

## 令和7年度 外部精度管理事業

課題3 SARS-CoV-2 の次世代シーケンシングによるゲノム解析  
実施手順書  
(ウイルス遺伝子配列の解読・解析)

- 1) 検体はヒト臨床検体由来分離 SARS-CoV-2 株の精製 RNA (合計2点、チューブには検体記号のみ表示) です。各ウイルス RNA は不活化ウイルスより RNA 抽出した後に乾燥させています。検体受け取り後、溶解を行なうまでは凍結せず4℃にて保管してください。
- 2) 各チューブのスピンダウンを行ってから 20 $\mu$ l の Nuclease-free water を加え、室温で15分間静置してください。その後、30秒間のボルテックスを行ない、乾燥物が完全に溶解したことを確認してください。次に、新しい1.5mL マイクロチューブを準備し、40 $\mu$ l の Nuclease-free water を加えてください。これに先に作成した RNA 溶液を 10 $\mu$ l 加えて、30秒間のボルテックスを行ない、ライブラリ調製用の RNA 溶液とします。溶解後は速やかに検査を実施してください。検査後の残液は-70℃以下にて保管してください。
- 3) ライブラリ調製用の RNA 溶液を「遺伝子検出検査でそれぞれ SARS-CoV-2 陽性の可能性のある RNA 検体 (RNA 抽出済み)」として取り扱い、次世代シーケンサーを使用しショートリードシーケンスによる SARS-CoV-2 遺伝子配列の解読・解析を行ってください。適正な塩基配列の取得および特定の変異同定を評価項目とします。
- 4) 検査終了後、本手順書2ページの内容(基本情報、検査結果、アンケート調査項目等)を外部精度管理事業結果入力専用サイトに入力してください。全ゲノム配列は FastA 形式で同ウェブサイトへアップロードしてください。(結果入力は途中で一時保存可、のちに再開可能です)。  
\* 解析における参考と注意：
  - ・ PathoGenS を解析にご利用いただけますが、EQA サンプルの FASTA データをアップロードすることは**固くお控えください**(PathoGenS 使用マニュアル参照のこと)。
  - ・ ローカル環境で使用可能な CoLoG ソフトウェアも下記リンクで配布しています。  
<https://github.com/khoriba/CoLoG>
- 5) 判定後の検体残液は成績評価返送まで保管してください。検体残液は、各施設が行う検査での SARS-CoV-2 の遺伝子検査の陽性コントロールとして使用していただいても構いません。
- 6) 結果登録締め切り日(発送後約4週間程度、日付は検体発送時に通知、ホームページにも発表予定)までに結果の入力を完了し、必ず「確定」してください。期日前であれば「確定」していても修正可能ですが「確定」していないと登録とみなされません。  
\* 結果入力の確定が締切日時に間に合わないが見込まれる場合は、事前に事務局に連絡をお願いします。事前の連絡無しに検査結果が未確定や未入力の場合、参加辞退として処理されますのでご注意ください。

**入力項目** 結果入力専用ウェブサイトに入力してください。

< 必須項目 >

基本情報

- 1) 使用した次世代シーケンサーの機種名（下記から選択）
  - ・ Illumina 社 iSeq、MiSeq（旧プラットフォーム）、MiniSeq、MiSeq i100
  - ・ その他（その他の場合は具体的に次欄に記載）
- 2) 用いた試薬・キット（具体的に記載）
  - ・ ○○○○
- 3) ウイルスゲノム解析に用いた手法とソフト名・Web サイト（URL）の情報
  - ・ ○○○○

検査結果 2つの検体についてそれぞれ記載してください。検体1、2の順序は任意です

- 1) 検体記号（チューブに記載してあるアルファベット大文字4文字）： \_\_\_\_\_
- 2) 塩基配列
  - ・ 全ゲノムのアップロード（FastA 形式）
  - ・ クレード（clade）および PANGO 系統（lineage）

< 任意項目 >

備考（自由記載。解読から得られた留意すべき特徴を記載）

**アンケート調査項目** 以下の回答はトラブルシューティングに活用されます。

■ 遺伝子解読・解析の方法

○ 方法（以下の2項目より選択）

- ・ 感染研・病原体ゲノム解析研究センターの技術研修会で習得した手法
- ・ その他（その他の場合は次欄に具体的に記載）

■ 特記事項（自由記載）

ご不明な点やトラブルなどがありましたら、下記にお問い合わせください。

国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 外部精度管理事業事務局  
E-mail : eqa@nih.go.jp