

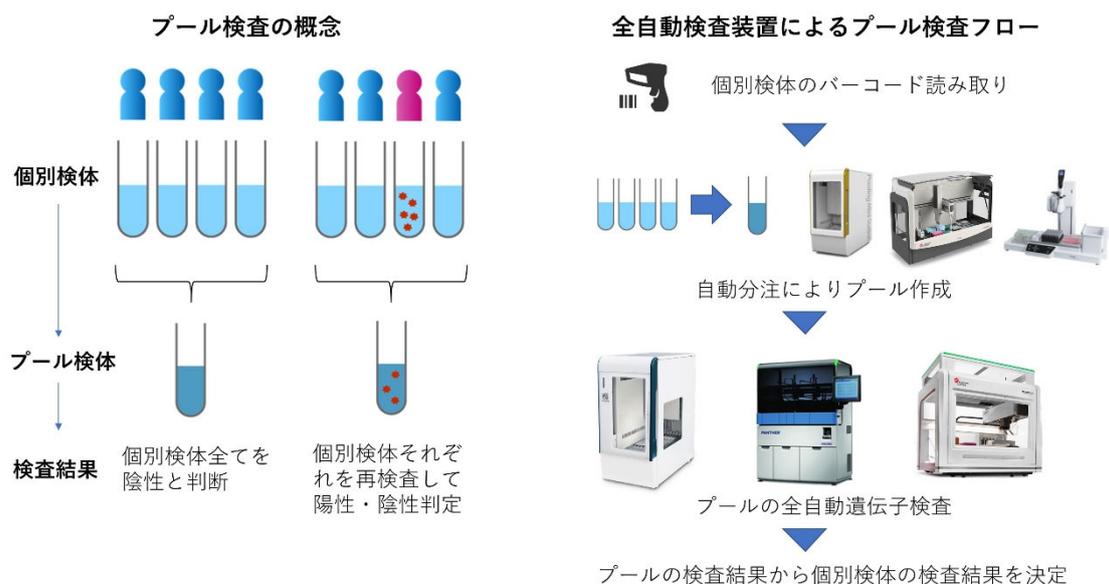
新型コロナウイルス感染症に対する全自動遺伝子検査システムを開発 —プール検査法を用い高精度の大量検査が可能に—

概要

長尾美紀 医学研究科教授、松村康史 同准教授、山本正樹 医学部附属病院講師、野口太郎 同助教らの研究グループは、新型コロナウイルス感染症に対して大量検査が可能な全自動遺伝子検査システムを開発し、その有用性を実証しました。

新型コロナウイルス感染症対策において、高精度な診断検査法を大量に実施できる検査体制が望まれています。同グループは、複数検体を混合し1検体とする「プール」検査法と、既存の全自動遺伝子検査装置を組み合わせることで、高精度な大量検体処理を目指しました。3種類の全自動遺伝子検査装置（ジーンリード：プレジジョン・システム・サイエンス株式会社、パンサーシステム：ホロジックジャパン株式会社、Biomek システム：ベックマン・コールター株式会社）とインテグラ・バイオサイエンセズ株式会社の自動分注機を組み合わせたプール検査システムを開発、検証、最適化し、さらに数千の臨床検体を用い実証試験を行い各システムの有用性を確認しました。

本研究成果により、高精度な大量検査の導入が容易に可能となり、新型コロナウイルス感染症対策に貢献できることが期待されます。



1. 背景

新型コロナウイルス感染症においては、発症者のみならず無症状者も感染伝播に関わっています。感染者のクラスター事例やハイリスク者（エッセンシャルワーカー、帰国者、あるいは大規模イベント実施時等）へのスクリーニング検査において、大量検体を迅速・高精度・低コストで検査可能な体制を整備することが、医療と経済社会活動の両立へつながる可能性があります。

複数検体を混合し1検体とする「プール」検査法は、理論上、検査数を増やしコスト削減に寄与します。例えば、陽性率1%の集団において6検体をプールする場合は検査数とコストは約5分の1となります。実際の検査手順としては、プールした検体が陽性の場合、そのプールを構成する検体全てを個別に検査して陽性検体を確定します（図左）。プールが陰性の場合、全ての個別検体が陰性と判定します。

プール検査法の懸念として、検体希釈による性能低下や交差汚染などにより精度が低下することが挙げられます。高い技術が要求される遺伝子検査においてエラーを避け、精度の高い検査を行うためには自動化が有用ですが、既存の自動化検査システムでプール検査ができるものではありませんでした。

そこで、精度の高い核酸増幅検査法と自動化検査システムを用いたプール検査法（図右）を開発し、実際に大量の検体を用いることでその有用性を実証する研究を行いました。

2. 研究手法・成果

核酸増幅を原理とし、高精度の大量検査が可能な3種の自動化システム：①ジーンリード エイトおよび24（プレジジョン・システム・サイエンス株式会社）、②パンサーシステム（ホロジックジャパン株式会社）、③Biomek システム（ベックマン・コールター株式会社）を用いて、プール検査法を可能とする検査手順を構築し、基礎性能評価の後、大量検体を用いた実証試験を行いました。プール検査法の性能は、国立感染症研究所が規定するリファレンス法を個別検査として行い決定しました。

①ジーンリードは、8検体（発売中）または24検体（発売準備中）を約2時間で同時処理可能な検査装置です。バーコード管理とプール化を高速に行う“Pooling station”と組み合わせることで、8検体までの自動プール検査が可能です。基礎性能試験の結果、ジーンリード エイトの最適プール数は6であり、1バッチあたり48検体を約2.5時間で処理可能でした。ジーンリード 24の最適プール数は8、1バッチあたり192検体を約3.5時間で処理可能でした。実証試験では、唾液やスワブ検体計2448検体の検査を行い、感度97.1%、特異度99.9%と高い精度を有することが実証されました。

②パンサーシステムは、随時検体投入と同時処理が可能な検査装置です。1検体あたり3.5時間、最大数である120検体投入時は5.5時間で検査が完了します。プール検査を行うため、Biomek システム（ベックマン・コールター株式会社）およびASSIST PLUS システム

(インテグラ・バイオサイエンセズ株式会社)を用いた管理工程を左記企業と協力し開発しました。これらと組み合わせることで、10 検体までの自動プール検査が可能です。基礎性能試験の結果、最適プール数は 4 であり、384 検体を約 5 時間で処理可能でした。実証試験では、専用鼻腔スワブ検体計 3228 検体の検査を行い、感度 95.6%、特異度 99.9%と高い精度を有することが実証されました。

③Biomek システムは、研究用の汎用装置ですが PCR 装置と接続し、国立感染症研究所の試薬を用いることで 94 検体を約 2.5 時間で同時処理可能です。ベックマン・コールター株式会社と共同でバーコード管理とプール化、その後全自動 PCR を行うプログラム等を開発しました。これにより、任意の検体数での自動プール検査が可能です。基礎性能試験の結果、最適プール数は 4 であり、376 検体を約 4 時間で処理可能でした。実証試験では、唾液やスワブ検体計 6420 検体の検査を行い、感度 97.9%、特異度 99.8%と高い精度を有することが実証されました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究により開発した全自動プール検査法は、既存の全自動遺伝子検査システムを利用しており、またプール化に必要なノウハウ等を京大および各企業から提供することで、他施設においても迅速に導入することができます。これにより、本邦において高精度な大量検査を行うキャパシティーが増加し、新型コロナウイルス感染症対策に貢献できることが期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は下記の研究助成等を受けて行われました。

- ・日本医療研究開発機構 (AMED) 令和 2 年度ウイルス等感染症対策技術開発事業 (早期・大量の感染症検査の実現に向けた実証研究支援)「新型コロナウイルス感染症に対する安全かつ大量処理可能な高精度全自動遺伝子検査システムの実証・比較研究」
- ・京都大学 iPS 細胞研究所との共同研究「新型コロナウイルスの遺伝子検査系ならびに抗体価測定システムの構築、検査体制の拡充及び大規模疫学研究」
- ・プレジジョン・システム・サイエンス株式会社との共同研究「全自動遺伝子検査装置 geneLEAD シリーズ及び関連システムを用いた SARS-CoV-2 検査 PCR 試薬の評価研究」
- ・ベックマン・コールター株式会社との共同研究「自動分注装置 Biomek 4000 を用いたサエプルプーリング法の開発」
- ・インテグラ・バイオサイエンセズ株式会社との共同研究「新型コロナウイルス感染症に対する自動分注機を用いた検査法の開発および実証研究」

用語解説

・核酸増幅検査

病原体に固有の遺伝子（核酸）を増幅することで、病原体の有無を判断する手法の一つです。適切な試薬を使用すれば、極めて高精度な検査が可能です。ジーンリードが採用している PCR 法の他に、パンサーシステムが採用している TMA 法など複数の種類があります。

・ジーンリード

プレジジョン・システム・サイエンス株式会社が販売する汎用全自動遺伝子検査装置で、新型コロナウイルスの診断にも使用することができます。一度に 8～24 検体を同時処理することができます。

・パンサーシステム

ホロジックジャパン株式会社が販売する全自動遺伝子検査装置で、専用試薬と専用採取キットを用いた場合、簡便に大量検査が可能です。新型コロナウイルス感染症の診断のための使用が可能です。

・Biomek

ベックマン・コールター株式会社が販売する汎用全自動分注機です。Biomek 4000 を検体プール、Biomek i5 を全自動検査に使用しました。研究用機器ですが、プログラムの開発によりプール化や核酸増幅検査の自動化が可能です、国立感染症研究所のリファレンス法と組み合わせることで新型コロナウイルス感染症の診断のための検査が可能です。

・ASSIST PLUS

インテグラ・バイオサイエンセズ株式会社が販売するコンパクト自動分注機です。スワブ検体や PCR 試薬を遠心チューブや PCR プレートに移す作業を容易にします。

・感度、特異度

検査性能を示す指標で、感度は真の陽性検体のうち当該検査で陽性となった検体の割合、特異度は真の陰性検体のうち当該検査で陰性となった検体の割合です。