

令和 8 年度 外部精度管理事業
課題 2 麻しん・風しんウイルスの遺伝子解析
実施手順書

- 1) 検体は麻しんウイルス RNA 及び風しんウイルス RNA 各 1 点（合計 2 点）です。各ウイルス RNA は RNA 安定剤と混合後、乾燥させています。チューブ底面に乾燥した RNA が存在しますので、以下の手順で溶解してください。検体は溶解の有無にかかわらず、到着後は-70 °C以下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 200 μ L の Nuclease-free water を加え、室温で 10 分間静置してください（氷上には置かないでください。底面に気泡が存在する場合はスピンダウンで気泡を除去してください）。その後、30 秒間のボルテックス、続いて 10 回の転倒混和（チューブ内の溶液が完全に上下移動するように、確実にシェイクする）を行い、底面に固形物が残っておらず、均一に混合されたことを確認してください。溶解後の検体を「遺伝子検査でそれぞれ麻しんウイルス・風しんウイルスが陽性であった RNA 検体（RNA 抽出済み）」として取り扱い、各参加施設の方法に従ってウイルス遺伝子配列の解析及び遺伝子型の決定を行ってください。
- 3) 検査終了後、本手順書 2 ページ以降の内容（検査結果入力項目、アンケート項目）を外部精度管理事業結果入力専用 WEB サイトに入力してください。また、補助データ（RT-PCR 産物の電気泳動像、シーケンス波形データならびに系統樹データ）についても同一 WEB サイトからアップロードしてください
- 4) 評価対象となる項目は、麻しんウイルス及び風しんウイルスの遺伝子型・塩基配列（系統樹解析・遺伝子型決定に使用した領域の塩基配列）です。
- 5) 結果登録締切日（検体発送後約 3 週間、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。
*結果入力の確定が上記の締切日に間に合わないと見込まれる場合は、事前に事務局にご連絡ください。連絡無しに検査結果が未確定の場合、参加辞退として処理されますのでご注意ください。
- 6) 必須事項の正確な入力も評価対象です。結果の記入漏れ・検体番号の誤記などがあった場合は正解になりませんので、ご注意ください。
- 7) 使用後の検体は臨床検体に準じて廃棄してください。

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

TEL 03-5285-1111（内線 2301）

E-mail : eqa@nih.go.jp

検査結果入力項目

1. 麻疹ウイルス解析（評価対象項目は 1）～3））

1) 検体番号（半角大文字 M と半角数字 4 桁）： _____

2) 遺伝子型（以下の 25 項目より選択）

（A, B1, B2, B3, C1, C2, D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, D11, E, F, G1, G2, G3, H1, H2, 決定できず）

注：決定できなかった場合には、どこの段階でうまくいかなかったか「7) 備考」にご記載ください。

3) 塩基配列（系統樹解析/遺伝子型決定に使用した領域の塩基配列を入力してください）

注：一部配列が解析できなかった場合も解析できた範囲で配列を入力してください。混合塩基の場合は IUPAC の定める表記（例：G or A は R と表記）で記載してください。

4) 遺伝子型決定領域増幅 RT-PCR の方法（以下の 3 項目より選択）

・病原体検出マニュアル

・病原体検出マニュアル改変（変更点を特記事項に記載）

・その他（方法を特記事項に記載）

特記事項（自由記載）

5) シークエンス反応の方法（以下の 3 項目より選択）

・病原体検出マニュアル

・病原体検出マニュアル改変（変更点を特記事項に記載）

・その他（方法を特記事項に記載）

特記事項（自由記載）

6) 麻疹ウイルス株名（自由記載）

以下の情報を元に WHO が定める方法（病原体検出マニュアル参照のこと）で命名してください：

貴所管轄地域内で 2026 年 4 月 27 日に発疹が出現した患者から採取された臨床検体からウイルス分離を行った。分離されたウイルスの遺伝子解析を行った。同一週に検出されたウイルスとしては 3 番目である。

7) 備考（自由記載）

2. 風疹ウイルス解析（評価対象項目は 1）～3））

1) 検体番号（半角大文字 R と半角数字 4 桁）： _____

2) 遺伝子型（以下の 14 項目より選択）

（1a, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1G, 1H, 1I, 1J, 2A, 2B, 2C, 決定できず）

注：決定できなかった場合には、どこの段階でうまくいかなかったか「7) 備考」にご記載ください。

3) 塩基配列（系統樹解析/遺伝子型決定に使用した領域の塩基配列を入力してください）

注：一部配列が解析できなかった場合も解析できた範囲で配列を入力してください。混合塩基の場合は IUPAC の定める表記（例：G or A は R と表記）で記載してください。

4) 遺伝子型決定領域増幅 RT-PCR の方法（以下の 3 項目より選択）

- ・病原体検出マニュアル
- ・病原体検出マニュアル改変（変更点を特記事項に記載）
- ・その他（方法を特記事項に記載）

特記事項（自由記載）

5) シークエンス反応の方法（以下の 3 項目より選択）

- ・病原体検出マニュアル
- ・病原体検出マニュアル改変（変更点を特記事項に記載）
- ・その他（方法を特記事項に記載）

特記事項（自由記載）

6) 風しんウイルス株名（自由記載）

以下の情報を元に WHO が定める方法（病原体検出マニュアル参照のこと）で命名してください：

貴所管轄地域内で 2026 年 2 月 22 日に発疹が出現した患者から採取された臨床検体から RT-PCR でウイルス遺伝子が検出された。同一週に検出されたウイルスとしては 1 番目である。

7) 備考（自由記載）

補助データの登録

入力データの確認のため、以下の情報について登録してください。

1) RT-PCR 産物の電気泳動図

以下の「泳動図 Powerpoint ファイル作成要領」を参考にして作成したファイルをアップロードしてください。

2) シーケンス波形データ

配列決定に用いた波形データを麻しん／風しん前半断片／風しん後半断片、フォワードプライマー／リバースプライマー／補助プライマー別にアップロードしてください。ab1 形式もしくは scf 形式のファイルをアップロードしてください。入力項目に該当しない場合やファイル形式が異なる場合には事務局にご相談ください。

<入力フィールド>

麻しん フォワードプライマー

麻しん リバースプライマー

風しん前半断片 フォワードプライマー

風しん前半断片 リバースプライマー

風しん後半断片 フォワードプライマー

風しん後半断片 リバースプライマー

風しん後半断片 補助プライマー（使用した場合のみ）

3) 遺伝子型決定に用いた系統樹図

pdf または Powerpoint ファイルで作成し、アップロードしてください。

泳動図 Powerpoint ファイル作成要領

1. 外部精度管理事業専用 WEB サイト「結果入力サイト」から泳動図例 Powerpoint ファイル (R8_eqa_MR_EP.pptx) をダウンロードしてください。
2. 麻しん検査と風しん検査でそれぞれ 1 枚のスライドページを作成し、1 つのファイルにまとめてください。
3. 後述の記載例に従って、電気泳動写真画像を貼り付け、説明を追加してください。
4. 作成したファイルを保存し、結果入力専用 WEB サイトにて、ファイルをアップロードしてください。

施設名

麻疹ウイルスまたは風疹ウイルス

国立感染症研究所 風疹ウイルス遺伝子型決定領域増幅RT-PCR産物 泳動図 (例)

レーン番号

マーカーサイズ

1.0 kb
0.5 kb

アガロース濃度 (1.5% Agarose)

特記事項

報告事項があれば、こちらに記載してください。。

各レーンの説明

1. 100 base ラダーマーカー
2. 風疹検体_E1-(2)
3. ネガティブコントロール_E1-(2)
4. ポジティブコントロール_E1-(2)
5. 風疹検体_E1-(3)
6. ネガティブコントロール_E1-(3)
7. ポジティブコントロール_E1-(3)

2, 3, 4は、病原体検出マニュアル記載のE1-(2)断片増幅RT-PCR産物である。
5, 6, 7は、病原体検出マニュアル記載のE1-(3)断片増幅RT-PCR産物である。
いずれもRT-nested PCR産物を電気泳動した。

用いた RT-PCR 法について、1st PCR もしくは Nested PCR の産物のどちらを泳動したか等を簡単にご説明ください。

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。

麻しん

■ 遺伝子型決定領域増幅 RT-PCR

用いた試薬を選択してください。

注：逆転写反応と PCR を一回の反応で行う試薬の場合は、＜RT 試薬＞から選択してください。その場合、＜1st PCR 試薬＞では＜非該当＞を選択してください。Nested PCR を実施しなかった場合には＜非該当＞を選択してください。

・ RT 試薬（6 選択肢から選択）

PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time)
PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)
SuperScript III Reverse Transcriptase
QIAGEN OneStep RT-PCR Kit
PrimeScript II High Fidelity One Step RT-PCR Kit
その他（特記事項に記載）
特記事項（自由記載）

・ 1st PCR 試薬（9 選択肢から選択）

PerfectShot *Ex Taq*
Tks Gflex DNA Polymerase
TaKaRa Ex Taq Hot start version
TaKaRa Ex Taq
EmeraldAmp PCR master mix
PrimeSTAR GXL DNA Polymerase
TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase
非該当
その他（特記事項に記載）
特記事項（自由記載）

・ Nested PCR 試薬（9 選択肢から選択）

PerfectShot *Ex Taq*
Tks Gflex DNA Polymerase
TaKaRa Ex Taq Hot start version
TaKaRa Ex Taq
EmeraldAmp PCR master mix
PrimeSTAR GXL DNA Polymerase
TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase
非該当
その他（特記事項に記載）
特記事項（自由記載）

■ PCR 産物の精製

・ 方法（3 選択肢から選択）

溶液から直接精製
ゲルからの切り出し精製
その他（特記事項に記載）
特記事項（自由記載）

・ 試薬（11 選択肢から選択）

QIAquick PCR Purification Kit
QIAquick Gel Extraction Kit
MinElute PCR Purification Kit
MinElute Gel Extraction Kit
Wizard SV Gel and PCR Clean-Up system

ExoSAP-IT *Express* PCR Product Cleanup
AMPure XP
FastGene Gel/PCR Extraction Kit
MonoFas DNA 精製キット I
High Pure PCR Product Purification Kit
その他（特記事項に記載）
特記事項（自由記載）

■ シークエンス反応

・試薬（4 選択肢から選択）

注：外部委託で実施した場合は、試薬名ではなく＜外部委託＞を選択してください。

BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit
BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit
外部委託
その他（特記事項に記載）
特記事項（自由記載）

■ シークエンス反応産物の精製（ダイターミネーター除去）

・試薬または方法（10 選択肢から選択）

注：外部委託で実施した場合は、試薬名ではなく＜外部委託＞を選択してください。

BigDye XTerminator
Centri-Sep
AutoSeq G-50
Gel Filtration Cartridge
CleanSEQ
NucleoSEQ
Sephadex G-50
エタノール沈殿
外部委託
その他（特記事項に記載）
特記事項（自由記載）

風しん

■ 遺伝子型決定領域増幅 RT-PCR

用いた試薬を選択してください。

注：逆転写反応と PCR を一回の反応で行う試薬の場合は、＜RT 試薬＞から選択してください。その場合、＜1st PCR 試薬＞では＜非該当＞を選択してください。Nested PCR を実施しなかった場合には＜非該当＞を選択してください。

・RT 試薬（6 選択肢から選択）

PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time)
PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)
SuperScript III Reverse Transcriptase
QIAGEN OneStep RT-PCR Kit
PrimeScript II High Fidelity One Step RT-PCR Kit
その他（特記事項に記載）
特記事項（自由記載）

・1st PCR 試薬（9 選択肢から選択）

PerfectShot *Ex Taq*
Tks Gflex DNA Polymerase
TaKaRa Ex Taq Hot start version
TaKaRa Ex Taq
EmeraldAmp PCR master mix

PrimeSTAR GXL DNA Polymerase
TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase

非該当

その他（特記事項に記載）

特記事項（自由記載）

・ Nested PCR 試薬（9 選択肢から選択）

PerfectShot *Ex Taq*

Tks Gflex DNA Polymerase

TaKaRa Ex Taq Hot start version

TaKaRa Ex Taq

EmeraldAmp PCR master mix

PrimeSTAR GXL DNA Polymerase

TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase

非該当

その他（特記事項に記載）

特記事項（自由記載）

■ PCR 産物の精製

・ 方法（3 選択肢から選択）

溶液から直接精製

ゲルからの切り出し精製

その他（特記事項に記載）

特記事項（自由記載）

・ 試薬（11 選択肢から選択）

QIAquick PCR Purification Kit

QIAquick Gel Extraction Kit

MinElute PCR Purification Kit

MinElute Gel Extraction Kit

Wizard SV Gel and PCR Clean-Up system

ExoSAP-IT *Express* PCR Product Cleanup

AMPure XP

FastGene Gel/PCR Extraction Kit

MonoFas DNA 精製キット I

High Pure PCR Product Purification Kit

その他（特記事項に記載）

特記事項（自由記載）

■ シークエンス反応

・ 試薬（4 選択肢から選択）

注：外部委託で実施した場合は、試薬名ではなく＜外部委託＞を選択してください。

BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit

BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit

外部委託

その他（特記事項に記載）

特記事項（自由記載）

■ シークエンス反応産物の精製（ダイターミネーター除去）

・ 試薬または方法（10 選択肢から選択）

注：外部委託で実施した場合は、試薬名ではなく＜外部委託＞を選択してください。

BigDye XTerminator

Centri-Sep

AutoSeq G-50
Gel Filtration Cartridge
CleanSEQ
NucleoSEQ
Sephadex G-50
エタノール沈殿
外部委託
その他（特記事項に記載）
特記事項（自由記載）