

#232

新型コロナウイルス、診断と治療



https://l-hospitalier.github.io

2020.3

1) 熱変性 【逆転写 PCR】 コロナウイルスは4群、1本鎖RNA、+鎖。 発見した**逆転写酵素(reverse transcriptase**, RT)を使って Ⴧ) ファラィマーのアニーリンウ/フローフのハィフリタイセーション

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、定量(quantitative PCR), qPCR と Real-time PCR は数種あるがプローブ検出法はオリゴヌク

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 度を下げてのアニー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<mark>【LAMP 法(Loop-Mediated Isothermal Amplification)】</mark>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

を測定するネフェ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



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

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。 <mark>【抗体による抗原ウイルス検出】</mark>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)が異なるためで、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 ELISA*4 で検出する抗体キットを販売。<mark>【治療】</mark>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。<mark>【レムデジビル】</mark>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?



レムデジビル

ファビピラビル

*12 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。 プ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</mark>。 抗原 一抗体結合物に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。