



新型コロナウイルス、診断と治療



<https://l-hospitalier.github.io>

2020.3

感染対策の基礎知識

#232

【逆転写 PCR】コロナウイルスは 4 群、1 本鎖 RNA、+鎖。

RNA なので PCR はできない¹。ボルチモアとテミン²が発見した逆転写酵素 (reverse transcriptase, RT) を使って DNA にコピーし相補的 DNA (compliment DNA, cDNA) を作りマリス³の PCR (polymerase chain reaction) で核酸増幅を行う RT-PCR (Reverse Transcription-PCR) を行う。

【リアルタイム PCR】PCR は核酸増幅法なので結果の判定

は Real-Time PCR; RT-PCR。Real-time PCR は数種あるがプロ

ーブ検出法はプローブにするオリゴヌクレオチドの 5'末端に蛍

光物質、3'末端にクエンチャー (quencher: 消すもの) を結合さ

せたプローブを設計する。右図 1) 2) の高温時、あるいは温度を下げてのアニ

リング中には標識蛍光物質はクエンチャーの近傍にあるためアロステリック効果

で紫外線を照射しても発光しない。目的とする cDNA の 1 本鎖が存在すると PCR

の伸長反応が進行し、プローブは cDNA 鎖上から追い出されて遊離、分解して蛍光

物質とクエンチャーが離れ、紫外線で蛍光を発する (図最下段)。RNA ウイルス

で RT-PCR を行うと RT²-PCR? この変化を検出するため検査機器は温度を周期的に

上下させるサーマルサイクラーと分光器 (紫外線を照射、特定波長の蛍光を検

出) の組み合わせになる。右上はタカラバイオ製。風邪の 1~2 割はコロナウ

イルスなので、新型の判定には遺伝子塩基配列変化の検出が必要。RNA の塩基配

列をオリジナルの SARS-CoV-2 のそれと比較する。栄研が開発した【LAMP 法

(Loop-Mediated Isothermal Amplification)】は thermal cycle を使わず定温で核酸増

幅、迅速に検査できる。検体遺伝子、4 種のプライマー、鎖置換型 DNA 合成酵素

と基質 (核酸) を混合、65℃で 15~60 分。判定は 650 nm の吸収を測定するネ

フエロメトリで濁度を検出するものが多い。RNA ウイルスに対しても逆転写酵素

を混入する RT(reverse transcription)-LAMP 法の SARS コロナウイルス検出キット

(蛍光、濁度) がある。栄研も新型コロナ用 RT-LAMP 法を開発中。【抗体によ

る抗原ウイルス検出】病状が風邪と異なるのはウイルス表面の蛋白官能基 (エピト

ープ) が異なるため、抗体を使ったウイルス表面抗原の検出も可能。インフル

同様の固相液体クロマトを使う迅速検査も開発中 (デンカ)。コスモ・バイオは

H5N1 インフルのヘマグルチニン/ノイラミニダーゼ、West Nile ウイルス、SARS

蛋白、炭疽菌を ELISA⁴で検出する抗体キットを販売。【治療】ウイルスは宿主

の蛋白合成系を乗っ取って増殖するので抗ウイルス薬は毒性が高い。ギリアド

サイエンシズが開発したオセルタミビル (タミフル、1996 年ロッシュにライセ

ンス) はインフルウイルス表面のノイラミニダーゼ酵素を阻害、ウイルスが宿主

の細胞膜を被って宿主細胞を脱出するのを阻止。ウイルスをヒト細胞内に閉じ

込める。ウイルスが全身細胞に広がってからは無効、病状を悪化させるので投

与は発症後 48 時間以内に規制。ノイラミニダーゼを持たないウイルスには無効。

【レムデジビル】はギリアドが抗エボラ薬として開発し効果を認めた。NIH は

新型コロナに対する世界規模の治験を開始。武漢でも効果を確認。中国、日本

の新型コロナウイルス患者に試験使用された。2020/2/24 中国現地を訪問した

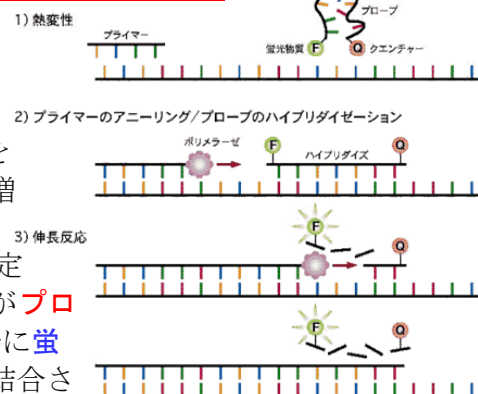
WHO 代表の一人が「現時点で本当に効果があるとみられる唯一の薬」と発言、

注目された。アデノシンヌクレオチドアナログでウイルスの RNA ポリメラーゼ

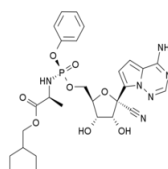
を混乱させる? 【ファビピラビル (アビガン)】富山大と富山化学 (富士フィル

ム) が開発した RNA ポリメラーゼ阻害薬。エボラに有効。新型インフル対応

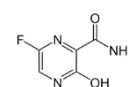
のため 2017 年日本政府は 4.5 万人分を備蓄する契約を富山化学と締結?



日本板硝子のモバイル・リアルタイム PCR 装置 picogene PCR1100



レムデジビル



ファビピラビル

¹ 2 本鎖 RNA は 1990 年代に発見され RNA 依存性 RNA ポリメラーゼで合成される。RNA 干渉という遺伝子発現抑止作用を持つ。2006 年ファイアーとメローが RNAi 発見でノーベル賞。 ² テミンとボルチモアは逆転写酵素の発見で 1975 年ノーベル賞。 ³ マリスはポリメラーゼ連鎖反応 PCR 開発で 1993 年ノーベル賞。 ⁴ 酵素結合免疫吸着法。抗原-抗体結合物に 2 次抗体を結合させ酵素で呈色。2 次抗体にアミラーゼを用い、ヨード澱粉反応で判定が良く使われる。