した場合、**北東のミシガン州、イリノイ州**でG614D変異が特に多い

## AY.103 (検出時期)

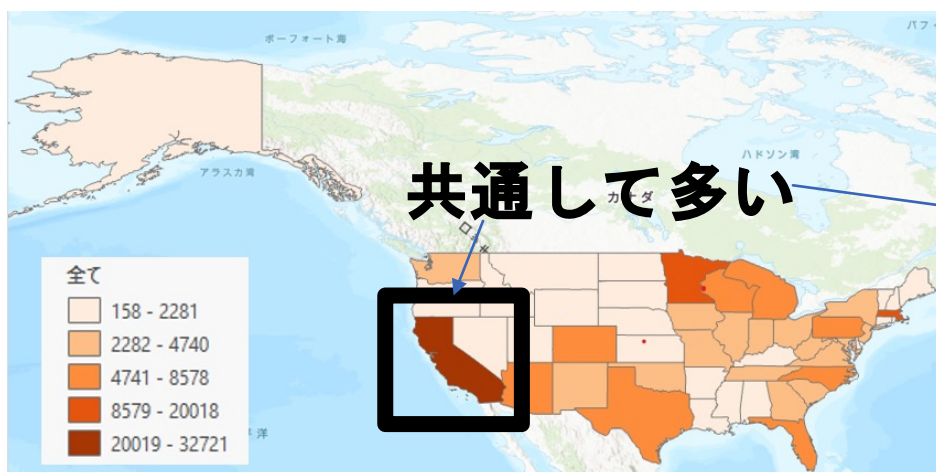


AY.103: B.1.617.2(デルタ)の亜種  
(後に出た系統)

- G614D変異のピークは株全体のピークと比べて若干遅れている
- B.1.617.2のG614D変異のピーク(11月)と同じである

## AY.103 (検出位置)

### 株全体

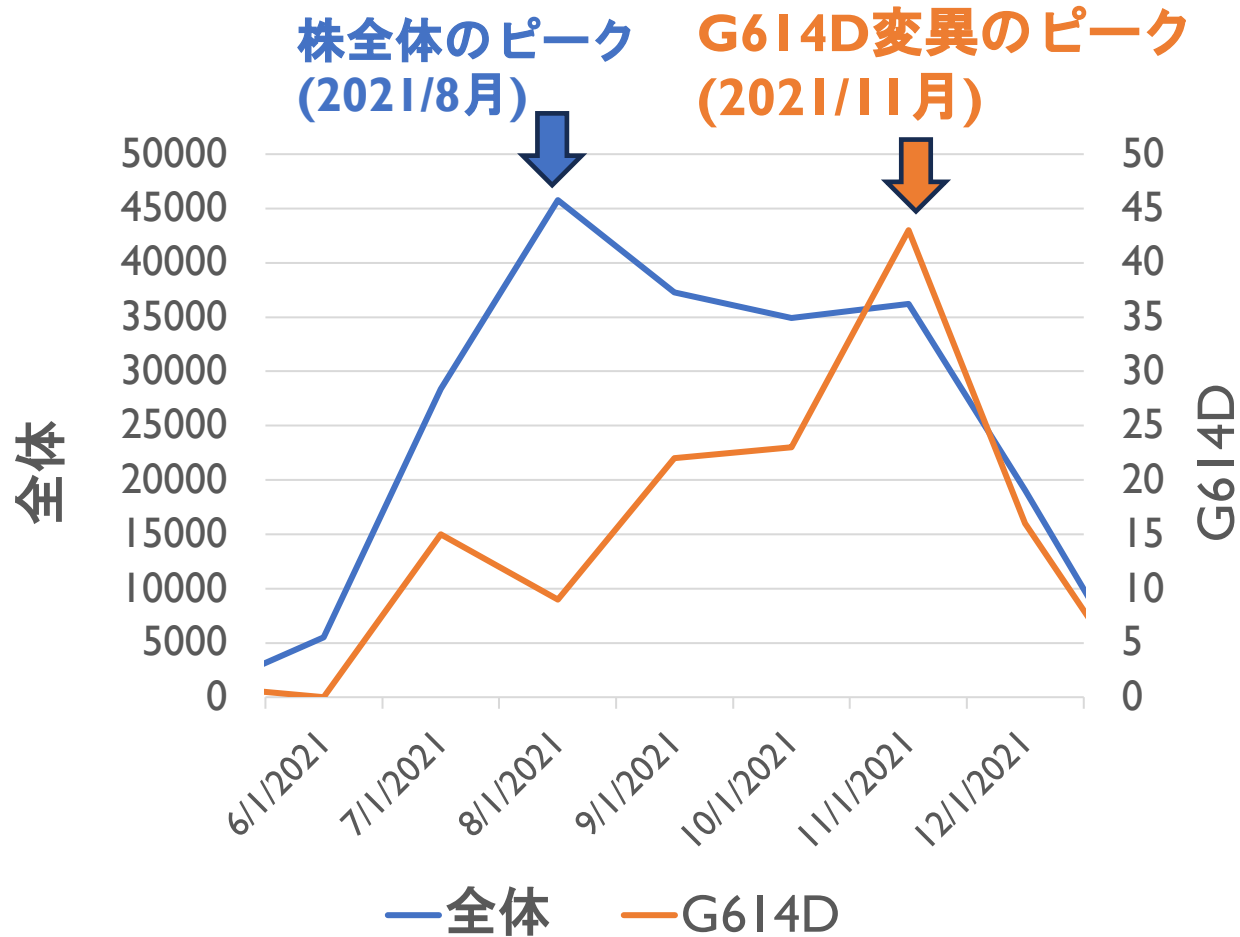


### G6I4D変異



- ミシガン州などアメリカ北東部で多くG6I4D変異が見つかったている
- B.1.617.2ととても分布が似ている

## AY. 44 (発生時期)

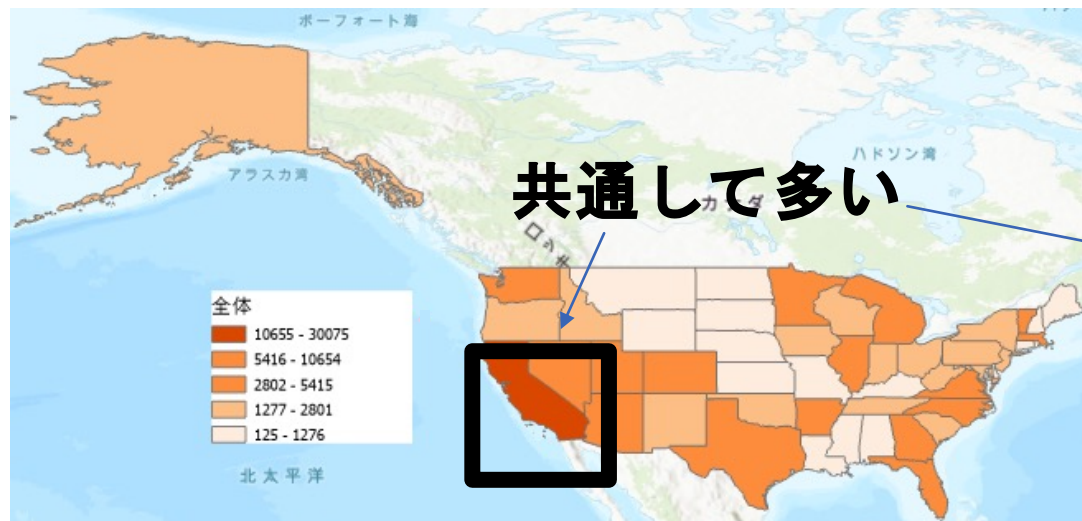


AY.44: B.1.617.2(デルタ)の亜種  
(後に出た系統)

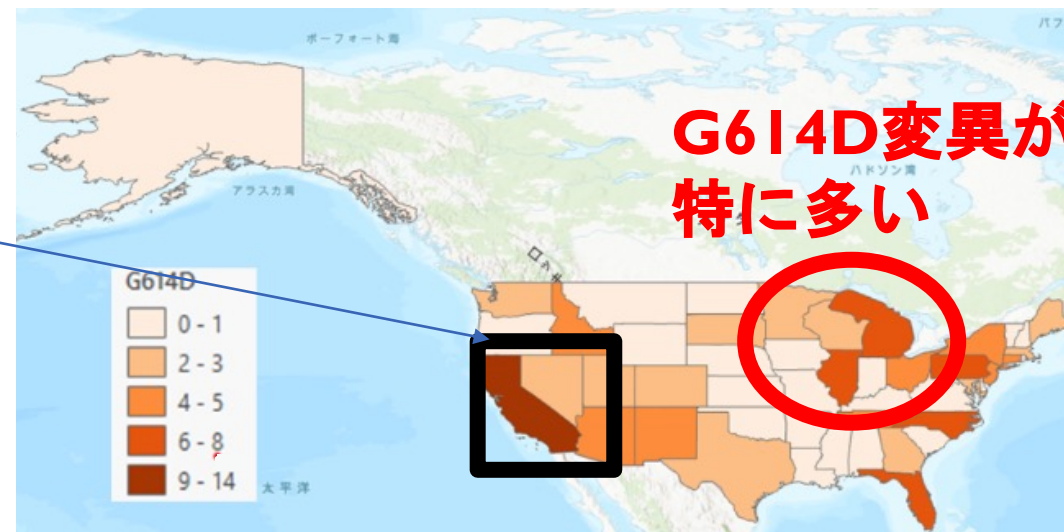
- G614D変異のピークが全体と比較して遅れている
- 他のデルタ株系統と同様に2021年11月に復帰変異のピークが来ている

## AY. 44 (発生位置)

### 株全体



### G6I4D変異



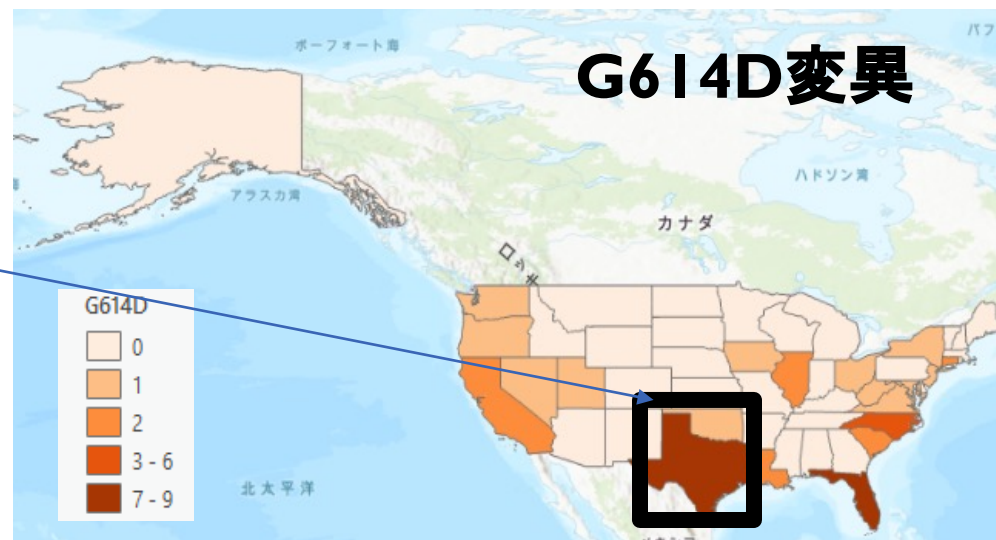
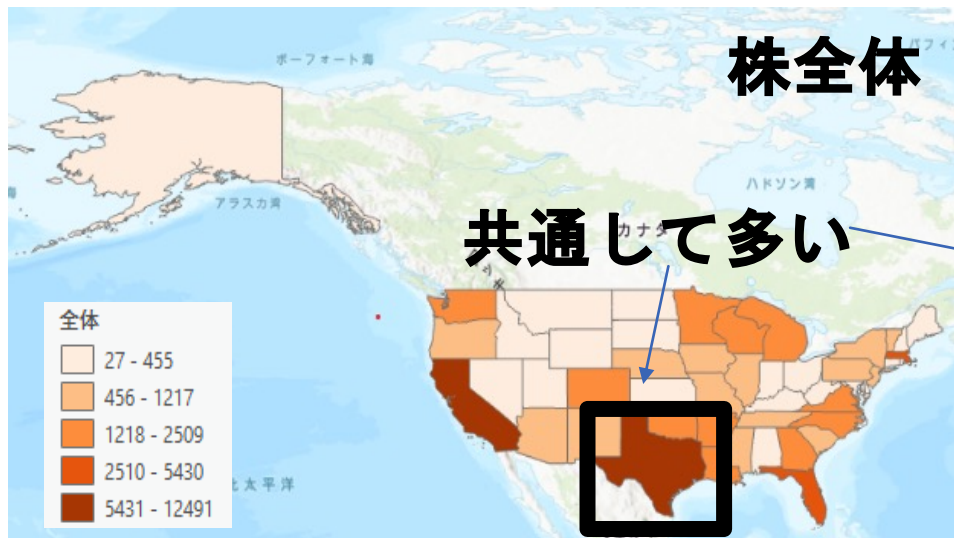
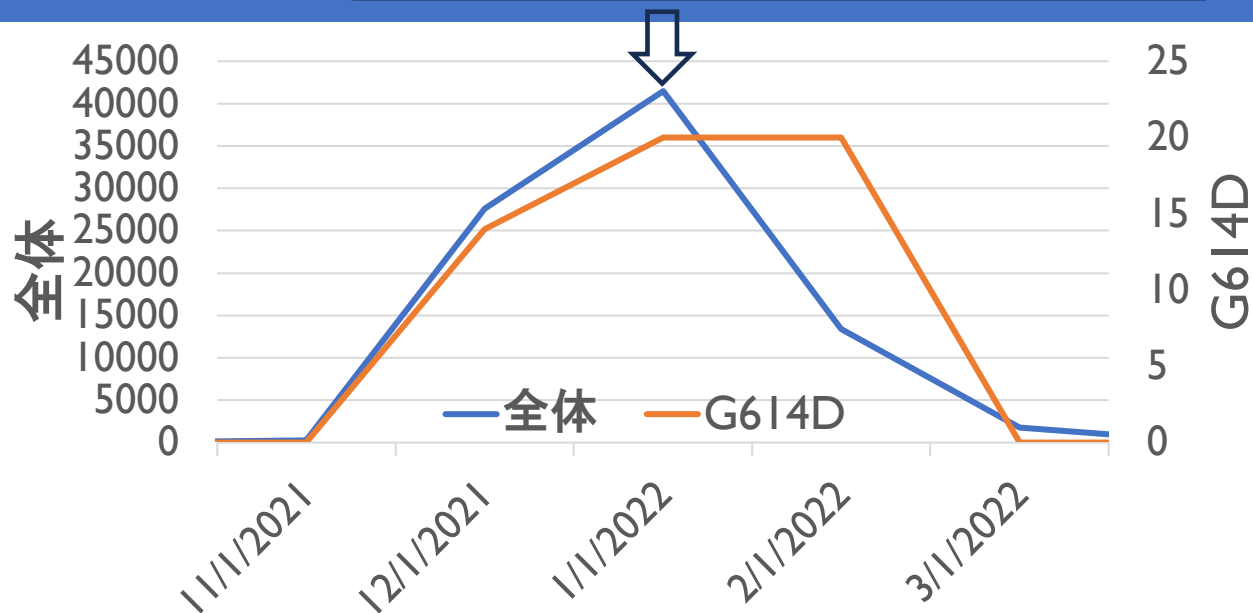
- ・他のデルタ株同様**アメリカ北東部**でG6I4D変異が多くみられる。
- ・カリフォルニア州でもG6I4D変異が若干多い

# BA. 1.15

## BA.1.15:オミクロン株の系統

- ・ 検出位置、場所共にあまり差はみられない
- ・ どちらもテキサス州で多く検知された

全体、G614Dピークは同じ(2022/1月)





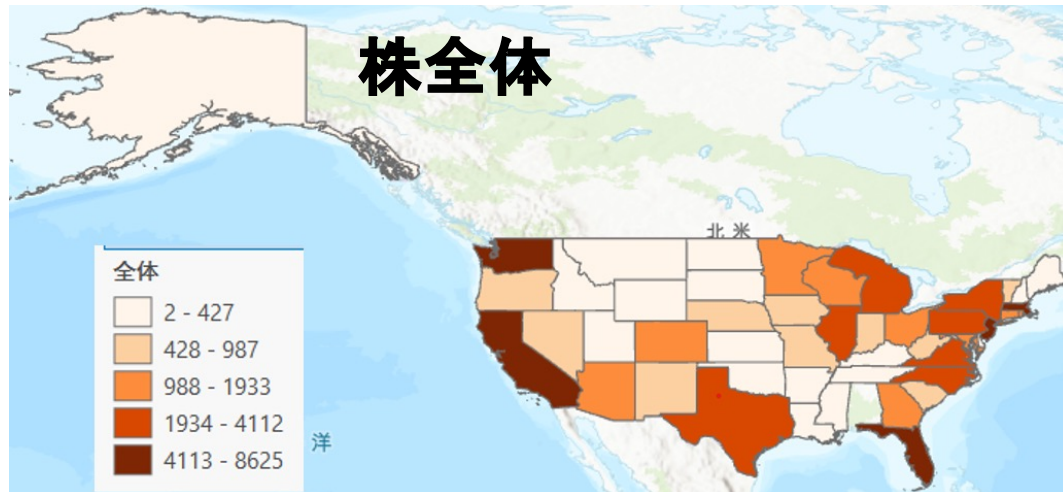
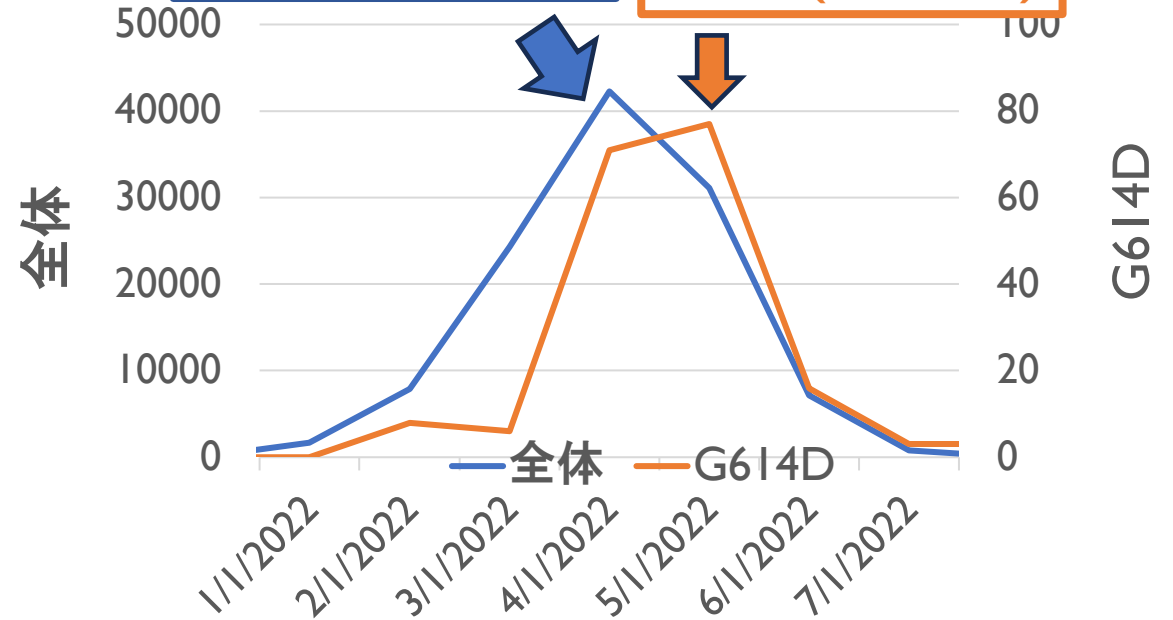
# BA. 2

## BA.2:オミクロン株の系統

- G614D変異は全体のピークより遅れている
- ニューヨーク州でG614D変異が多く見られる

変異全体のピーク(2022/4月)

G614D変異のピーク(2022/5月)



ニューヨーク州

# 発表内容

- 背景
- 本研究の目的
- 分析手法
- 分析結果
- **結果の考察**
- 本研究のまとめ・課題

# 考察

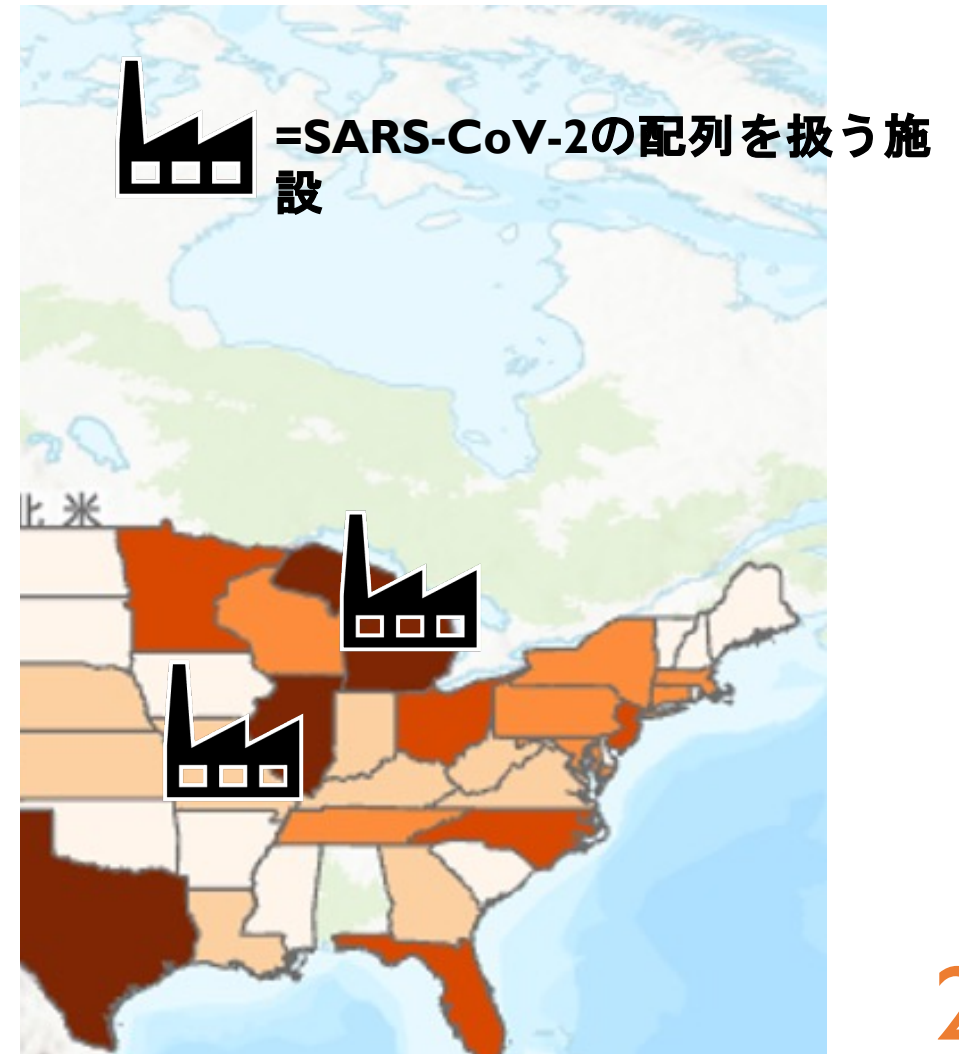
デルタ株のG614D復帰変異が特に多い地域

- ミシガン州
- イリノイ州

SARS-CoV-2を扱っている施設の場所

- ミシガン州
- ミズーリ州セントルイス  
(イリノイ州のすぐ隣)

G614D復帰変異が特に多い地域の近くにSARS-CoV-2の配列を扱う施設がある



# 考察

## 事実

G614D復帰変異が  
イリノイ州、ミシガン州で  
多く発生している

デルタ株のG614D復帰変異  
が流行後期に発生する

G614D変異は自然界で  
発生しにくい

## 考察

デルタ株  
(B.1.617.2,AY.103,AY.44)  
のG614D復帰変異は  
イリノイ・ミシガン  
辺りから漏れ出た  
可能性？

# 発表内容

- 背景
- 本研究の目的
- 分析手法
- 分析結果
- 結果の考察
- **本研究のまとめ・課題**

# まとめ

## 分析手法

- コロナウイルスのG614D変異の検出
- 検出数の多い株については時系列と発生位置の分析を実施

## 結果

- デルタ株(B.1.617.2)とデルタ株の亜種(AY.44)のG614D復帰変異が全体のピークに対して遅れている
- デルタ株の亜種(AY.103,AY.44)はB.1.617.2と復帰変位のピークがどちらも2021年11月で等しい
- デルタ株の復帰変位の検出位置はミシガン州、イリノイ州が多い

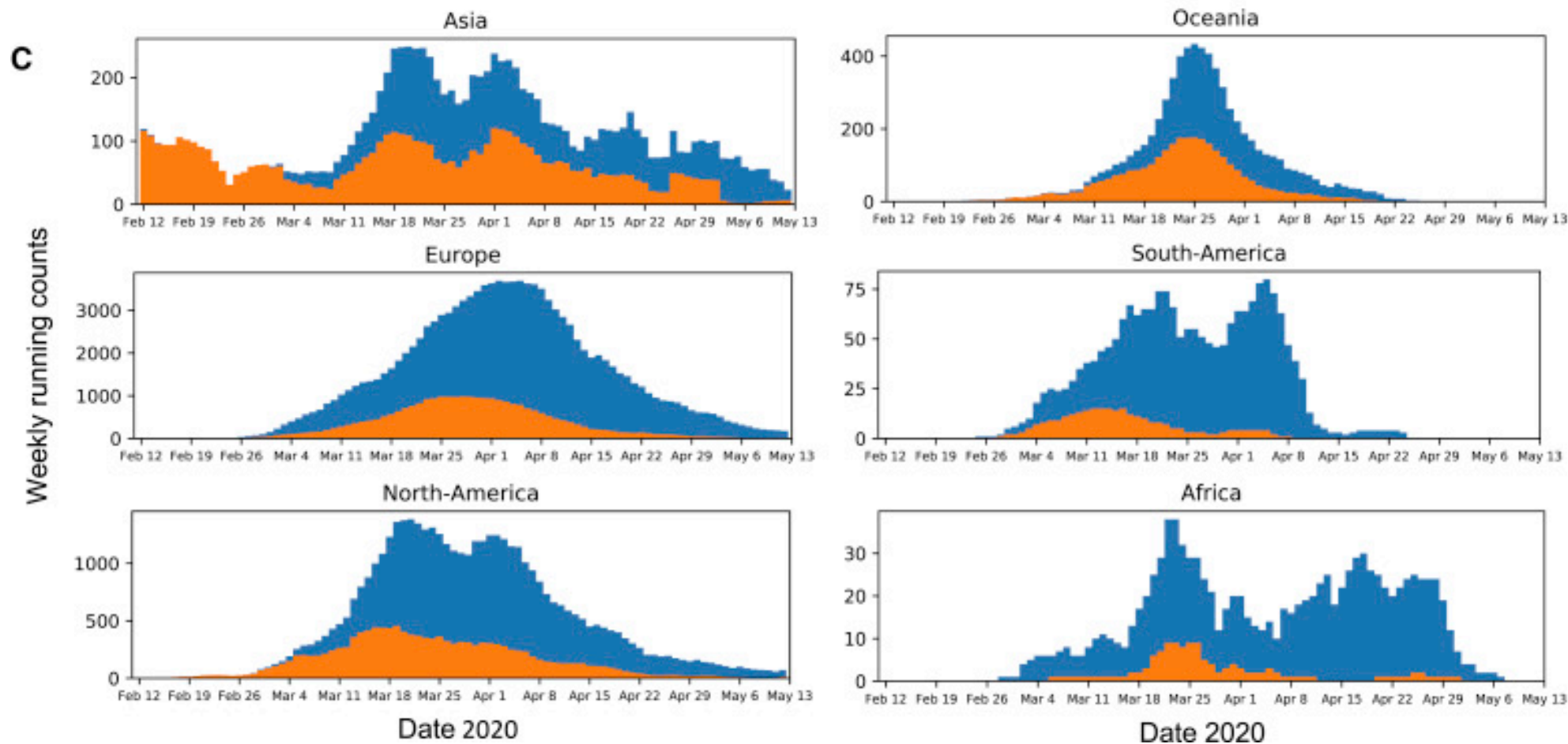
## 課題

- この研究は研究所からの流出の直接的な証拠を示すわけではない
- (立ち入り検査等)直接検証する必要がある

# 参考文献

- ダイヤモンド・オンライン, <https://diamond.jp/articles/-/329547>
- NHK, 新型コロナと感染症・医療情報 <https://www3.nhk.or.jp/news/special/coronavirus/data-all/>
- 動物画像 : <https://forbesjapan.com/articles/detail/61741> <https://www.bbc.com/japanese/52058902>
- A lab assistant involved in COVID-19 research in Taiwan exposed 110 people after becoming infected at work - Bulletin of the Atomic Scientists (thebulletin.org)
- Atsushi Tanaka, and Takayuki Miyazawa, “Unnatural evolutionary processes of SARS-CoV-2 variants and possibility of deliberate natural selection”, August 15, 2023 DOI:10.5281/zenodo.8361577
- ” Induced intra- and intermolecular template switching as a therapeutic mechanism against RNA viruses”, November 4, 2021
- Hideki Kakeya, and Yoshihisa Matsumoto, “Repeated emergence of probabilistically and chronologically anomalous mutations in SARS-CoV-2 during the COVID-19 pandemic”, August 4, 2023 DOI:10.5281/zenodo.8216232
- “NCBI Virus” <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#/>
- 宮坂昌之, 変異ウイルスとワクチンの作用機序、効果, 公益財団法人 日本記者クラブ2021年5月11日資料

# 分析手法



縦軸：検出数  
横軸：日付

橙：614番目がD  
青：614番目がG

Bette Korber et al.(2020)

Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus

DOI : 10.1016/j.cell.2020.06.043