

2022 年度Ⅱ期 グループ企画

番号	氏名	渡航先	国・地域	渡航先での受入期間
1_1	H・H	マヒドン大学医学部	タイ	2022/10/27~11/10
1_2	S・K			
2_1	Y・G	マヒドン大学医学部	タイ	2023/3/15~3/20
2_2	S・Y			
2_3	M・M			
2_4	T・M			
2_5	K・H			

# 令和4年度岸本国際交流奨学金による海外活動実施報告書

学籍番号：\*\*\*\*\*

医学部医学科3年

氏名：H・H

渡航先国：タイ

受入機関名：マヒドン大学

渡航先機関での受入期間：

令和4年10月27日～令和4年11月10日（15日間）

## 1. 概要

本実習ではタイのマヒドン大学熱帯病学部の協力のもと、タイとミャンマーの国境近くにあるメソットという地域に赴き、マラリアについての研究やメソットで行われている臨床医療を見学した。

## 2. スケジュール

10月30日 大学のバンに乗り、メソットへ移動

10月31日 クリニックの見学

11月1日 ターソーンヤーン病院の見学

11月2日 蚊の生活環の研究、血液サンプルの採取現場の観察

11月3日 現地散策

## 3. 活動内容

### ・クリニックの見学

メソットにはマラリア専用のクリニックがいくつかあり、熱が出た住民はマラリアか否かを診断するためにそのクリニックを訪れている。初日はこのクリニックをまわって見学し

た。

#### ・ターソーンヤーン病院の見学

メソット中心部にあるターソーンヤーン病院を見学した。ターソーンヤーン病院はベッドが 80 床以上ある病院で周辺地域では最大規模とのことであった。また、メソットはタイとミャンマーの国境沿いに位置しており、ミャンマーからの難民が住むメラ難民キャンプも近くに位置している。そのため病院を訪れる患者はタイ人だけではなく、ミャンマー人もいるとのことであった。マラリアやデング熱等の熱帯感染症はもちろんのこと、難民に対する治療という国境地域特有の医療事情や、インフラ設備の不十分な環境での医療現場など、日本ではなかなか目にしない医療を見ることができた。

#### ・蚊の生活環の研究

メソットでハマダラ蚊の生活環について研究している方のフィールドワークに同行させていただいた。本研究では水を張ったトレーにハマダラ蚊の卵を産ませ、ネットで蓋をしたものを、異なる環境下に放置し、幼虫の発育具合を比較しているとのことであった。この日は田んぼ近くの水がきれいな場所、森林の中の比較的涼しい場所、住居が並ぶ水の汚い場所の 3 つの環境を回り、幼虫の発育具合を観察した。結果として、田んぼ近くの水がきれいな場所で最も発育が進んでおり、住居がならぶ水の汚い場所の発育が最も遅いことが分かった。

#### ・血液サンプルの採取現場の見学

私達が同行したマヒドン大学の研究チームは、定期的にメソットの村を回り、住民から血液サンプルを回収している。これにより、デング熱の罹患率や血液細胞の変化について観察を行っているとのことであった。私達も実際に血液サンプルを集める現場に同行し、その様子を見学させていただいた。

## 得られた成果

メソットでの研修によって得られた成果は大きく2つである。1つ目は熱帯病の研究、および臨床医療に触れられたことである。メソットではいまだにマラリアやデング熱の患者が一定数おり、医療における一つの課題となっている。そのため、熱帯病の研究も盛んであり、血液サンプルの採取等に協力する住民も多い。また病院もデング熱やマラリア患者を減少させるため様々な取り組みを行っていた。村の中にグッピーを増やすことで蚊を減らしたり、マラリアクリニックを設立したり等、興味深い取り組みをいくつも教えていただいた。日本では熱帯病がなかなか身近でないため、その危険性がどの程度のものなのか、どのような政策が有効なのか、あまり分かっていなかったが、本研修を経て熱帯病に対する正しい知見を深められたと思う。

2つ目の成果として、国境地域の医療について知ることができた。ターソーンヤーン病院の病院長に国境医療について教えていただき、国境医療について様々な学びを得ることができた。日本は島国であり難民もあまりいない国であるから、国境地域の医療と聞いても、それがどのようなもので、どのような課題を持つのか、これまでは想像もつかなかった。タイ国籍を持たないため保険も適用されない難民患者に対しても病院がサポートをし、ほぼボランティアで医療を提供しているという病院長の話には非常に驚かされた。

いずれにおいても、日本とはかけ離れた環境での医療を自分の目で見ること、これまで気にも留めなかった観点から医療を見つめられるようになり、将来医療に携わるうえでの視野を大きく広げることが出来、自分の将来にとって非常に有意義な研修であった。



## 海外における実習報告書

大阪大学医学部医学科 3 回生 S・K \*\*\*\*\*

### ①主な行程

10/26 日本出国  
10/26-10/29 マヒドン大学熱帯病学部において研修  
10/30 タイ北部ターンソーンヤン地区への移動  
10/31 現地のマラリアクリニックへの視察、研修  
11/1 ターンソーンヤン病院の視察、病院長との会食  
11/2 現地で蚊の生活環の観察、村での疫学調査  
11/3 バンコクへ帰還  
11/4 -11/10 マヒドン大学熱帯病学部において研修  
11/11 日本帰国

### ②期間中の主な研究内容

#### 1 背景

デングウイルスは、熱帯地方を中心に広く知られている風土病で、年間約 4 億人が感染している。シマダヒヨドリとシマダヒヨドリによって感染する感染症である。デング熱の主な症状は、発熱、頭痛、筋肉痛、関節痛、そして麻疹に似た特徴的な皮膚病である。しかし、デング熱の治療には有効な薬剤がない。治療は対症療法が中心となり、重症度によっては集中治療が必要となる。NSAIDs はデング熱による出血症状を増強する可能性があるため、解熱剤としてアセトアミノフェンが使用される。デング熱自体は 1779 年から記録されており、第二次世界大戦後、世界中に広がっています。その主な原因は、急速な都市化や地球温暖化、国際化による人の往来が増えたことなどが、感染拡大の一因と考えられています。デング熱の発症率は 1960 年から 2010 年にかけて 30 倍に増加した。デング熱の発症率は、1960 年から 2010 年の間に 30 倍に増加しました。日本では大きな集団感染は起きていませんが、輸入感染例が数例報告されています。1970 年代、デングウイルス 1 型と 2 型は中米とアフリカに、4 つの血清型は東南アジアに存在した。1970 年代には、デングウイルス 1 型と 2 型が中米とアフリカに存在していました。しかし、2004 年には、4 つの血清型の地理的分布が大きく広がりました。現在では、すべての血清型が世界の熱帯・亜熱帯地域で一緒に循環しています。病気の原因となるデングウイルスは、日本脳炎ウイルスと同じフラビウイルス科に属する一本鎖 RNA ウイルスで、4 つの血清型（1 型、2 型、3 型、4 型）に分類され

ることが知られています。例えば、1型に感染した場合、1型に対しては終生免疫がありますが、他の血清型に対する交差防御免疫は数ヶ月で消失し、その後、他の型に感染する可能性があります。この2回目の感染時に重症化する可能性が高くなると言われている。デングウイルスゲノムは約11kbの塩基からなり、ウイルス粒子状の構造に必要な3つの構造タンパク質分子（C、prM、E）と、感染宿主細胞でのみ発現しウイルス複製に関わる7つの非構造タンパク質（NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B、NS5）がコードされています。（図1）

デングウイルスのエンベロープを遺伝子解析することで、どの血清型や遺伝子型に当てはまるのか、現在どのようなタイプのデングウイルスが流行しているのか、どのようなサイクルで循環しているのかを把握することができるようになる。また、ウイルスの全ゲノム解析により、ウイルスの進化、疾病リスク、宿主反応に影響を与える重要な変異を特定できるかもしれません。今回の基礎医学体験実習では、収集した検体から様々な実験手法を用いてウイルスを増殖させ、ゲノムを解読することを目標としました。

## 2 目的

シーケンスを活用して収集したデングウイルスのエンベロープ配列を知ることで、最終的にどのようなデングウイルスが流行しているのか、全ゲノム解析につなげます。

## 3 実験技術と手法

大まかな流れとしては、あらかじめ用意された感染者の血清を用いて、二つの流れに沿って行なった

(1) For env phylogenetic tree

envelope pcr⇒sanger sequence⇒Env phylogenetic tree

(2) For NGS sequences

virus isolation⇒RT-real-time PCR⇒NGS sequences

上記の行程はそれぞれのプロトコルに従って行われた

以下実験レポートを示す。

(1) Envelope PCR and sequencing

[ i ] Primary PCR using QIAGEN One-step RT-PCR

This allows amplification of the dengue virus since it is a single-stranded RNA virus that requires conversion of RNA to cDNA.

The composition of the reaction solution and reaction temperature are described below.

Component	Volume/reaction	Final concentration
RNase-free water	up 50.0 $\mu$ l	-

5 × QIAGEN One step RT-PCR Buffer	10 $\mu$ l	1 ×
dNTP Mix (containing 10mM of each dNTP)	2.0 $\mu$ l	400 $\mu$ M of each dNTP
20 $\mu$ M forward primer	1.5 $\mu$ l	0.6 $\mu$ M
20 $\mu$ M reverse primer	1.5 $\mu$ l	0.6 $\mu$ M
QIAGEN One step RT-PCR Enzyme Mix	2.0 $\mu$ l	-
Template RNA	5 $\mu$ l	-
Total volume	50 $\mu$ l	-

#### Primer

DENV-1		Product size 2.3 kb
Forward primer	DV1-517F	CTCAGCAGGYGTCAACATG
Reverse primer	DV1-2874R	CCATARTCCTCAACTTCCCAAA
DENV-2		Product size 1.8 kb
Forward primer	DV2-618F	ACCAGAAGACATAGATTGTTGGTGC
Reverse primer	d2a18 (2474R)	CCACTGCCACATTTTCAGTTC

The reaction was carried out under the following conditions

↓

	Time	Temperature
Reverse transcription	30 min	50° C
Initial PCR activation step	15 min	95° C
3-step cycling		
Denaturation	30 sec	94° C
Annealing	1 min	55° C
Extension	2 min 20 sec	72° C
Number of cycles	35	
Final extension	10 min	72° C
hold		16 ° C

The PCR product was then load to 1% agarose gel (staining with 1x gel red) and run for electrophoresis in TAE buffer at 100 voltage for 40 min to check for the amplified PCR product (the result were shown in Figure 2 lane 1-7).

To increase the amplified PCR product of previous One step RT-PCR (primary PCR), the primary PCR product was amplified with another set of primer using DNA polymerase (secondary PCR).

[ii] Secondary PCR using Prime STAR GXL DNA Polymerase

Component	Volume/reaction	Final conc
5 × PrimeSTAR GXL Buffer	10 $\mu$ l	1x
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 $\mu$ l	200 $\mu$ M each
Forward primer	1 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
Reverse primer	1 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
Template	2 $\mu$ l	
PrimeSTAR GXL DNA Polymerase	1 $\mu$ l	1.25 U
Sterile distilled water	to 50 $\mu$ l	

**Primer**

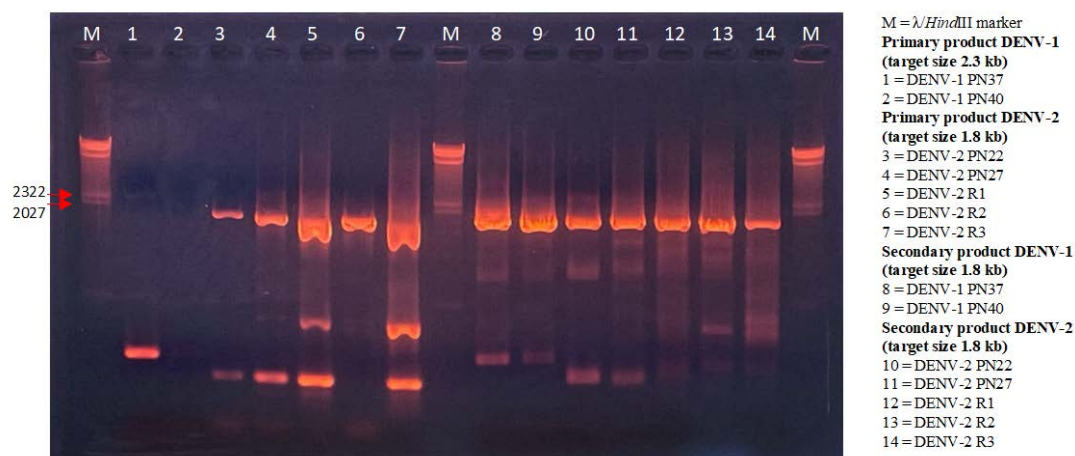
DENV-1		Product size 1.8 kb
Forward primer	d1s3 (704F)	AAACGTTCCGTSGCACTGGC
Reverse primer	d1a17 (2559R)	CCRATGGCYGCTGAYAGTCT
DENV-2		Product size 1.8 kb
Forward primer	DV2-618F	ACCAGAAGACATAGATTGTTGGTGC
Reverse primer	DV2-2465R	CATTTCAGTTCTTTRTTYTTCCAGC

**PCR condition**

	Time	Temperature
Initial PCR activation step	1 min	94° C
3-step cycling		
Denaturation	10 sec	98° C
Annealing	15 sec	55° C
Extension	1 min/kb	68° C
Number of cycles	30	
Final extension	5 min	68° C
hold		16° C

The PCR product was then load to 1% agarose gel (staining with 1x gel red) and run for electrophoresis in TAE buffer at 100 voltage for 40 min to check for the amplified PCR product (the result were shown in Figure 1 lane 8-14).

**Figure 2** Amplified product of primary and secondary PCR



### [iii] PCR clean up and Gel extraction using Nucleospin

To purify the amplified product, after PCR band visualization the product contained single band of the target were processed for PCR clean up whereas the product contained multiple bands were performed gel extraction.

①	PCR clean up	Gel extraction
Add lysis buffer	200 $\mu$ L NTI/100 $\mu$ L PCR	200 $\mu$ L NTI/100 mg gel

↓

② Bind DNA	11000 $\times$ g 30s
③ Wash silica membrane	700 $\mu$ L NT3, 11000 $\times$ g 30 s 2nd wash 700 $\mu$ L NT3, 11000 $\times$ g 30 s
④ Dry silica membrane	11000 $\times$ g 1 min
⑤ Elute DNA	15-30 $\mu$ l distilled water, RT 1min, 11000 $\times$ g 1min

### [iv] Sequencing reaction preparation using Bigdye terminator sequencing kit

Sanger sequencing is a method of synthesizing DNA fragments whose ends correspond to specific bases using DNA polymerase, a DNA replication enzyme. Currently, the dideoxynucleosides method, which uses dideoxynucleosides labeled with four different fluorescent dyes in the elongation reaction, is the mainstream method.

The DNA sequence can be determined by using a capillary electrophoresis system to detect the type of fluorescent dye and the length of DNA fragments randomly incorporated in the elongation reaction from a single primer that binds specifically to the template DNA.

### Mastermix

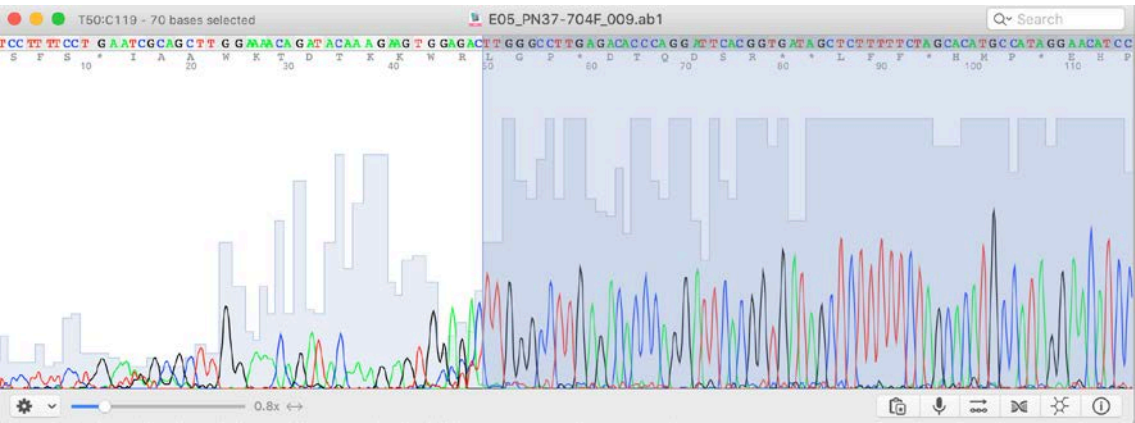
Component	volume/reaction
BigDye® Terminator v3.1 Ready Reaction Mix	2 $\mu$ L
Sequencing buffer	1 $\mu$ L
1 pmol primer	1.6 $\mu$ L
DW	3.4 $\mu$ L
DNA	2 $\mu$ L
total	10 $\mu$ L

Sequencing primer

DENV-1	Position	Sequence
d1s3	704F	AAACGTTCCGTSGCACTGGC
d1s4	1204F	TGTGTGTCTCGMCGAACGTT
d1s5	1709F	GCAATGCAYACTGCGTTG
d1a17	2559R	CCRATGGCYGCTGAYAGTCT
DENV-2	Position	Sequence
DV2-865Fx	865	ACCATAGGRACRACAYATTTCC
DV2-1222F	1222	ATGGTAGAYAGAGGATGGG
DV2-1577F	1577	TAGACCTGCCATTACCATG
DV2-2037F	2037	AGAAGCAGAACCYCCATTYG

Result

The read result was generated in chromatogram showing of 4 colors represent nucleotide (Figure). The readable nucleotide region of each primer was selected shown in the table below.



1) Sample PN37

PN37	TTGGGCCTTGAGACACCCAGGATTACGGTGATAGCTCTTTTCTAGCACATGCCATAGGAACATCCATCACCCAGAAAGGG
(DENV-1)	ATTATCTTCATTCTGTTAATGCTGGTAACACCATCCATGGTCATGCGATGCGTGGGAATAGGCAGCAGGGACTTCGTGGAA
704F	GGACTGTCAGGAGCAACTTGGGTAGATGTGGTACTGGAACATGGAAGTTGCGTCACCACCATGGCAAAAGACAAACCAACA
	CTGGACATTGAACTCTTGAAGACGGAAGTCAAAAACCTGCCGTCCTGCGCAAACTGTGCATTGAAGCCAAAATATCAAACA

	<p>CCACCACCGACTCAAGATGTCCAACACAAGGAGAAGCCACACTAGTGGAAAGAACAAGACGCGAACTTTGTGTGTCGTCGAAC</p> <p>GTTTGTGGACAGAGGCTGGGGCAATGGCTGTGGGCTCTTCGGAAAAAGGAAGCCTAATAACGTGTGCTAAGTTCAAGTGTG</p> <p>TGACAAAACCTGGAAGGAAAGATAGTTCAATATGAGAACTTGAAATATTCAGTAATAGTCACCGTTCACACCGGAGATCAGCA</p> <p>CCAAGTGGGAAATGAAAGTACAGAACATGGGACAACTGCAACTATAACACCTCAAGCTCCTACGACGGAATACAGCTGACC</p> <p>GACTACGGAGCTCTTACATTGGATTGCTCACCTAGAACAGGACTAGACTTTAATGAAATGGTGTGCTGACAATGAAAGAAA</p> <p>AATCATGGTTAGTCCACAAACAATGATTTTAGACCTACCCTGCCTTGGACCTCGGGAGCTTCAACATCAGAGAACTTGG</p> <p>TAACAGACCAGGATCTGGCTTGATGACAATTAGACGCTCAATGCAAGGAGCCAAGAGGTTAGTTCCGGTGTCTTAAGGGA</p>
<p>PN37</p> <p>(DENV-1)</p> <p>1204F</p>	<p>TGGGGTAAAAGGAAAGCCTAATAACGTGTGCTAAGTTCAAGTGTGTGACAAAACCTGGAAGGAAAGATAGTTCAATATGAGA</p> <p>ACTTGAAATATTCAGTAATAGTCACCGTTCACACCGGAGATCAGCACCAAGTGGGAAATGAAAGTACAGAACATGGGACAAC</p> <p>TGCAACTATAACATCTCAAGCTCCTACGACGGAAATACAGCTGACCGACTACGGAGCTCTTACATTGGATTGCTCACCTAGA</p> <p>ACAGGACTAGACTTTAATGAAATGGTGTGCTGACAATGAAAGAAAAATCATGGTTAGTCCACAAACAATGGTTTTTAGACC</p> <p>TACCACTGCCTTGGACCTCGGGAGCTTCAACATCAGAGGAGACTTGGAACAGACAAGATCTGCTGGTGACATTTAAGACAG</p> <p>CTCATGCAAAGAAGCAGGAAGTAGTCGTGCTAGGATCACAAGAAGGAGCAATGCACACTGCGTTGACCGGAGCGACAGAAA</p> <p>TTCAAACGTCTGGAACGACAACAATTTTGCAGGACACTTGAAATGCAGACTAAAGATGGACAAACTGACTCTAAAAGGGAT</p> <p>GTCATATGTGATGTGCACAGGCTCATTCAAGCTAGAGAAAGAATTGGCTGAGACCCAGCATGGAACCGTTCTAGTGCAGAT</p> <p>TAAATACGAAGGAACAGATGCACCATGCAAGATCCCCTTTTCGACCCAAGATGAAAAAGGAGTAACCCAGAATGGGAGATTG</p> <p>ATAACAGCTAACCCCATAGTTACTGACAAAGAAAAACCAGTCAACATTGAGGCAGACCGCCCTTTGGTGAGAGTTACATCGT</p> <p>AATAGGAGCAGTGAAGGCTTTGAACTAAGCTGCTCAGAAGAGCAGCATAGGGAAATGTTTGAGCACTGCAGAGAGCACG</p> <p>AGATGGCCTATACTGGGAGAACCCGGCATGACTTAGTTCCTAGAGGAGTGTTACAGCTCTGTTTGGGA</p>
<p>PN37</p> <p>(DENV-1)</p> <p>1709F</p>	<p>GAAAACCTTCTCATAAAAGGGGATGTATATGTGATGTGCACAGGCTCATTCAAGCTAGAGAAAGAATTGGCTGAGACCCA</p> <p>GCATGGAACCGTTCTAGTGCAGATTAAATACGAAGGAACAGATGCACCATGCAAGATCCCCTTTTCGACCCAAGATGAAAAA</p> <p>GGAGTAACCCAGAATGGGAGATTGATAACAGCTAACCCCATAGTTACTGACAAAGAAAAACCAGTCAACATTGAGGCAGAAC</p> <p>CGCCCTTTGGTGAGAGTTACATCGTAATAGGAGCAGGTGAAAAAGCTTTGAACTAAGCTGGTTCAAGAAAGGAAGCAGCA</p> <p>TAGGGAAAAATGTTTGAGGCAACTGCCAGAGGAGCACGAAGGATGGCTATACTGGGAGACACCGCATGGGACTTTGGTTCCA</p> <p>TAGGAGGAGTGTTACGCTCTGTTGGAAAAATTATTACACCAGATTTTGGAACTGCATATGGAGTTTTGTTACGCGGTGTTT</p> <p>CCTGGACCATGAAAAATAGGAATAGGGGTTCTGCTGACATGGCTGGGACTAAACTCAAGGAGCAGCTCCCTTTTCGATGACGT</p> <p>GCATTGCAGTTGGCCTAGTAACACTATACCTAGGAGTCATGGTTTCACGCGGATTGAGGATGTGTAATAAATTGGAAAAGG</p> <p>TAGAGAACTCAAATGTGGAAGTGGCATTTTTGTCACTAATGAAGTTCACACTTTGACAGAGCAATACAAATTTAGCTGACT</p> <p>CCCAAAGAGACTATAGCCCGACCTCATCTCGGAA</p>
<p>PN37</p> <p>(DENV-1)</p> <p>2559R</p>	<p>TCCACATGGTTTTTTATGACTTACCATGCCTTGGACTCGAGCTCCACCATCACAGGAGACCTGAACCAGACAGATCTGCTGTG</p> <p>ACATTAAGACAGCTCATGCAAAGAAGGCAGGAAGTAGTCGTGCTAGGATCACAAGAAGGAGCAATGCACACTGCGTTGACC</p> <p>GGAGCGACAGAAATTCAAACGTCTGGAACGACAACAATTTTGCAGGACACTTGAAATGCAGACTAAAGATGGACAAACTGA</p> <p>CTCTAAAAGGGATGTATATGTGATGTGCACAGGCTCATTCAAGCTAGAGAAAGAATTGGCTGAGACCCAGCATGGAACCG</p> <p>TTCTAGTGCAGATTAAATACGAAGGAACAGATGCACCATGCAAGATCCCCTTTTCGACCCAAGATGAAAAAGGAGTAACCCA</p> <p>GAATGGGAGATTGATAACAGCTAACCCCATAGTTACTGACAAAGAAAAACCAGTCAACATTGAGGCAGAACCGCCCTTTGGT</p> <p>GAGAGTTACATCGTAATAGGAGCAGGTGAAAAAGCTTTGAACTAAGCTGGTTCAAGAAAGGAAGCAGCATAGGGAAAAATG</p>

	TTTGAGGCAACTGCCAGAGGAGCACGAAGGATGGCTATACTGGGAGACACCGCATGGGACTTTGGTTCCATAGGAGGAGT GTTACGCTGTGTGGAAAATTAGTACACCAGATTTTGGAACTGCATATGGAGTTTGTTCAGCGGTGTTTCCTGGACCAT GAAAATAGGAATAGGGGTTCTGCTGACATGGCTGGGACTAAACTCAAGGAGCACGTCCTTTTCGATGACGTGCATTGCAGT TGGCCTAGTAACACTATACCTAGGAGTCATGGTTCAGGCGGATTCAGGATGTGTAATAAATTGGAAAGGTAGAGAACTCAA ATGTGGAAGTGGCATTTTTGTCTCTAATGAAGTCACACTGGGCGAGCAACCACTTCGCTGTCTAAATTATTAATAATTATAT ATTATCC
--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

The above results were assembled using Aliview. Finally, the envelope sequence of PN37 was obtained with 1485 bp length shown in Fasta format below

>PN37 (DENV-1) envelope 1485 bp

```

ATGCGATGCGTGGGAATAGGCAGCAGGGACTTCGTGGAAGGACTGTCAGGAGCAACTTGGGTAGATGTGGTACTGGAACATGGAAGTTGCGTCA
CCACCATGGCAAAAGACAAACCAACTGGACATTGAACTCTTGAAGACGGAAGTCACAAACCCTGCCGTCCTGCGCAAACTGTGCATTGAAGCCA
AAATATCAAACACCACCACCGACTCAAGATGTCCAACACAAGGAGAAGCCACACTAGTGAAGAACAAGACGCGAACTTTGTGTGTCGTCGAACGT
TTGTGGACAGAGGCTGGGGCAATGGCTGTGGCTCTTCGGAAGGAAGCCTAATAACGTGTGCTAAGTTCAAGTGTGTGACAAAACCTGGAAGG
AAAGATAGTTCAATATGAGAACTTGAATATTAGTAATAGTCACCGTTTACACCGGAGATCAGCACCAAGTGGGAAATGAAAGTACAGAACATGG
GACAACTGCAACTATAACACCTCAAGCTCCTACGACGGAATACAGCTGACCGACTACGGAGCTCTTACATTGGATTGCTCACCTAGAACAGGACT
AGACTTTAATGAAATGGTGTGTGCTGACAATGAAAGAAAAATCATGGTTAGTCCACAAACAATGGTTTTTAGACCTACCACTGCCTTGGACCTCGG
GAGCTTCAACATCACAGGAGACTTGGAACAGACAAGATCTGCTGGTGACATTTAAGACAGCTCATGCAAAGAAGCAGGAAGTAGTCGTGCTAGGA
TCACAAGAAGGAGCAATGCACACTGCGTTGACCGGAGCGACAGAAATTCAAACGTCTGGAACGACAACAATTTTGCAGGACACTTGAAATGCAG
ACTAAAGATGGACAACTGACTCTAAAGGGATGTCATATGTGATGTGCACAGGCTCATTCAAGCTAGAGAAAGAATTGGCTGAGACCCAGCATG
GAACCGTTCTAGTGCAGATTAAATACGAAGGAACAGATGCACCATGCAAGATCCCCCTTTTCGACCCAAGATGAAAAAGGAGTAACCCAGAATGGG
AGATTGATAACAGCTAACCCCATAGTTACTGACAAAGAAAAACCAGTCAACATTGAGGCAGAACCGCCCTTTGGTGAGAGTTACATCGTAATAGGA
GCAGGTGAAAAAGCTTTGAAACTAAGCTGGTTCAAGAAAGGAAGCAGCATAGGGAAAAATGTTTGAGGCAACTGCCAGAGGAGCACGAAGGATGG
CTATACTGGGAGACACCGCATGGGACTTTGGTTCCATAGGAGGAGTGTTACGCTCTGTGGAAAATTAGTACACCAGATTTTGGAACTGCATAT
GGAGTTTTGTTTCAGCGGTGTTTCCTGGACCATGAAAATAGGAATAGGGGTTCTGCTGACATGGCTGGGACTAAACTCAAGGAGCACGTCCTTT
CGATGACGTGCATTGCAGTTGGCCTAGTAACACTATACCTAGGAGTCATGGTTCAGGCG

```

By examining the above results using NCBI BLAST, the nucleotide sequence can be searched against the database as a query sequence to determine the related sequences.



RID: MYR2PNCC013  
 Job Title:DV1-PN37-env1485bp  
 Program: BLASTN  
 Query: DV1-PN37-env1485bp ID: lcl|Query\_13121(dna) Length: 1485  
 Database: nt Nucleotide collection (nt)

Sequences producing significant alignments:

Max	Total Query	E	Per.	Acc.		Scientific	Common
Description						Name	Name
Taxid	Score	Score	cover	Value	Ident	Len	Accession
Dengue virus type I isolate D1/China/GDfs/D17078/2017	2726	2726	100%	0.0	99.80	1485	MG738066.1
Dengue virus 1 03-HD-009 gene for polyprotein, complete cds	2715	2715	100%	0.0	99.66	10179	LC428061.1
Dengue virus type I isolate Vietnam 2014 envelope protein gene...	2710	2710	100%	0.0	99.60	1485	KT825033.1
Dengue virus 1 isolate DENV-1/VN/09DX687/2011 envelope protein...	2710	2710	100%	0.0	99.60	1491	JX093687.1
Dengue virus 1 isolate NewCaledonia-2013-113141329_18438...	2699	2699	100%	0.0	99.46	1526	MZ618894.1

## 2) sample PN40

PN40 (DENV-1) 704F	TTGGGCCTTGAGACACCCAGGATTCACGGTGATGGCTCTTTTTCTAGCACATGCCATAGGAACATCCATCACCCAGAAAGG GATTATTTTCATTTTGTTAATGCTGGTAACACCATCCATGGCCATGCGATGCGTGGGAATAGGCAGCAGGGACTTCGTGGA AGGACTGTCAGGAGCAACTTGGGTAGATGTGGTACTGGAACATGGAAGCTGCGTCACCACCATGGCAAAAAGACAAACCAAC ATTGGACATTGAACTCTTGAAGACGGAAGTCACAGACCTGCTGTCTCGCGAAACTGTGCATTGAAGCTAAAATATCAAAC ACCACCACCGACTCAAGATGTCCAACACAAGGAGAAGCCACACTAGTGGAAGAACAAGACGCGAACTTTGTGTGTCGACGAA CGTTTGTGGACAGAGGTTGGGGCAATGGCTGTGGGCTCTTCGGAAAAAGGAAGCCTAATAACGTGTGCCAAGTTCAAGTGT GTGACAAAACCTGGAAGGAAAGATAGTTCAATATGAGAACTTGAAATATTCAGTAATAGTCACCGTTTACACCGGAGACCAGC ACCAAGTGGGAAATGAAAGCACAGAACATGGGACAACCTGCAACTATAACACCTCAAGCTCCCACGACGGAAATACAGCTGAC TGACTACGGAGCTCTTACATTGGATTGTTACCTAGAACAGGACTAGACTTCAATGAAATGGTGTGTTGACAATGAAAGAA AAATCATGGCTAGTCCACAAAACAATGCTTTTAGACTTACCCTGCCTTGACCTCGGGAAGCTTCACATCACAAGAGACCTG CAACAGAACAAAGATTCTGCTGGTGTACTTAGAACCGGCTCCCTGACTAAGAAAGCCAGTA
PN40 (DENV-1) 1204F	TCGGGCAAAAGGAAGCCTAATAACGTGTGCCAAGTTCAAGTGTGTGACAAAACCTGGAAGGAAAGATAGTTCAATATGAGAA CTTGAAATATTCAGTAATAGTCACCGTTTACACCGGAGACCAGCACCAAGTGGGAAATGAAAGCACAGAACATGGGACAAC GCAACTATAACACCTCAAGCTCCCACGACGGAAATACAGCTGACTGACTACGGAGCTCTTACATTGGATTGTTACCTAGAA CAGGACTAGACTTCAATGAAATGGTGTGTTGACAATGAAAGAAAAATCATGGCTAGTCCACAAAACAATGGTTTTTAGACTT ACCACTGCCTTGGACCTCGGGAGCTTCAACATCACAAGAGACTTGGAACAGACAAGATCTGCTGGTGACATTTAAGACAGCT CACGCAAGAAGCAGGAAGTAGTCGTACTAGGATCGCAAGAAGGAGCAATGCACACTGCGTTGACCGGAGCGACAGAAATC CAAACGTCTGGAACGACAACAATTTTTGCAGGACACTTGAAATGCAGACTAAAGATGGACAAAACCTGACTCTAAAAGGGATGT CATATGTGATGTGCACAGGCTCATTCAAACCTAGAGAAAGAATTGGCTGAGACCCAGCATGGAAACCGTTTCTAGTGCAGATTA AATACGAAGGAACAGATGCACCATGCAAGATCCCTTTTTCGACCCAAGATGAAAAAGGAGTGACCCAGAATGGGAGATTGAT AACAGCTAACCCCATAGTTACTGACAAAGAAAAACAGTCAACATTGAAGCAGACCGCCCTTTGGTGAGGAGTACATCGTAA TAGAGCAGTGAAAAAGCTTGAACCTAAGCTGGTCAGAAAGGAGCAGCCATAGGGAATTTGTTGAAGCCACCTGCAGAGGAGC ACGGAGATGCCAAGCTGGGAGACCCCGCATGACTTGTCTAGGAGGAGTTCACGCCTCTGTTGA

PN40 (DENV-1) 1709F	ATGGCCCAGGGAACAACTTGAAAAACACAGACTAAAGATGGACAACTGACTCTTATTAGGGATGTCATATGTGATGTGCACA GGCTCATTCAAAGTAGAGAAAAGAAATTGGCTGAGACCCAGCATGGAACCGTTCTAGTGCAGATTAAATACGAAGGAACAGATG CACCATGCAAGATTCTTTTTTCGACCCAAGATGAAAAAGGAGTGACCCAGAATGGGAGATTGATAACAGCTAACCCCATAGT TACTGACAAAGAAAAACCAGTCAACATTGAAGCAGAACCGCCCTTTGGTGAGAGTTACATCGTAATAGGAGCAGGTGAAAAA GCTTTGAACTAAGCTGGTTCAAGAAAGGAAGCAGCATAGGGAAAAATGTTTGAGGCAACTGCCAGAGGAGCACGAAGGATG GCCATACTGGGAGACACCGCATGGGACTTTGGTTCTATAGGAGGAGTGTTACGCTCTGTTGGAAAATTAGTACACCAGATT TTTGAACTGCATATGGAGTTTGTTCAGCGGTGTTTCTGGACCATGAAAAATAGGAATAGGGGTCTGCTGACATGGCTG GGACTAACTCAAGGAGCACGTCCCTTTTCGATGACGTGCATTGCAGTTGGCCTAATAACACTATACTTAGGAGTCATGGTTT CAGGCGGATTCAAGGATGTGTAATAATTGGAAGGCTAGAGAACTCAAATGTGGAGTGGCATTGTGCACTATGAGTTCACAC TTGGACAGAGCATACAATTTAGCTGACTCCCAAAAAGACTATAGCGGGCCGCTCATCTGGAA
PN40 (DENV-1) 2559R	CACAGAAGGCGGGCGTTTCGGGAAGAAAAAAAATAATAATATTATAATTATGATGCTCGTCAGGTGACTTCATTAGCTGAC AAAAATGCCACTTCCACATTGAGTTCTCTACCTTTCCAATTTATTACACATCCTGAATCCGCCTGAACCATGACTCCTAAGT ATAGTGTTATTAGGCCAACTGCAATGCACGTCATCGAAAGGGACGTGCTCCTTGAGTTTAGTCCCAGCCATGTCAGCAGAA CCCCTATTCTATTTTCATGGTCCAGGAAACACCGCTGAACAAAACCTCCATATGCAGTTCCAAAAATCTGGTGTACTAATTT TCCAACAGACGTGAACACTCCTCCTATAGAACCAAAGTCCCATGCGGTGTCTCCCAGTATGGCCATCCTTCGTGCTCCTCTG GCAGTTGCCTCAAACATTTTCCCTATGCTGCTTCCTTTCTGAACCAGCTTAGTTTCAAAGCTTTTTCACCTGCTCCTATTA CGATGTAACCTCTACCAAAGGGCGGTTCGTCTCAATGTTGACTGGTTTTTCTATGTCAGTAACTATGGGGTTAGCTGTTA TCAATCTCCCATTCTGGGTCACTCCTTTTTCATCTTGGGTGCAAAAAGGGATCTTGTCATGGTGCATCTGTTCTTCGTATTT AATCTGCACTAGAACGGTTCATGCTGGGTCTCAGCCAATTCCTTCTCTAGTTTGAATGAGCCTGTGCACATCACATATGAC ATCCCTTTTAGAGTCAGTTTGTCCATCTTAGTCTGCATTTCAAGTGTCTGCAAAAATTGTTGTCTGTTCCAGACGTTTGGA TTTCTGTCTGCTCCGGTCAACGCAGTGTGCATTGCTCCTTCTTGCGATCCTAGTACGACTACTCTGCTTCTTTGCGTGAGCT GTCTTAATGGTCAACAGCAGATCTGTCTGTACCAGTCTCTTGTGATGGTGGAAGCTCCCGAGGTTCCCAAAAC

## >PN40 (DENV-1) envelope 1485 bp

ATGCGATGCGTGGGAATAGGCAGCAGGGACTTCGTGGAAGGACTGTCAGGAGCAACTTGGGTAGATGTGGTACTGGAACATGGAAGCTGCGTCA  
CCACCATGGCAAAAAGACAAACCAACATTGGACATTGAACTCTTGAAAGCAGGAAGTCACAGACCCTGCTGCTGCGCAAACTGTGCATTGAAGCTA  
AAATATCAAACACCACCACCGACTCAAGATGTCCAACACAAGGAGAAGCCACACTAGTGGAAGAACAAGACGCGAACTTTGTGTGTCGACGAACGT  
TTGTGGACAGAGGTTGGGGCAATGGCTGTGGGCTCTTCGAAAAAGGAAGCCTAATAACGTGTGCCAAGTTCAAGTGTGTGACAAAACTGGAAGG  
AAAGATAGTTCAATATGAGAACTTGAAATATTCAGTAATAGTCACCGTTTACACCCGAGACCAGCACCAAGTGGGAAATGAAAGCACAGAACATGG  
GACAACTGCAACTATAACACCTCAAGCTCCACGACGGAATACAGCTGACTGACTACGGAGCTCTTACATTGGATTGTTACCTAGAACAGGACT  
AGACTTCAATGAAATGGTGTGTTGACAATGAAAGAAAAATCATGGCTAGTCCACAAACAATGGTTTTTAGACTTACCACTGCCTTGGACCTCGG  
GAGCTTCAACATCACAAGAGACTTGGAACAGACAAGATCTGCTGGTGACATTTAAGACAGCTCACGCAAAAGAGCAGGAAGTAGTCGTACTAGGA  
TCGCAAGAAGGAGCAATGCACACTGCGTTGACCGGAGCGACAGAAATCCAAACGTCTGGAACGACAAACAATTTTGCAGGACACTTGAAATGCAG  
ACTAAAGATGGACAACTGACTCTAAAGGGATGTCATATGTGATGTGCACAGGCTCATTCAAAGTAGAGAAAGAATTGGCTGAGACCCAGCATG  
GAACCGTTCTAGTGCAGATTAAATACGAAGGAACAGATGCACCATGCAAGATCCCTTTTCGACCCAAGATGAAAAAGGAGTGACCCAGAATGGG  
AGATTGATAACAGCTAACCCCATAGTTACTGACATAGAAAAACCAGTCAACATTGAAGCAGAACCGCCCTTTGGTGAGAGTTACATCGTAATAGGA

GCAGGTGAAAAAGCTTTGAAACTAAGCTGGTTCAAGAAAGGAAGCAGCATAGGGAAAAATGTTTGAGGCAACTGCCAGAGGAGCACGAAGGATGG  
CCATACTGGGAGACACCGCATGGGACTTTGGTTCTATAGGAGGAGTGTTACAGTCTGTTGGAAAAATTAGTACACCAGATTTTTGGAATGCATAT  
GGAGTTTTGTTTCAGCGGTGTTTCTGGACCATGAAAAAGGAATAGGGGTTCTGCTGACATGGCTGGGACTAAACTCAAGGAGCACGTCCTTT  
CGATGACGTGCATTGCAGTTGGCCTAATAACACTATACTTAGGAGTCATGGTTC

RID: N03S9CW01N									
Job Title:DV1-PN40-env1485bp									
Program: BLASTN									
Query: DV1-PN40-env1485bp ID: lcl Query_381485(dna) Length: 1485									
Database: nt Nucleotide collection (nt)									
Sequences producing significant alignments:									
Max	Total	Query	E	Per.	Acc.			Scientific	Common
Description								Name	Name
Taxid	Score	Score	cover	Value	Ident	Len	Accession		
Dengue virus 1 isolate 56DX-601 polyprotein, envelope protein ...	2737	2737	100%	0.0	99.93	1485	OP090344.1	dengue virus...	NA
Dengue virus type I isolate 385-44DX3-172-P0-C1 polyprotein...	2721	2721	100%	0.0	99.73	10176	MN912130.1	dengue virus...	NA
Dengue virus type I strain D1/Vietnam/1511bTw envelope...	2704	2704	100%	0.0	99.53	1485	MG894893.1	dengue virus...	NA
Dengue virus type I strain D1/Cambodia/1508aTw envelope...	2687	2687	100%	0.0	99.33	1485	MG894867.1	dengue virus...	NA
Dengue virus type I strain D1/Vietnam/1611eTw envelope...	2682	2682	100%	0.0	99.26	1485	MG894966.1	dengue virus...	NA
Dengue virus type I isolate D1/China/GDhz/D15349/2015(Vietnam)...	2676	2676	100%	0.0	99.19	10735	MG840558.1	dengue virus...	NA

3) PN27

PN27	GGAATTTCTCTTACTGACGCTGTCGCTCCTTCATGACAATGCGTTGTATAGGAATATCAAATAGAGACTTTGTGGAAGGGG
(DENV-2)	TTTCAGGAGGAAGCTGGGTTGACATAGTCTTGGAAACATGGAAGTTGTGTGACAACGATGGCGAAAAACAAACCAACATTGG
865Fx	ATTTTGAAC TGATAAAAAACAGAACCAACATCCCGCCACTTTAAGGAAGTATTGTATAGAGGCAAAGCTGACCAACACAAC
	AACAGCATCTCGCTGCCCAACACAAGGAGAACCTAGCCTGAATGAAGAACAGGACAAAAAGATTGTCTGCAAACTCCATG
	GTAGACAGAGGATGGGGAAATGGATGCGGACTATTTGGAAAGGGAGGTATCGTAACCTGTGCAATGTTACATGCAAAAAG
	AACATGGAAGGAAAAATCGTGCAACCAGAAAAATCTGGAGTACACCATTTGTGATAACACCTCACTCAGGGGAAGAGAATGCAG
	TCGGAAATGACACAGGAAAAATGGCAAGGAAATTAAGTGACACCTCAGAGCTCCATCACAGAAGCAGAACTAACAGGCTA
	TGGCACTGTTACGATGGAATGCTCTCCGAGAACGGGCTCGACTTCAATGAGATGGTGTGCTGCAATGGAAAAACAAGGC
	TTGGCTGGTGCACAGGCAATGGTTCTTAGACCTGCCGTTACCATGGCTGCCCGAGCAGACACAAAGGATCAAATTTGGAT
	ACAGAAAGGAGACATTGGTCACTTTCAAAAAATCCCCATGCAAAAGAAACAGGATGTTGTTGTTTAGGATCCCAAGAAGGGGC
	TATGCACACAGCACTCACAGGGGCCACGGAAATCCAGATGTCATCAGGGAACCTACTGTTTACAGGGACATCTAAATGCAGC
	TGAGATGACAACTACAGCTCAAAGGATGTCATATCATGTGTACAGGAGTCAAGCTGTGAGGCAATAGCGAAAACCAACATA
	A
PN27	GTCACATTGGTAGCCAGTATCGTACCTGTGCATGTTACATGCAAAAAGAACATGGAAGGAAAAATCGTGCAACCAAGAAAT
(DENV-2)	CTGGAGTACACCATTTGTGATAACACCTCACTCAGGGGAAGAGAATGCAGTCGGAAATGACACAGGAAAAATGGCAAGGAA
1222F	ATTAAGTGACACCTCAGAGCTCCATCACAGAAGCAGAACTAACAGGCTATGGCACTGTTACGATGGAATGCTCTCCGAGAA
	CGGGCCTCGACTTCAATGAGATGGTGTGCTGCAATGGAAAAACAAGGCTTGGCTGGTGCACAGGCAATGGTTCTTAGACC

	TGCCGTTACCATGGCTGCCCGGAGCAGACACACAAGGATCAAATTGGATACAGAAGGAGACATTGGTCACTTTCAAAAATCC CCATGCAAAGAAACAGGATGTTGTTGTTTTAGGATCCCAAGAAGGGGCTATGCACACAGCACTCACAGGGGCCACGGAAT CCAGATGTCATCAGGAACTTACTGTTACAGGACATCTTAAATGCAGGTTGAGAATGGACAACTACAGCTCAAAGGAATG TCATATTCCATGTGTACAGGAAAGTTCAAAGTTGTGAAGGAAATAGCAGAAACACAACATGGAACAATAGTTATCAGAGTAC AATATGAAGGGGACGGTTCTCCGTGCAAAATCCCCTTTGAAATAATGGATTGGAAAAAAACATGTCTTAGGTCGCTTGAT TACAGTCAACCAATTGTCACAGAAAAAGACAGCCAGTCAACATAGAAGCAGACCCTCCATTCGGAGACAGCTACATCATC ATAGGAGTAGAACCGGGGACACTGAGCTCAGCTGGGTTAAGAAAGGAGTTCTATTGGCCAATGTTTGAGAACACATGAGA GGAGCGAGAGATGCATTTAGTGACCAGCTGGGATTTGGACTCCTTGAGAGATGTTTAATTCTATAGGAAGGTCCTTTTC
PN27 (DENV-2) 1577Fx	CCAACCAGCACAAATTGGATACAGAAGGAGACATTGGTCACTTTCAAAAATCCCCATGCAAAGAAACAGGATGTTGTTGTTTT AGGATCCCAAGAAGGGGCTATGCACACAGCACTCACAGGGGCCACGGAATCCAGATGTCATCAGGAACTTACTGTTTACA GGACATCTTAAATGCAGGTTGAGAATGGACAACTACAGCTCAAAGGAATGTCATATTCCATGTGTACAGGAAAGTTCAAAG TTGTGAAGGAAATAGCAGAAACACAACATGGAACAATAGTTATCAGAGTACAATATGAAGGGGACGGTTCTCCGTGCAAAAT CCCCTTTGAAATAATGGATTGGAAAAAAACATGTCTTAGGTCGCTTGATTACAGTCAACCAATTGTCACAGAAAAAGAC AGCCAGTCAACATAGAAGCAGAACCTCCATTCGGAGACAGCTACATCATCATAGGAGTAGAACCGGGGACAACTGAAGCTCA GCTGGTTTAAGAAAGGAAGTTCTATTGGCCAATGTTTGAGACAACAATGAGAGGAGCGAAGAGAATGGCCATTTTAGGTG ACACAGCTTGGGATTTTGGATCCTTGGGAGGAGTGTTACATCTATAGGAAAGGCCCTCCACCAAGTCTTTGGAGCAATCT ATGGGGCTGCCTTCAGTGGGGTCTCATGGACTATGAAAATCCTCATAGGAGTTGTCATCATAGGATAGGAATGAATTCAC GCAGACCTCACTGTCTGTGTCAGTAGTATTGGTGGGAATCGTGACATTGTATCTGGGAGTTATGGTGCAGCTGATAGTGC TGCGTGTGAGCTGAAAACAAGAAACCTGAATGTGCAGTGGGCACCAACATCTAGTTTCTCTTCTCGGTAA
PN27 (DENV-2) 2037F	GCCTTTTCTAGGAGTAGAACGGAACTGAGCTCAGCTGGTTTAAGAAAGGAAGTTCTATTGGCCAATGTTTGAGACAACA ATGAGAGGAGCGAAGAGAATGGCCATTTTAGGTGACACAGCTTGGGATTTTGGATCCTTGGGAGGAGTGTTACATCTATA GGAAAGGCCCTCCACCAAGTCTTTGGAGCAATCTATGGGGTGCCTTCAGTGGGGTCTCATGGACTATGAAAATCCTCATA GGAGTTGTCATCACATGGATAGGAATGAATTCACGCAGCACCTCACTGTCTGTGTCAGTAGTATTGGTGGGAATCGTGACA TTGTATCTGGGAGTTATGGTGCAGGCTGATAGTGGTTGCGTTGTGAGTTGGAAAAACAAGAACTGAAATGTGGC

# >DV2-PN27-Envelope 1485bp

ATGCGTTGTATAGGAATATCAATAGAGACTTTGTGGAAGGGGTTTCAGGAGGAAGCTGGGTTGACATAGTCTTGGAACATGGAAGTTGTGTGA  
CAACGATGGCGAAAAACAAACCAACATTGGATTTTGAAGTATGATAAAAAACAGAGCCAAACATCCCGCCACTTTAAGGAAGTATTGTATAGAGGCAA  
AGCTGACCAACACAACAACAGCATCTCGCTGCCAACACAAGGAGAACCTAGCCTGAATGAAGAACAGGACAAAAGATTGTCTGCAAACTCCA  
TGGTAGACAGAGGATGGGGAAATGGATGCGGACTATTTGGAAGGGAGGTATCGTAACCTGTGCAATGTTACATGCAAAAAGAACATGGAAGG  
AAAAATCGTGCAACCAGAAAATCTGGAGTACACCATTTGTGATAACACCTCACTCAGGGGAAGAGAATGCAGTCGGAAATGACACAGGAAAACATG  
GCAAGGAAATTAAAGTGACACCTCAGAGCTCCATCACAGAAGCAGAACTAACAGGCTATGGCACTGTTACGATGGAATGCTCTCCGAGAACGGGC  
CTCGACTTCAATGAGATGGTGTGCTGCAAAATGAAAAACAAGGCTTGGCTGGTGCACAGGCAATGGTTCTTAGACCTGCCGTTACCATGGCTGCC  
CGGAGCAGACACACAAGGATCAAATTGGATACAGAAGGAGACATTGGTCACTTTCAAAAATCCCCATGCAAAGAAACAGGATGTTGTTGTTTTAG  
GATCCCAAGAAGGGGCTATGCACACAGCACTCACAGGGGCCACGGAATCCAGATGTCATCAGGAACTTACTGTTACAGGACATCTTAAATGC  
AGGTTGAGAATGGACAACTACAGCTCAAAGGAATGTCATATTCCATGTGTACAGGAAAGTTCAAAGTTGTGAAGGAAATAGCAGAAACACAACAT  
GGAACAATAGTTATCAGAGTACAATATGAAGGGGACGGTTCTCCGTGCAAAATCCCCTTTGAAATAATGGATTGGAAAAAAACATGTCTTAGG

TCGCTTGATTACAGTCAACCCAATTGTCACAGAAAAAGACAGCCCAGTCAACATAGAAGCAGAACCTCCATTTCGGAGACAGCTACATCATCATAGG  
AGTAGAACCGGGACAACTGAAGCTCAGCTGGTTTAAGAAAGGAAGTTCTATTGGCCAAATGTTTGAGACAACAATGAGAGGAGCGAAGAGAATGG  
CCATTTTAGGTGACACAGCTTGGGATTTTGGATCCTTGGGAGGAGTGTTCATCTATAGGAAAGGCCCTCCACCAAGTCTTTGGAGCAATCTAT  
GGGGCTGCCTTCAGTGGGGTCTCATGGACTATGAAATCCTCATAGGAGTTGTCATCACATGGATAGGAATGAATTCACGCAGCACCTCACTGTC  
TGTGTCACTAGTATTGGTGGGAATCGTGACATTGTATCTGGGAGTTATGGTGCAGGCT

RID: N07BZP6901N  
Job Title:DV2-PN27-Env1485bp  
Program: BLASTN  
Query: DV2-PN27-Env1485bp ID: lcl|Query\_7219(dna) Length: 1485  
Database: nt Nucleotide collection (nt)

Sequences producing significant alignments:

Max	Total Query	E	Per.	Acc.		Scientific	Common
Description						Name	Name
Taxid	Score	Score	cover	Value	Ident Len	Accession	
Dengue virus type 2 isolate 56DX-202 polyprotein, envelope...	2710	2710	100%	0.0	99.60 1485	OP458516.1	Dengue virus... NA
Dengue virus type 2 isolate BALI-TRV-019 envelope protein gene...	2687	2687	100%	0.0	99.33 1485	MH173164.1	Dengue virus... NA
Dengue virus type 2 isolate SG(EHI)D2/2803Y14, complete genome	2687	2687	100%	0.0	99.33 10723	MW512429.1	Dengue virus... NA
Dengue virus 2 strain D2/Indonesia/0805aTw envelope glycoprote...	2621	2621	100%	0.0	98.52 1485	JF967963.1	Dengue virus... NA
Dengue virus type 2 isolate D2/China/GDzh/D14003/2014, complet...	2604	2604	100%	0.0	98.32 10724	MH827525.1	Dengue virus... NA

4) PN22

PN22 (DENV-2) 865Fx	ACGTAATTCTCTACTGACAGCTGTCGCTCTTCATGACATGCGCTGCATAGGAATATCAAATAGAGACTTTGTAGAAGGGGTT TCAGGAGGAAGTTGGGTTGACATAGTCTTAGAACATGGAAGCTGTGTGACGACGATGGCAAAAAACAAACCAACATTGGAT TTCGAACTGATAAAACGGAAGCCAAACAGCCTGCCACCCTAAGGAAGTACTGCATAGAAGCAAACTAACCAACACAACAAC AGAATCCCGTTGCCCAACACAAGGGGAACCCAGCCTAAAAGAAGAGCAGGATAAGAGGTTTGTCTGCAAACTCCATGGTA GACAGAGGATGGGGAAATGGATGTGGATTATTTGGAAGGGAGGCATTGTGACCTGTGCTATGTTACATGCAAAAAGAAC ATGGAAGGGGAAATCGTGCAACCAGAAAATCGGAATACACCATTGTGGTGACACCTCACTCAGGGGAAGAATCGCGGTC GGAAATGACACAGGAAACACGGCATGGAAATCAAAGTAACACCACAGAGCTCCATCACAGAAGCAGAATTGACAGGTTATG GCACCGTCACGATGGAGTGTCTCCCGAGAACAGGCCTCGACTTCAATGAGATGGTGTACTGCAGATGGAAAAACAAAGCTT GGCTGGTGATAGGCAATGGTTTCTAGACCTGCCATTACCATGGCTGCCCGGAGCGGATAAACAAGAGTCAAACCTGGATAC AGAAAGAAACATTGGTCACTTTCAAAAATCCCCATGCGAAGAAACAGGATGTTGTTGTTTAGGATCCCAAGATGGGGCCAT GCATACAGCACTCACAGGAGCCACAAGAAATCCAATGTCGTGAGGAACCTGCTCTCACTGGACATCTCAGTGCAGCTGAGAT TGACAGCTACAGCTAAGGATGTCATACTCGATGTCCAAGCAAGTCAAGTGTGAGCAAAATAGCAGCAAC
PN22 (DENV-2) 1222F	GGTACTATTGCTTGGTAAGCATTGTGACCTGTGCTATGTTACATGCAAAAAGAACATGGAAGGGGAAATCGTGCAACCAG AAAACCTGGAATACACCATTGTGGTGACACCTCACTCAGGGGAAGAATGCGGTGCGAAATGACACAGGAAACACGGCAT GGAAATCAAAGTAACACCACAGAGCTCCATCACAGAAGCAGAATTGACAGGTTATGGCACCGTCACGATGGAGTGTCTCCCG AGAACAGGCCTCGACTTCAATGAGATGGTGTACTGCAGATGGAAAAACAAAGCTTGGCTGGTGATAGGCAATGGTTTCTA GACCTGCCATTACCATGGCTGCCCGGAGCGGATAAACAAGAGTCAAACCTGGATACAGAAAGAAACATTGGTCACTTTCAAAA

	ATCCCCATGCGAAGAAACAGGATGTTGTTGTTTTAGGATCCCAAGAAGGGGCCATGCATACAGCACTCACAGGAGCCACAG AAATCCAAATGTCGTCAGGAAACTTGCTCTTCACTGGACATCTCAAGTGCAGGCTGAGAATGGACAAGCTACAGCTTATAGG AATGTCATACTCTATGTGCACAGGAAAGTTTAAAGTTGTGAAGGAAATAGCAGAAACACAACATGGAACGATAGTTATCAGA GTGCAATATGAAGGGGACGGCTCTCCATGCAAAATCCCCTTTGAGATAATGGATTTGGAAAAAGATATGCCTTAGGCCGC CTGATCACAGTCAACCCAATTGTAACAGAAAAGGATAGCCAGTCAACATAGAAGCAGAACCCTCCATTGCGAGACAGCTAC ATCATCATAGGAGTAGAGCCGGGACAACCTGAAGCTCAACTGGGTTTAAGAAAGGAAGTTCTATCGGGCCAATGTTTGAGAC ACGATGAGAGGGGGCGAGAGATGGTCATTTTGGGTGAACACAGCCTGAAACTCCGAATCCTGCAAGGAGTGTTACACATT CCAATTAGGG
PN22 (DENV-2) 1577Fx	TCACAAATCCGAATTCAACCTGGAACAGAAAGAACATTGGTCACTTTCAAAATCCCCATGCGAAGAAACAGGATGTTGTTG TTTTAGGATCCCAAGAAGGGGCCATGCATACAGCACTCACAGGAGCCACAGAAATCCAAATGTCGTCAGGAAACTTGCTCTT CACTGGACATCTCAAGTGCAGGCTGAGAATGGACAAGCTACAGCTTAAAGGAATGTCATACTCTATGTGCACAGGAAAGTTT AAAGTTGTGAAGGAAATAGCAGAAACACAACATGGAACGATAGTTATCAGAGTGAATATGAAGGGGACGGCTCTCCATGC AAAATCCCCTTTGAGATAATGGATTTGGAAAAAGATATGCCTTAGGCCCGCTGATCACAGTCAACCCAATTGTAACAGAAA AGGATAGCCAGTCAACATAGAAGCAGAACCCTCCATTGCGAGACAGCTACATCATATAGGAGTAGAGCCGGGACAACCTGAA GCTCAACTGGTTTAAGAAAGGAAGTTCTATCGGCCAAATGTTTGAGACAACGATGAGAGGGGGCGAAGAGAATGGCCATTTT GGGTGACACAGCCTGGGACTTCGGATCCCTGGGAGGAGTGTTACATCCATAGGAAAAGCTCTCCACCAAGTCTTTGGAGC AATCTATGGAGCTGCCTTCAGTGGGGTTTCATGGACCATGAAAATCCTCATAGGAGTCATTATCACATGGATAGGAATGAAC TCACGCAGCACCTCACTGTCTGTGTCACTAGTACTGGTGGGAATTGTGACACTGTATTTGGGAGTCATGATGCAGGCCGAT AGTGGTTGCGTTGTGAGCTGGAAAAACAAGAAACACTCGGAGAAGTGGAA
PN22 (DENV-2) 2037F	TTTCTTCTTGGTATAGAGCGGGAAGTGAAGTCACTGGTTTAAGAAAGGAAGTTCTATCGGCCAAATGTTTGAGACAACGAT GAGAGGGGGCGAAGAGAATGGCCATTTTGGGTGACACAGCCTGGGACTTCGGATCCCTGGGAGGAGTGTTACATCCATAG GAAAAGCTCTCCACCAAGTCTTTGGAGCAATCTATGGAGCTGCCTTCAGTGGGGTTTCATGGACCATGAAAATCCTCATAG GAGTCATTATCACATGGATAGGAATGAACTCACGCAGCACCTCACTGTCTGTGTCACTAGTACTGGTGGGAATTGTGACAC TGTATTTGGGAGTCATGGTGCAGGCCGATAGTGGTTGCGTTGTGAGCTGGAAAAACAAAGAACTGAAATGA

### >DV2-PN22 envelope 1485 bp

ATGCGCTGCATAGGAATATCAATAGAGACTTTGTAGAAGGGGTTTCAGGAGGAAGTTGGGTTGACATAGTCTTAGAACATGGAAGCTGTGTGA  
CGACGATGGCAAAAAACAAACCAACATTGGATTTCGAACTGATAAAAAACGGAAGCCAAACAGCCTGCCACCCTAAGGAAGTACTGCATAGAAGCAA  
AACTAACCAACACAACAACAGAATCCCCTTGCCCAACACAAGGGGAACCCAGCCTAAAAGAAGAGCAGGATAAGAGTTTGTCTGCAAACTCCA  
TGGTAGACAGAGGATGGGGAAATGGATGTGGATTATTTGAAAGGGAGGCATTGTGACCTGTGCTATGTTACATGCAAAAAAGACATGGAAGG  
GAAAATCGTGCAACCAGAAAACCTTGAATACACCAATTGTGGTGACACCTCACTCAGGGGAAGAACATGCGGTGCGAAATGACACAGGAAAAACAG  
GCATGGAAATCAAAGTAACACCACAGAGCTCCATCACAGAAGCAGAATTGACAGGTTATGGCACCCTCACGATGGAGTGCTCCCCGAGAACAGGC  
CTCGACTTCAATGAGATGGTGTTACTGCAGATGGAACAAAGCTTGGCTGGTGATAGGCAATGGTTTCTAGACCTGCCATTACCATGGCTGCC  
CGGAGCGGATAAACAAAGAGTCAAACTGGATACAGAAAGAAACATTGGTCACTTTCAAAATCCCCATGCGAAGAAACAGGATGTTGTTGTTTTAG  
GATCCCAAGAAGGGGCCATGCATACAGCACTCACAGGAGCCACAGAAATCCAAATGTCGTCAGGAAACTTGCTCTTCACTGGACATCTCAAGTGC  
AGGCTGAGAATGGACAAGCTACAGCTTAAAGGAATGTCATACTCTATGTGCACAGGAAAGTTTAAAGTTGTGAAGGAAATAGCAGAAACACAACA  
TGGAACGATAGTTATCAGAGTGAATATGAAGGGGACGGCTCTCCATGCAAAATCCCCTTTGAGATAATGGATTTGGAAAAAGATATGCCTTAG

```

GGCGCCTGATCACAGTCAACCCAATTGTAACAGAAAAGGATAGCCAGTCAACATAGAAGCAGAACCTCCATTTCGGAGACAGCTACATCATCATAG
GAGTAGAGCCGGGACAACCTGAAGCTCAACTGGTTTAAAGAAAGGAAGTTCTATCGGCCAAATGTTTGAGACAACGATGAGAGGGGCGAAGAGAAT
GGCCATTTTGGGTGACACAGCCTGGGACTTCGGATCCCTGGGAGGAGTGTTACATCCATAGGAAAAGCTCTCCACCAAGTCTTTGGAGCAATCT
ATGGAGCTGCCTTCAGTGGGGTTTCATGGACCATGAAAATCCTCATAGGAGTCATTATCACATGGATAGGAATGAACTACGCAGCACCTCACTG
TCTGTGTCACTAGTACTGGTGGGAATTGTGACACTGTATTGGGAGTCATGGTGCAGGCC

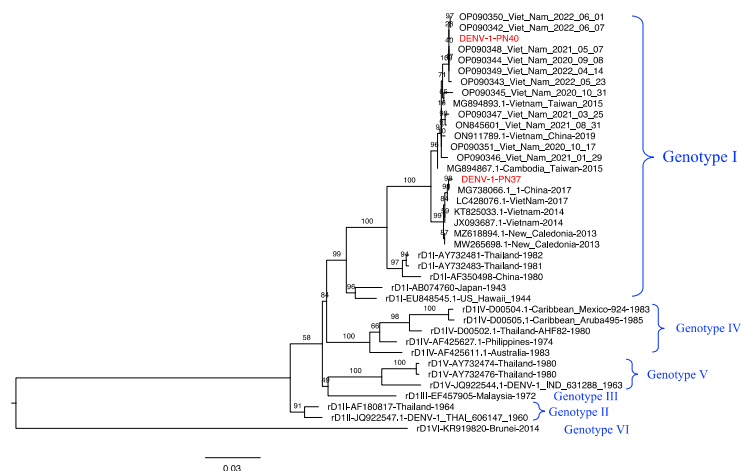
```

RID: N0829ME3013									
Job Title: DV2AI-PN22-env1485bp									
Program: BLASTN									
Query: DV2AI-PN22-env1485bp ID: lcl Query_26677(dna) Length: 1485									
Database: nt Nucleotide collection (nt)									
Sequences producing significant alignments:									
Max	Total	Query	E	Per.	Acc.			Scientific	Common
Description								Name	Name
Taxid	Score	Score	cover	Value	Ident	Len	Accession		
Dengue virus type 2 isolate D2/China/GDzs/D1516651/2015(Vietna...	11060	2710	2710	100%	0.0	99.60	1485	MG737984.1	Dengue virus... NA
Dengue virus type 2 isolate D2/Zhejiang/17-13/2017 envelope...	11060	2710	2710	100%	0.0	99.60	1485	MH010611.1	Dengue virus... NA
Dengue virus type 2 strain D2/Vietnam/1512aTw envelope...	11060	2704	2704	100%	0.0	99.53	1485	MG895129.1	Dengue virus... NA
Dengue virus 2 isolate DENV-2/VN/09DX838/2011 envelope protein...	11060	2699	2699	100%	0.0	99.46	1485	JX093643.1	Dengue virus... NA
Dengue virus type 2 strain D2/Cambodia/1508aTw envelope...	11060	2693	2693	100%	0.0	99.39	1485	MG895100.1	Dengue virus... NA
Dengue virus 2 D2/Hu/Tokyo/NIID82/2019 gene for polyprotein...	11060	2687	2687	100%	0.0	99.33	1485	LC553001.1	Dengue virus... NA

## [v] Phylogenetic tree of envelope region

The nucleotide alignment was consisted of the Vietnam envelope sequences combined with other related sequences from Blast result and genotyping reference sequences then constructed to the phylogenetic tree using IQTREE.

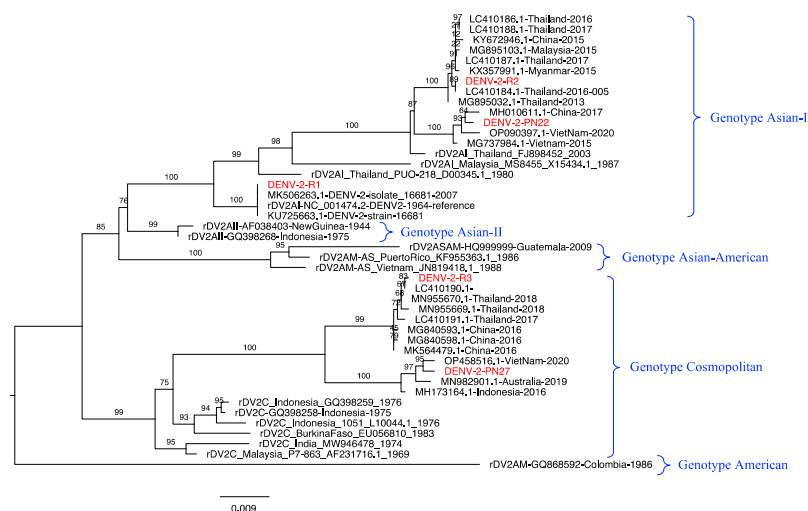
## Dengue virus 1 phylogenetic tree



The result showed that these Vietnam samples PN37 and PN40 were genotype 1, the most

common genotype circulating in Vietnam. PN40 clustered to other Vietnam strain 2020-2021. Whereas PN37 related to China, Vietnam, and New Caledonia reported in 2013-2017.

## Dengue virus 2 phylogenetic tree



The result showed that Vietnam virus PN22 and PN27 were genotyped to Asian-I and Cosmopolitan, respectively. PN22 virus related to China strain 2017 and Vietnam strain 2020. PN27 virus related to Australia strain 2019 and Vietnam strain 2020. The control samples R1, R2 were genotyped to Asian-I and R3 was Cosmopolitan.

[ vi ] Cell cultivation and virus isolation

To isolate dengue virus, the positive patient sera were inoculated to *Aedes albopictus*-derived cell line C6/36 then incubated for 1-2 weeks. CPE were observed daily.

### C6/36<sup>3</sup> cultivation

## Working media preparation

- |                                               |      |    |
|-----------------------------------------------|------|----|
| 1. Leibovitz L15 containing 10% FBS, 0.3% TPB | 1000 | ml |
| o Leibovitz L-15 Medium                       | 800  | ml |
| o FBS                                         | 100  | ml |
| o 3% Tryptose phosphate broth (TPB)           | 100  | ml |
| 2. Leibovitz L15 containing 2% FBS, 0.3% TPB  | 1000 | ml |
| o Leibovitz L-15 Medium                       | 880  | ml |
| o FBS                                         | 20   | ml |
| o 3% Tryptose phosphate broth (TPB)           | 100  | ml |



- 1) Aspirate the supernatant from culture flask of 80-100% confluent cell
- 2) Wash cells with 5 ml for T25 (10 ml for T75) of 1X sterile PBS
- 3) Add 1 ml 0.25% trypsin-EDTA and gently swirl until solution cover the cell monolayer, place in 37° incubator), gently hit the flask against your palms until cells detach (3-5 min)
- 4) Add 4-5 mL media and mix well then transfer to 15 ml centrifuge tube.
- 5) Spin at 1200 rpm 3 min
- 6) Discard supernatant
- 7) Resuspend cell pellet with 5 mL of 10% L15 (working media 1.), pipette up and down to dissociate cell clumps
- 8) Add 1 ml of cells to 14 ml of L15 media (1:5-1:10 dilution) per flask and incubate in 28 °C incubator for 3–5 days until ~80 % confluency

#### Dengue virus inoculation

##### C6/36 preparation in 12-well plate

- 1) Subculture 80 % confluency C6/36 to cell suspension
- 2) Determine cells number and viability
- 3) Prepare cell suspension at density  $1.5 \times 10^5$  cell/ml by dilute the concentrated cell suspension with 10% L-15 then seed 1 ml per well to 12-well plate
- 4) Incubate in 28 °C incubator for overnight

##### Inoculum preparation and infection

- 1) Prepare patient serum dilution
 

○ Dilution 1:50	30 µl serum	+	1470 µl 2% L-15
	then filtrate with 0.45 µm filter		
○ Dilution 1:100	750 µl 1:50 serum	+	750 µl 2% L-15
○ Dilution 1:200	750 µl 1:100 serum	+	750 µl 2% L-15
○ Dilution 1:400	500 µl 1:200 serum	+	500 µl 2% L-15

Keep the diluted sera on ice
- 2) remove the supernatant from 12-well plate of 60-70% confluent C6/36
- 3) add 250 µl new 2% L-15 to each well
- 4) add 250 µl of the diluted sera to each well or 250 µl of 2% L-15 to mock as follow

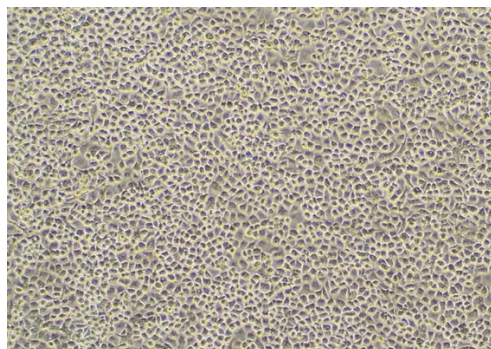
1:50	1:100	1:200	1:400
1:50	1:100	1:200	1:400
Mock	1:100	1:200	1:400

- 5) Incubate in 28 °C incubator for overnight then remove viral inoculum and replace with 1 ml 2% L-15 to each well. Continuedly incubate.
- 6) Collect culture supernatant at 5-7 day-post infection and add 1 ml new 2% L-15

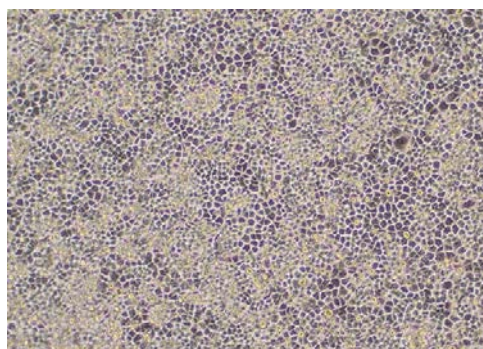
7) Collect culture supernatant at 10-14 day-post infection.

\*3 C6/36 is a cell that supports the growth of flaviviruses. Based on this, the process of isolating and increasing the virus was conducted.

#### Dengue virus CPE in C6/36



(Mock)



(DENV1)

To determine the viral quantitation in cell culture, the cell culture supernatant were collected at 6-7 days post infection and extracted for RNA using QIAGEN viral mini kit then RNA were conducted for RT-real time PCR base on SYBR method.

#### [VII] RT-real time PCR

Primer		
Forward	>DN-F	5' CAATATGCTGAAACGCGAGAGAAA 3'
Reverse	>DN-R	5' CCCCATCTATTCAGAATCCCTGCT 3'

#### Mastermix

Reagents	Volume (μl) /Reaction
2X One Step SYBR RT-PCR Buffer 4	6.25
PrimeScript 1 step Enzyme Mix 2	0.5
PCR Forward Primer (10 μ M)	0.25
PCR Reverse Primer (10 μ M)	0.25
Rox reference dye	0.25
RNase Free dH2O	2.5
total	10

#### Instrument: QuantStudio™ 3 System

Reverse Transcription step	
42 °C 5 min	1 cycle



## Amplification Plot

## Melt Curve Plot

(2) To prepare the whole genome template for NGS sequencing, The sample with efficient RNA were amplified for the whole genome using two step RT-PCR.

[VIII] RT- PCR using Super script IV

The following is a flowchart of the experiment

1 . Anneal primer to template RNA

Fragment	RT primer	Sequence 5'-3'
DENV1-5	d1a10 <sup>a</sup>	TCTCTCYGGCTCRAAGAGGG
DENV1-3	d1a5B <sup>a</sup>	<u>TTTGTCGGTCTGGGGGGGTAT</u> AGAACCTGTTGATTCAAC RGC

DENV2-5	DV2RT6817b	<u>TGCGGCCACCACTGTGAGGATGGC</u>
DENV2-3	3T DV Rvb	<u>AGAACCTGTTGATTCAACAGCACC</u>

Combine the following components in a reaction tube

Component	Volume/Reaction
2 $\mu$ M gene-specific reverse primer	0.5 $\mu$ l
10 mM dNTP mix(10 mM each)	0.5 $\mu$ l
Template RNA	2 $\mu$ l
DEPC-treated or nuclease-free water	3.5 $\mu$ l

Mix and briefly centrifuge the components

↓

Heat the RNA-primer mix at 65° C for 5 minutes, and then incubate on ice for at least 1 minute.

## 2. Prepare RT reaction mix

Vortex and briefly centrifuge the 5×SSIV buffer

↓

Combine the following components in a reaction tube.

Component	Volume/Reaction
5×SSIV buffer	2 $\mu$ l
100mM DTT	0.5 $\mu$ l
RNaseOUT Recombinant RNase Inhibitor	0.5 $\mu$ l
SuperScript IV reverse Transcriptase(200U/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ l

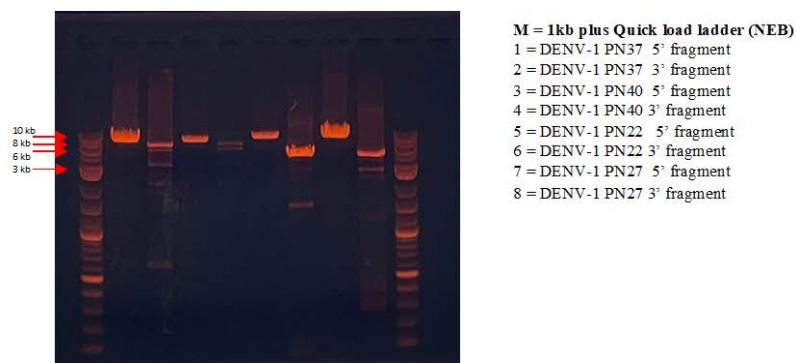
## 3. Combine annealed RNA and 3.5 $\mu$ l of RT reaction mix

4. Incubate reaction 50° C for 20 minutes and 80° C for 10 minutes and then incubate on ice for at least 1 minute and add 0.5  $\mu$  l of RnaseH.

## 5. PCR amplification

Then cDNA were amplified using the protocol mentioned previously in [ii] PrimeSTAR GXL DNA Polymerase by using the primer as following

PCR primer	Binding position	Sequence 5'-3'
<b>DENV-1 5'fragment</b>		
d1s1C <sup>a</sup>	1F	<u>GATGAGGGAAGATGGGG</u> AGTTGTTAGTCTACGTGGAC
d1a10 <sup>a</sup>	6061R	TCTCTCYGGCTCRAAGAGGG
<b>DENV-1 3'fragment</b>		
d1s12 <sup>a</sup>	5211F	AAATGGCAGAGGCGCTCAAGGG
d1a5B <sup>a</sup>	10735R	<u>TTTGTCGGTCTGGGGGGT</u> ATAGAACCTGTTGATTCAACRG C
<b>DENV-2 5'fragment</b>		
T7-5TDVFWClal <sup>b</sup>	1F	GGCATCGATTAATACGACTCACTATAGAGTTGTTAGTCTACG TGGACCGACAAAG
DV2RvNheI6731NotI <sup>b</sup>	6731R	GGCGCGGCCGCAGCAAACTATGAGAAAAAACTCCA
<b>DENV-2 3'fragment</b>		
DV2FWClal6608NheI <sup>b</sup>	6608F	GGCATCGATAGGGAAGATGACCCTGGGAATGTG
3T-NotI DV Rv <sup>b</sup>	10723R	GCCGCGGCCGCAGAACCTGTTGATTCAACAGCACC



#### [Result]

The amplified product of 5' fragment and 3' fragment was purified and combined then used as the template of NGS library preparation.

#### 結果

分子的な特徴付けを行うことで、ある特定の地域に蔓延しているウイルスの現在の遺伝子型を特定することができます。本実験では、患者血清中のデングウイルスを同定し、その特

徴を明らかにした。エンベロープ配列に基づく系統樹から、DENV-1 遺伝子型 I と DENV-2 遺伝子型 Asian-I および Cosmopolitan がベトナムで循環していることが明らかになった。患者血清中のウイルス量は、ウイルス分離法によって増殖させることができる。十分な量のウイルスがあれば、全ゲノム PCR やシーケンスが可能である。全ゲノム解析により、ウイルスの遺伝的多様性を明らかにすることができる。

最後に岸本先生、また岸本奨学金へ厚く御礼申し上げます。

国際医療研究会でのタイ交換留学活動報告書  
2023/03/15-2023/03/20 於 Mahidol University

大阪大学医学部医学科 5 年次      \*\*\*\*\* Y・G



## ○概要

今回、3/15-20 の 6 日間にわたって、岸本国際交流奨学金の援助のもとで、国際医療研究会に属する 5 人の医学部医学科のメンバーが、タイ・Mahidol University 擁する Ramathibodi 病院にて実習を行った。海外の医療現場を体感するとともに、タイの医学生との文化交流もでき、大変貴重な体験をさせていただいた。

### ・ 1 日目

着くとメンバーのうち 2 人が駅まで迎えにきてくれ、Ramathibodi 病院に着いてすぐオリエンテーションを行った。歓迎会と称して初めての交流を行い、タイのお土産をいただき、こちらで日本で買った菓子などをあげた。

### ・ 2 日目

病棟・緊急治療室を見学させていただいた。5 人のメンバーは、それぞれタイの学生とバディを組み、その 2 人 1 組で病院内を見学させていただいた。私は緊急治療室(外来できた患者さんを病棟に迎える前に留めておく、または初療を行う場所だと思われる)を見学した。ここで驚いたのは、タイの医学生は、4 年生の時点で病棟の患者さんを割り振られ、カルテを毎日書いているのである。勿論上級医(レジデント)が目を通すし、公式な病院の書類になるわけでもないが、日々患者さんを診察し、所見を取っていることは大変貴重な臨床経験になるだろう。日本では 4 年生ではまだ座学しかやっていないため、大きく差をつけられているように感じた。

その後手術室見学をさせていただいた。手術室の各種設備は、日本と同程度かと思われる。昼ごはんを学食でメンバーと共に食べた後、AIMC(Advanced Diagnostic Imaging and Imaging-guided Minimal Invasive Therapy Center)を見学した。画像診断専用の棟で、放射線科の医師に案内していただいた。放射線科はタイでも人気のスペシャリティで、成績優秀な医師が集まっており、他科の医師と協力して、より正確な診断を下すための大きな役割を担っている。



また、実習室で手技実習と称して腹腔穿刺/エコーシミュレーターを体験させていただいた。2年生が中心となっているタイのメンバーは、手技の実習が初めてだったらしく、我々よりも新鮮な反応を示していた。日本での実習と同じような雰囲気を実習が進んだ。ただ、エコーシミュレーターは日本での実習では見たことがなく、興味深い実習となった。エコーの位置を3次元で把握し、モニターにエコーを模した画面と、立体的な架空の人体構造が内蔵まで映し出される。どの角度で見ればどの臓器が見えるか、バーチャルに学習できるこの機能はとても学習に便利だろうと感じた。



晩は Yaowarat の夜市を観光した。屋台が所狭しと並ぶタイならではの風景を満喫し、カエルやドリアンなどこの地でしか味わえないグルメも体験できた。

### ・3日目

朝は、別キャンパスに移動し、OPD(Out-Patient Department 外来)での4年生の実習を見学した。タイでは、4年生にしてすでに実際の患者さんの初診をとり、カルテ記載まで行う。勿論医者の監視下ではあるが、実臨床の現場に学生のうちから出れるのは、日本と大きく違う点だと感じた。横で見学していながら、臨床スキルの無さを痛感した。患者さんに必要な情報を聞き出す問診は、医学的知識に裏付けられていないといけなし、また患者さんのケアをしつつ、限られた時間で病院のスケジュールも気にしながら外来を行う4年生が、後輩でありながらかなり大きな存在に感じた。

お昼ご飯をとった後、ジムでスポーツを行った。バスケットボールや卓球でタイのメンバーと対戦して、交流を深めた。

また、CNMI(Chakri Naruebodindra Medical Institute)にて実習を行った。Body Interact アプリケーションを用いて、救急外来のように、急性の症状が出ている患者さんに、問診や各種計測、治療、処置、投薬などをバーチャルで行い、正しい処置をすれば加点、間違っている場合減点で、一定時間終了後にスコアが出るゲーム形式のVR型臨床医学シミュレーションである。タイの医学生たちはこれを自由に使えるらしく、このような臨床現場再現アプリケーションを通じての学習は日本でも取り入れるべきだと強く感じた。

夕方にはディスカッションを行った。タイと日本における医学教育について互いに知見を深めた。タイでの医学教育は、テキストから授業中の言語、プレゼンテーションも全て英語で行われると知り、メンバーの英語力、医学英語の知識の深さに納得が行った。

### ・4日目

バンコク観光に連れて行っていただいた。

タイ王宮(グランドパレス)、ワットポー、など寺院を周り、Queen Sirikit 織物博物館で伝統的な織物の衣装を見た。1番の中心街のアイコンサイアムではルーフトップバーに連れて行ってもらった。今まで見た事ないような夜景が見れた。



・5日目

パタヤ観光に連れて行っていただいた。パタヤ港近くの池でウェイクボード体験をし、観光の定番であるパタヤビーチで夕暮れ時を過ごした後、海岸沿いにあるとても雰囲気の良いレストランで海鮮料理をいただいた。リゾート感が存分に味わえる異国の地で、タイメンバーと歓談しながら食べるタイ料理は印象深かった。



・6日目

最終日であり、送迎会を開いていただいた。タイメンバーからはタイの伝統的な衣類メーカーである Jim Thompson のハンカチーフをいただいた後、日本メンバーもお土産を渡して、最後の交流をし、別れを惜しみつつ集合写真を撮って解散となった。





#### ○感想

タイでの実習は刺激的で、本当に興味深い 1 週間であり、医学の面でも文化の面でも本当に貴重な体験をさせていただいた。タイの医学生メンバーは、英語が大変に堪能であり、また臨床知識も低学年の子でもかなりのものであり、医学教育のシステムの違いが明確に感じられた。一方で、インフラの整備が進んでいないためと考えられるが、清潔管理は所々おろそかな部分を感じられた。日本の医療現場の完璧な清潔管理を経験している身にとっては、おざなりに感じざるをえない部分があった。この辺りはタイと日本の文化の違いに基づくものと思われる。

#### ○最後に

今回の大阪大学・マヒドン大学の交換留学を行うにあたって、ご協力くださった Mahidol 大学 Ramathibodi 病院の先生方、タイの学生たち、そして毎年当プログラムを岸本国際奨学金に採択してくださる岸本忠三先生ならびに関係者の皆様に、心からの感謝を申し上げます。

# 令和4年度岸本国際交流奨学金による海外活動実施報告書

医学部医学科	4 年	学籍番号：*****	氏名：S・Y
--------	-----	------------	--------

渡航先国：タイ
受入機関名：マヒドン大学
渡航先機関での受入期間： 令和 4 年 3 月 15 日 ～ 令和 4 年 3 月 20 日（ 6 日間）

## 1. スケジュール

3月15日（水）	関西国際空港発 スワンナプーム空港着 現地の学生とのオリエンテーション
3月16日（木）	病院見学@ラマティボディ病院 ・内科病棟見学 ・手術室見学 ・AIMC(Advanced Diagnostic Imaging and Imaging-guided Minimal Invasive Therapy Center)見学 手技実習@ラマティボディ病院 ・腹腔穿刺 ・エコー ディスカッション ・タイと日本における医学教育システムについて
3月17日（金）	病院見学@CNMI(Chakri Naruebodindra Medical Institute) ・小児科外来の見学 臨床医学実習@CNMI ・Body Interact アプリケーションを用いた VR 型臨床医学シミュレーション実習 CNMI の施設見学・スポーツ実践@食堂、寮、体育館
3月18日（土）	現地の学生とバンコク観光 （ワット・プラケオ、王宮、Queen Sirikit 織物博物館、ワット・ポー、タイ古式マッサージ体験、アイコンサイアム）

3月19日（日）	現地の学生とパタヤ観光 （ウェイクボード体験、ビーチ観光）
3月20日（月）	現地の学生と朝市を観光 スネークファーム見学 現地の学生とのお別れの会

## 2. 目的

マヒドン大学付属病院の見学や実習を通し、日本とタイの医学教育や医療の共通点・違いを学ぶ。また、現地の学生・医師や人々との学内・学外での交流を通じ、多様な文化や価値観を学ぶとともに、国際的な視野を身につける。

## 3. 活動内容

### ①内科病棟見学

臨床実習中の医学部4年生が入院患者を担当し、患者の世話をしている様子を見学した。日本では研修医の業務である病棟管理を、タイでは学生の間から行っているようだった。タイでは4年生から病院実習が開始するらしく、入院患者の体調をチェックし、診察手技を行う様子を見学した。また、糖尿病性アシドーシスの非典型例について、症例レポートを紹介してもらい、鑑別診断についてディスカッションした。

### ②手術室見学

師長に手術室全般を案内してもらったあと、皮膚癌の手術、直腸癌の手術を見学した。消化器癌においてロボットを用いて手術している様子も見学できた。タイにおける手術室のドレープやシーツの材質が日本のものと違うことに興味を惹かれた。マヒドン大学の手術室では、再利用可能な布をシーツに使っていた。またガウンについても、手術の種類によっては再利用可能な布を用いることもあるとのことだった。阪大病院や系列病院では、不織布を用いており、一度使用したら廃棄される。手術室内の医療従事者に質問したところ、布に比べて不織布のほうが、コストが安く、使用後の扱いも簡便で、生地に汚染物が付着しても弾く素材であるために、着用している者が汚染されることがない、といった利点があるとのことだった。それでも再利用可能な布を使うのは、環境に配慮しているからとのことであった。日本の医療現場との環境に対する意識の違いを感じた。

### ③ AIMC 見学（放射線科）

MRI や CT の設備を見学し、解説を受けた。現地の先生方は、MRI の概要からそれぞれの造影剤の違いまで、細かい講義をしてくださった。

### ④腹腔穿刺の手技実習

マヒドン大学医学部の2年生の学生とともに、腹腔穿刺の模擬実習を行った。穿刺箇所  
の同定、消毒から、腹水ドレーンの留置まで一通りの手技を習った。タイでは患者に対し  
腹水のドレーンを実践することが多いらしく、ある4年生の学生は「病院実習中で僕もよ  
く腹腔穿刺を実施しているよ。日本では習わないの?」と語っていた。

#### ⑤エコーの手技実習

マヒドン大学医学部の2年生の学生とともに、シミュレーターを用いてエコーの手技実  
習を行った。シミュレーターに対してプローブを当て、モニターが異常な陰影を示す箇所  
を同定し、鑑別診断を行った。疾患名がわかってもそれを表す英語がわからず、その都度  
辞書を引かなければならなかった。海外の患者や医療従事者とコミュニケーションをとる  
ためには医学英語の知識が必須であることを改めて実感した。

#### ⑥ディスカッション

タイと日本の医学教育についてディスカッションを行った。タイの大学では臨床医療中  
心の教育が行われており、低学年のうちから臨床医療に繋がる講義が行われているとのこ  
とであった。また、阪大のようなカリキュラムとしての研究室配属はなく、希望者のみが  
研究室に所属し研究するようだった。そして、医学の講義はタイ語で行われるが、教科書  
や授業資料はすべて英語であるということだった。そのために自然と医学英語が身につく  
らしい。また、課題が与えられ、班で調べ学習をした後、調べた結果を学生が講師として  
授業を進める形式の授業もあるとのことであった。タイの学生の英語能力と臨床能力の高  
さの理由がわかるとともに、たとえ彼らとはカリキュラムが違っても、彼らの英語能力・  
臨床能力に引けを取らないよう、自己研鑽を重ね、精進したいと感じた。

#### ⑦小児科外来見学

乳幼児健診、特に1歳時に対する健診を見学した。健診を行う前に、1歳の乳児が受け  
るべきワクチンや達しておくべき発達段階について、学生らとディスカッションを行っ  
た。乳幼児の健診は、基本的に4年生の学生3人が行い、指導医が診察室の後方から学生  
に助言をしつつ、健診の補足を行っていた。

#### ⑧ Body Interact アプリケーションを用いた VR 型臨床医学シミュレーション実習

Body Interact というアプリケーションを用い、臨床医学のシミュレーションを行った。  
病院に運ばれてきたという設定の症例に対して、初期の救急的対応から医療面接、検査の  
オーダー、医学的処置、薬剤の投与、画像の読影を行うことができる。バイタルサインも  
モニタリングされており、時間経過と処置内容に応じて刻一刻と患者の状況が変化してい  
く。そのため、臨床現場と同様、迅速に的確な、医学的に正しい判断を下していくことが  
求められる。シミュレーターを活用することにより、臨床医学の学習や病院実習の復習に



用いることができるだけでなく、病院実習では経験できないレアな症例も体験できる。実践的な臨床能力を身につけることができる、大変優れた学習ツールであると感じた。

#### ⑨ CNMI の施設見学・スポーツ実践

マヒドン大学医学部の新しいキャンパスである CNMI の内部を見学した。学生の人数に対して十分な量の学生寮が用意されており、家賃は無料で、3 人など複数名が同室であるようだった。寮はあるものの数は足りなく、遠方から進学した学生の多くがアパートを借りてアルバイトをしながら一人暮らしをする日本の状況とは大きく異なるように感じた。談話室、学習スペース、スポーツジムの施設、食事設備が充実しており、新しいキャンパスはキャンパス内で生活が簡潔するように設計されていた。また、トレーニングルームやバスケットコート、卓球場、バドミントンコートが完備されているスポーツジムで、タイの学生とスポーツを通じた交流を行った。両国入り混じったチーム編成でバスケットボールや卓球を行ったことにより、お互いの距離が縮まり、より一層コミュニケーションが円滑にとれるようになった。

#### ⑩ バンコク市内・パタヤでの観光

現地の学生に案内してもらい、ヤワラーという中華街やアイコンサイアムという複合商業施設、ナイトマーケットなど様々な場所で食事をし、日本との外食文化の違いを感じた。飲食店や屋台の数が日本よりずっと多く、また家庭料理が安い値段で提供されている。安くて栄養バランスが整った美味しいものが街にあふれ、住民は日常的に外食している。日本の多くの一般的な家庭では、女性が家族のために食事を用意することが多い。また一人暮らしをする大学生や社会人も、外食はコストが高く栄養バランスも悪いからと、自炊をすることが多い。タイの外食文化は、食事に関する家事の負担を軽くしているだろうことが想像できた。

ワット・プラケオやワット・ポーなどの仏教寺院を観光し、同じ仏教寺院である日本の寺院との違いを感じた。金箔をふんだんに使った塔や仏像、極彩色の建造物、ヒンディー教の神を祀った像など、日本の寺院では見受けられないものが数多く見られた。お参りの作法も全く異なり、文化の違いを感じた。タイにおいては僧侶が大変尊敬されており、両国の宗教観の違いを感じた。また、仏教寺院や王宮、博物館のパンフレットは回収ボックスが出口に設けられており、再利用しているようであった。パタヤではウェイクボード体験やバンジージャンプ、ビーチの観光などをした。スネークファームではコブラの毒や蛇の生態、噛まれた際の応急処置について学んだ。どの場所もずっと現地の学生たちが同行してくれ、英語で案内してくれた。

### 4. 成果

環境に対する意識や食文化など、タイの人々の価値観を学び、日本の文化を客観的に見

つめ直すことができた。手術室の再利用できるシーツや観光地でのパンフレットの回収制から、タイの人々の環境を大切にしていることが伺えた。タイの外食文化からは人々の家事の負担を軽減していることが感じられた。日本の文化とタイの文化、それぞれのよさを実感するとともに、伝統を守りつつ、他の文化を参考にしたり吸収したりしていくことも大事であるように感じた。

また、日本の医学教育や医療システムについて客観的に見つめることができた。特に英語教育の違いを学んだ。日本においては、明治時代の学者の尽力により、ほとんどすべての専門用語が日本語に訳された。その結果、ノーベル賞受賞者である白川博士が語るように、私たちには「日本語で科学を学び、考えることができる幸せ」がある。ところが、今回のプログラムで、母国語を考えるための道具として使いこなすと同時に、外国語の習得も同時に必要であるということを痛感させられた。海外の方から話を聞き、学び、自分の考えを正しく伝えるためには、現在、英語でのコミュニケーションスキルが必須であることを改めて実感した。

## 5. 今後の抱負

2023年6月に、今回交流したマヒドン大学医学部学生5名の受け入れを予定しており、そのときに日本の医療・医学教育や文化を英語で案内できるよう、英語の実力を鍛えたい。また、今回のプログラムで得た知識や視点を周りの学生に共有するとともに、現地で得たものを糧に、これからの自己学習や病院実習での学びを深めていきたい。

## 6. 謝辞

今回の大阪大学・マヒドン大学間の交換留学プログラムでは、様々な方の協力があったからこそ、このような大変貴重な体験をすることができました。

マヒドン大学ラマティボディ病院の先生方には、病院見学や実習を行うにあたり大変お世話になりました。また、マヒドン大学医学部学生の方々には、日本の学生の受け入れ調整を始め、病院見学や実習のサポートやタイ国内の案内を通して私たち日本の学生と交流を深めてくださいました。

最後になりましたが、当プログラムに深い理解を示し、岸本奨学金に採択して下さった岸本忠三先生ならびに関係者の皆様に、心からの感謝を申し上げます。

# 国際医療研究会マヒドン大学交換留学の報告書

2023/3/15～2023/3/21 タイ バンコク

大阪大学医学部医学科 4 回生 M・M

今回3月15日～3月21日までの6日間バンコクのマヒドン大学に滞在し、マヒドン大学の学生と共に病院の見学や観光を行った。

概要と感想を下に記す。

### 3月15日(day1)

夕方頃バンコクに到着し、マヒドン大学の寮で学生と歓迎会・アイスブレイクを行い交流を深めた。

交流会の後はタイの学生たちと食事をして、お互いの医学部の環境や教育について知見を深めた。

今回のタイ学生メンバーは international school 出身の生徒が多く、我々よりも英語が堪能であった。また、医学教育は英語の教材をベースに使っていることもあり、医療英語に関する見識も深いと感じられた。

### 3月16日(day2)

バンコクのマヒドン大学 Ramathibodi Hospital にて実習を行った。

内容は

- ・病棟/緊急治療室見学
- ・手術見学
- ・AIMC(Advanced Diagnostic Imaging and Imaging-guided Minimal Invasive Therapy Center)見学
- ・腹腔穿刺 エコーシミュレーター実習            である。

病棟見学においては、自身と同じ4回生が日本でいう初期研修医と同じようにある程度の裁量をもって患者の診察・カルテの記入等をしていることが強く印象に残った。

医学生の話聞く限り、日本よりも臨床寄りの教育がなされているように感じた。これに関しては色々な意見があるだろうが、個人的には日本での実習より医学生が積極的に関り、多くの学びを得られているのではないかと思う。

しかし、病棟ベッドの配置については少し疑問を覚えた。肝炎患者・HIV患者・心不全患者などの多種多様な内科系の患者が、扉・仕切りのない空間に配置されていたのだ。

タイの学生に聞いたところ、このような形態は古い病院ではまだ一般的であるらしい。

また、午後に行ったエコーシミュレーター実習には感動を覚えた。

人体模型にエコープローブを当てると画面にエコー画像が映し出されるという単純なものだが、エコーの当て方・読影の基礎を学ぶにはこれ以上ない教材だろう。もし大阪大学に導入されたならば、医学生はもちろん初期研修医の教育にも役立つと思うのでぜひ導入を検討していただきたい。

3月17日(day3)

この日はバンコク郊外にある CNMI(Chakri Naruebodindra Medical Institute,主に低学年が学ぶ校舎・病院・寮等の複合施設)に移動し実習を行った

内容は

- ・ OPD(Out-Patient Department 外来)での4年生の実習を見学
- ・ Body Interact アプリケーションを用いた VR 型臨床医学シミュレーション実習
- ・ ディスカッション 「タイと日本における医学教育について」 である。

OPD では患者・医学生・担当教官の3者で日本の外来診察の実習を行った。

概ね日本の OSCE と似ているのだが、いくつかの違いを発見したので下に羅列する。

- ・ 医学生自身がカルテを記入している
- ・ 診察が終わった直後に担当教官（医師）がフィードバックをしている。
- ・ 日本の OSCE のように形式的ではなく、臨機応変に実臨床に即した対応をしている。

特に、医学生自身がカルテを詳細に記入している事には驚いた。日本の実習でもカルテを記入することは経験したが、初診の患者に対しても詳細に問診するようなことはなかなかなかったので新鮮であった。

また、診察に対して即座にフィードバックがもらえる環境はうらやましいと思った。

VR 型臨床医学シミュレーション実習では、「設定された患者に対してガイドライン通りに正しい処置を行えるか」を点数で評価するゲーム形式の実習を行った。

その後タイと日本における医学教育についてのディスカッションを行った。

今回派遣されたマヒドン大学はタイで3本の指に入る難易度を誇る医学部であるのだが、タイは日本以上に家庭の裕福度・幼少期からの教育が受験に大きく関わるそうだ。それもあるのか、タイの医学生はみな裕福そうで、ほとんど全員 ipad 等で電子教材を使った学習をしていた。

また前述したが、タイは日本よりも臨床に重きを置いた教育を行っていると感じた。マヒドン大学医学部から研究の道に行く学生は5%程度と日本と比べかなり少なく、実際今回話をした学生の中にも研究の道に進みたいという学生はいなかった。

3月18・19日(day4・5)

土日はバンコク・パタヤの寺院などに行き、現地の文化を体験した。

観光を楽しむとともに、タイのメンバーと長い時間を共にすることで深い友情を築けたかと思う。

また、行く先々での衛生環境（排水・食事環境・人々の衛生観念・大気汚染等）も日本とは大きく異なり、これらが日本と異なる様々な疾病を起こす原因の一つとなっているのだろうと感じた。

3月20日(day6)

最終日はバンコクのスネークファームに行ってから、Ramathibodi Hospital に戻って送別会を行った。

個人的にはとても充実した6日間を提供してくれたタイのメンバーには感謝をしても仕切れない。とても別れが惜しかった。

#### 全体を通しての感想

この交換留学を通して、タイの医学生の臨床能力の高さなどには感服した。日本の医学生もっと積極的に実習に関わり、実臨床から多くのことを学ぶことが必要なのではないかと思う。そして、英語ベースでの医学学習をしていることもあり、医療英語の能力に関しても日本の学生よりもかなりレベルが高いことが分かった。

そして、医療自体のレベルも高く日常の処置などは日本のものと遜色ないであろう。

ただし、この実習全体を通してタイにおける医療の様々な課題も見られた。

特に「経済格差による医療アクセスの差」「公衆衛生」の2つは、医療の視点からも解決すべき大きな課題の例であろう。

最後になりましたが、今回の大阪大学・マヒドン大学の交換留学を行うにあたって、ご協力くださったマヒドン大学 Ramathibodi 病院の先生方、タイの学生たち、そして毎年当プログラムを岸本国際奨学金に採択してくださる岸本忠三先生ならびに関係者の皆様に、心からの感謝を申し上げます。

# 国際医療研究会マヒドン大学交換留学の 報告書

大阪大医学部医学科4年次 T・M

3月15日

現地時間で15時半頃に到着した後、諸手続きを済ませ、電車でマヒドン大学の最寄駅である戦勝記念塔駅へ向かい、17時頃に駅にてマヒドン大学の学生と集合した。その後マヒドン大学の寮へと案内していただき、ミーティングルームにてオリエンテーション、歓迎会をした後、近くのフードコートで晩御飯を一緒に食べ、交流を深めた後、寮へ戻った。



3月16日

早朝はマヒドン大学ラマティボディ病院にて、マヒドン大学の4年生の学生と一緒に朝の回診に参加させていただき、学生が担当の患者さんを診察している様子を見学した。自分と同学年の学生が1人で身体診察や問診を行い、カルテを書いているのを見て、自分よりも遥かに臨床能力が優れていると感じ、刺激を受けた。

その後、手術室へ向かい、皮膚癌の切除術などいくつかの手術を見学した。



手術見学の後はAIMCを訪問し、CTやMRIについて講義をしていただいた。



休憩を取った後、午後はシュミレーターにて腹腔穿刺の練習を行ったり、エコーのシュミレーターを使って、エコーによる鑑別診断を体験させていただいたりした。実際の患者相手では、何度も練習することができなかつたり、その時にいらっしゃる疾患しか見ることができなかつたりするため、シュミレーターが充実していて、たくさん練習できる環境があることはとても羨ましく感じた。

夜はマヒドン大学の学生と Yaowarat の夜市を観光し、トムヤンクンやドリアン、ココナッツジュースやマンゴースティッキーライスなど、現地の食べ物を楽しんだ。

3月17日

マヒドン大学シリラート病院にて4年生の学生実習を見学させていただいた。初診の患者さんの問診と身体診察を行い、検査をオーダーするところまで学生が1人で行い、担当の医師にチェックしてもらい、といったものであったが、今の自分は1人でそこまでできる自信もないため、同学年の学生が落ち着いてこなしている様子を見て、もっと自分も勉強しなければならないと感じた。診察はタイ語であったが、受け入れをしてくれていた学生が隣で英語に通訳してくれていたため、リアルタイムに診察の様子を理解することができ、非常に勉強になった。

昼休憩を取った後、CNMI(Chakri Naruebodindra Medical Institute)にて Body Interact アプリケーションを用いた VR 型臨床医学シミュレーション実習を行った。重症患者に対して優先順位をつけて治療、検査、専門の医師への連絡などの初療を行った後、点数がつけられ、アドバイスなどフィードバックがもらえるというアプリケーションであったが、実際の臨床現場に忠実で、このようなシュミレーターで練習できれば、実際の患者さんを相手にしても落ち着いて考えることができると思った。また、いい点数が取れない時はアドバイスを参考に復習できるため、モチベーションにもつながると思う。

最後にタイと日本における医学教育についてマヒドン大学の学生とディスカッションをし、お互いどのように勉強しているかを紹介した。タイの学生は英語で医学を勉強しているため、自分たちよりも医学英語をよく知っており、やはり焦りを感じた。

晩御飯はタイのプーパッポンカレーを楽しみながら、タイの学生とお互いの国について話をした。



3月18日

バンコクを観光し、タイ王宮(グランドパレス)、Queen Sirikit 織物博物館などを観光した後、タイ料理店で昼食をとった。午後は、ワットポーでタイ古式マッサージを受けた後、アイコンサイアムのスシローに行き、最後にルーフトップバー(Vertigo&Moon bar)で景色を楽しんだ。様々な日本語やタイ語をお互いに紹介して非常に盛り上がり、とても仲良くなった。スシローは日本と変わらず美味しかったが、値段は日本の3倍ほどであり、少し頼むのを躊躇ってしまった。



3月19日

パタヤを観光し、ウェイクボード(Thai Wake Park)で遊んだ後、パタヤビーチに向かい、晩御飯を食べた。5日目は英語でのコミュニケーションにも慣れ、車の移動時間は終始タイの

学生と盛り上がっていた。ウェイクボードは非常に難しかったが、みんなで一緒にアクティビティができて、楽しかった。



3月20日

スネークファームを見学した後、送迎会をしていただき、メッセージカードやプレゼントをもらった。また、それぞれ6日間で一番楽しかった時間を言い合い、別れを惜しんだ。短い期間だったがたくさん思い出を作り、仲良くなることができた。6日間本当に親切にしてくだいたため、私達も受け入れを頑張りたいと思った。



感想

タイの学生が非常にフレンドリーであったため、とても仲良くなれて楽しかったが、もっと

英語を喋れるようになればもっといろんなことを伝えられるのに、と悔しく、これから英語を勉強するモチベーションになった。臨床技術についても、同学年のタイの優秀な学生を見て非常に刺激を受け、もっと自分も頑張らなければと思った。

今回の大阪大学、マヒドン大学の交換留学を行うにあたって、ご協力してくださった Mahidol 大学 Ramathibodi 病院の先生方、タイの学生たち、そして毎年当プログラムを岸本国際奨学金に採択してくださる岸元忠山先生並びに関係者の皆様、その他関わってくださったすべての方のおかげで素晴らしい経験ができたことに心からの感謝を申し上げたい。

令和4年度岸本国際交流奨学金による海外活動実施報告書

タイ王国 バンコク マヒドン大学 ラマティボディー病院 医学部  
Bangkok, Thailand Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital,  
Mahidol University

大阪大学医学部医学科 3年生 国際医療研究会

\*\*\*\*\* K・H

海外活動期間

2023/3/15～2023/3/20

1. スケジュール 以下のようなスケジュールで過ごした。それぞれ活動の詳細は 3 に書いてある。

3/15 スワンナプーム空港到着、オリエンテーション、歓迎会

3/16 ロボット手術、回診による病棟/緊急治療室見学、サイバーナイフ見学、画像診断科見学、手技実習（腹腔穿刺）、エコーシュミレーター実習、Yaowarat の夜市を観光

3/17 CNMI キャンパスで外来見学、Body Interact アプリケーションを用いた VR 型臨床医学シミュレーション実習、ディスカッション（タイと日本における医学教育について）

3/18 バンコク市内観光（タイ王宮(グランドパレス)、ワットポー、Queen Sirikit 織物博物館、アイコンサイアム、ルーフトップバー(Vertigo&Moon bar)

3/19 パタヤ観光、ウェイクボード体験(Thai Wake Park)、パタヤバンジー、パタヤビーチ

3/20 スネイクファーム、モーニングマーケット、ナイトマーケット、送迎会、帰国

3/21 日本到着

## 2. 目的

ラマティボディ病院の見学を通じて、タイの医療状況を学び、日本とタイの医療の違いを学ぶ。また、社会見学や様々な人々との交流を通じてタイの文化や日本とタイの文化の違いを学ぶ。

## 3. 活動内容

### (1) 病院見学

ロボット手術：タイの手術も日本と同様素晴らしく発展しており、とても清潔な環境が保たれていた。

朝の回診：私は 4 回生のマヒドン実習生と朝の回診を回ったが、日本とは異なり、マヒドン大学の 4 回生はたった一人で数人の患者を受け持ち、診察を行い上司の先生に詳しい報告をしていた。その点で日本の医学生より遥かに自立していると感じた。また、病棟には、

日本とは異なり、感染症の患者が比較的多かった。しかし、隔離されていなかった感染症の患者が多かった。

画像診断科、サイバーナイフ見学：画像診断科では、CT や MRI を用いた画像診断を行っていた。MRI では磁力と電波を利用して人体の断面を撮影することができ、その原理について詳しく教えていただいた。肺塞栓症について答える質問に答えることができなかった時は、自分の不勉強さを後悔した。また、サイバーナイフという放射線治療の医療機器を見せてもらった。サイバーナイフは手術の難しい腫瘍を治療することができるだけでなく、侵襲性が低いという大きな利点を持っている。またサイバーナイフを頭部に使うときには、頭部を固定する必要がある、そのために患者一人一人にあわせて形状記憶プラスチックで固定用のマスクを作る。また、造影剤を使う際には、造影剤アレルギーに事前に備えることが非常に重要である。

#### 腹腔穿刺実習、エコー実習

局所麻酔実習やエコー検査の実習を行った。丁寧に原理や検査方法を説明してもらったが、医学英語を正確に覚えていなかったことと、自分は三回生でそういった実習をしたことがなかったため、理解して実践するということがとても難しく感じた。せめて医学英語は事前にもっと勉強していくべきだったと後悔した。

#### CNMI キャンパスでの外来見学

外来では、下肢静脈瘤の患者の診察を見学した。そこでは、日本とは異なり、マヒドン大学の4回生が一人で患者を受け持ち、診察を行い、その後、上司の先生に詳しい報告をしていた。研修医かもしくは後期研修で初めて行うようなことを実習の一貫でしていたことは、非常に刺激的だった。確かに、これにより、早くから実践的な医者が育ちやすい環境が生まれているのだと思った。

#### Body Interact アプリケーションを用いた VR 型臨床医学シミュレーション実習

CNMI キャンパスには Body Interact というアプリを用いたシミュレーション実習台が色々な場所に配置されており、どんな学年でも好きな時間に様々な救急処置問題を解くことができる仕組みになっていた。これにより、日常的に医学がゲーム感覚として、生徒間に浸透し、また学習意欲を大幅に促進させることに多いにつながっていると感じた。これは、タイの医学生のレベルが高い大きな一因となっていると考える。

#### ディスカッション（タイと日本における医学教育について）

タイの医学生チームとタイと日本における医学教育の違いについて様々なディスカッションを行った。タイの医学部では研究というよりは臨床に重きを置き、即戦力となる医師の養

成に力を入れていることがわかった。これは個人的な意見ではあるが、臨床的には良い点ではあるかもしれないが、研究で医学を進めるという点においては良い点とは限らないかもしれない。

## (2) 社会見学

### Yaowarat の夜市

Yaowarat ではナイトマーケットが盛んで、道路の両脇にはおびただしい数の屋台が並んでいた。東南アジアらしい雰囲気を感じることができた。また、道路にはタイ名物の TukTuk が数多く走っており、日本の都心部よりもはるか交通量が非常に多かった。

### バンコク市内観光

バンコク市内では、王宮やワットポー、ワットアルーンなどの様々な寺院を見学した。タイの医学生チームの説明を通じて、タイでは王様や王妃の存在が非常に偉大であることを王宮を見ることにより、実感することができた。

### アイコンサイアム

アイコンサイアムとはバンコクで最も大きな百貨店のうちの一つであり、外観も内観も非常に華やかであった。

### パタヤ

パタヤでは、湖などでウェイクボードを作ったり、ビーチで日の入りを見たりした。さすがタイのリゾートの一つと言われるだけあり、素晴らしい物だった。

### スネイクファーム

スネイクファームでは、様々なヘビを見ることができた。ヘビの解剖や骨格標本なども展示されており、非常に興味深かった。

## 4. 成果

タイの医学生と交流して、最も驚いたことはタイの学生はとても英語が流暢だったことである。実際の所、向こうの医学生チームのほとんどがナショナルハイスクール出身であった。話をよく聞いてみると、メンバーのうちには普段から家族とはタイ語ではなく英語で話している人もいたようだった。向こうのメンバーのご家族も、ナショナルハイスクールでの英語教育をはじめとした英才教育を受けているから英語を普段から話すという習慣が身についているようだった。タイでは、医学部に入る試験は非常に難しく、英才教育をうけて鍛えられたものたちが集まっているのだと考えられる。

世界のレベルの一端を見ることができ、自分も感化され、非常に良い経験となった。



5. 今回の大阪大学・マヒドン大学の交換留学を行うにあたって、ご協力くださった Mahidol 大学 Ramathibodi 病院の先生方、タイの学生たち、そして毎年当プログラムを岸本国際奨学金に採択してくださる岸本忠三先生ならびに関係者の皆様に、心からの感謝を申し上げます。