

## 非侵襲的手法を用いたコウモリ保有病原体叢の解明

研究代表者: 渡辺俊平 (獣医学部 獣医学科)

担当: 非侵襲的な検体採取法の確立とウイルス遺伝子検出

研究分担者: 鎌田龍星 (獣医学部 獣医学科)

担当: 四国洞窟におけるコウモリの捕獲調査

研究分担者: 中本敦 (理学部・動物学科)

担当: 生態学に基づくコウモリ検体採取場所の検討

### 背景と目的

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) や 2003 年に中国で発生した重症急性呼吸器症候群 (SARS) の原因ウイルス (SARS-CoV) の宿主動物としてコウモリが注目されている。コウモリ (翼手目) は 1400 種を超える種数を誇り、コロナウイルスを含む多くの病原体のソースとなる宿主動物として大きな存在感を示している。そこで**未知のウイルスを含めて、コウモリが保有する病原体叢の全貌を明らかにする必要がある。**一方でコウモリは保護動物であり、多数のコウモリを捕獲する許可を取得するのは、生態系の維持の観点から難しい。そのためコウモリを捕獲・解剖して検体を採取する動物侵襲的な調査によって真に“病原体叢”を解明することは容易でない。そこで本研究では、**コウモリの餌場や洞窟などのコウモリが生息する環境において、環境中からウイルスを採取してウイルスを濃縮・分離する非侵襲的な方法を確立する**ことを研究の目的とする。

コロナウイルスの遺伝子は、コウモリの腸管や糞便から比較的に高い頻度で検出される。またパラミクソウイルスをはじめとしてコウモリの尿中から多く分離されるウイルスも知られている。そこでこうした RNA ウイルスを標的として RT-PCR 法によるウイルス遺伝子の検出、ウイルス分離、ならびに次世代シーケンスを活用したウイルス種網羅的ゲノム解析を行いたい (研究手法と実施体制の概要を図 1 に示す)。



図 1. 研究手法と実施体制の概要

### プロジェクトの進捗状況

これまでにコウモリが生息する愛媛県大学近郊の洞窟において (i) ビニールシートによる落下糞尿の採取 (図 2)、(ii) エアサンプラーを用いた洞

窟大気に滞留するウイルスエアロゾルの濃縮、(iii) コウモリの一時捕獲による糞便スワブの採取、という3つのアプローチにより動物非侵襲的な検体採取を試みた。(i)については糞便を採取することに成功したため、培養細胞を用いたウイルス分離を試みたが、これまでに分離には成功していない。(ii)についても大気検体からコウモリコロナウイルスゲノムの検出を試みたが、ゲノムの検出にはこれまでのところ成功していない。今後は、コウモリの生息密度のより高い場所において大気中から濃縮したエアロゾル検体を採取して網羅的なウイルスゲノム検出を試みたい。

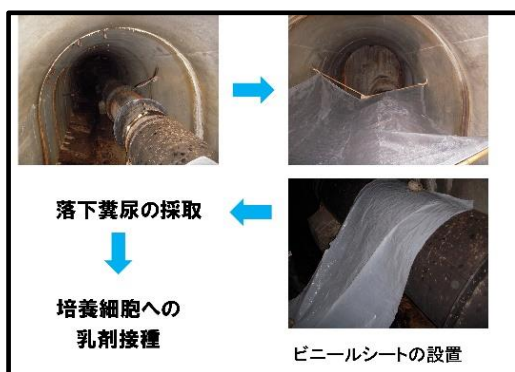


図 2. 落下糞尿の採取



図 3. 調査場所

(iii) の手法を用いては、四国の4か所の調査場所(図3)に生息するコウモリからスワブ検体(糞便スワブおよび口腔スワブ)を採取した。スワブ検体よりRNAを抽出して、コロナウイルスおよびリッサウイルスを標的としたRT-PCRを実施した所、1か所の採材地において異なる時期に繰り返し採材したスワブ検体から、**コロナウイルス遺伝子断片を検出した。ダイレクトシーケンスの結果、約650bpの新規αコロナウイルス遺伝子配列を決定した。**今後、さらに詳細な遺伝子解析を行う予定である。なおウイルスゲノム陽性検体については、乳剤を作製して培養細胞への接種によるウイルス分離を実施したが、これまでのところコロナウイルスの分離には成功していない。

### 研究打ち合わせ・進捗報告会・成果発表の実施状況

- ・2022年5月10日：研究打ち合わせ (Zoom)
- ・2022年5月29-30日：研究打ち合わせ、およびコウモリの生態調査 (高縄山)
- ・2022年6月28-29日：四国内の博物館等3団体の学芸員を今治キャンパスに招いて、コウモリの生態調査について研究打ち合わせ
- ・2022年11月28日：OUSフォーラム (岡山) にて成果発表
- ・2023年4月-10月 (毎月1回)：高縄山における調査
- ・2023年6月16日：広島県における生態調査 (予備調査)
- ・2023年6月24-25日：四国自然史科学研究センター シンポジウム「四国の自然はいま2023」 (高知大学) にて成果発表
- ・2023年7月-9月 (毎月1回)：天狗高原における調査
- ・2023年8月10-11日：石鎚山地における調査
- ・2023年8月15-16日：横倉山における調査
- ・2023年11月10日：愛媛県内子町近郊における生態調査 (予備調査)
- ・2023年11月27日：OUSフォーラム (岡山) にて成果発表予定