

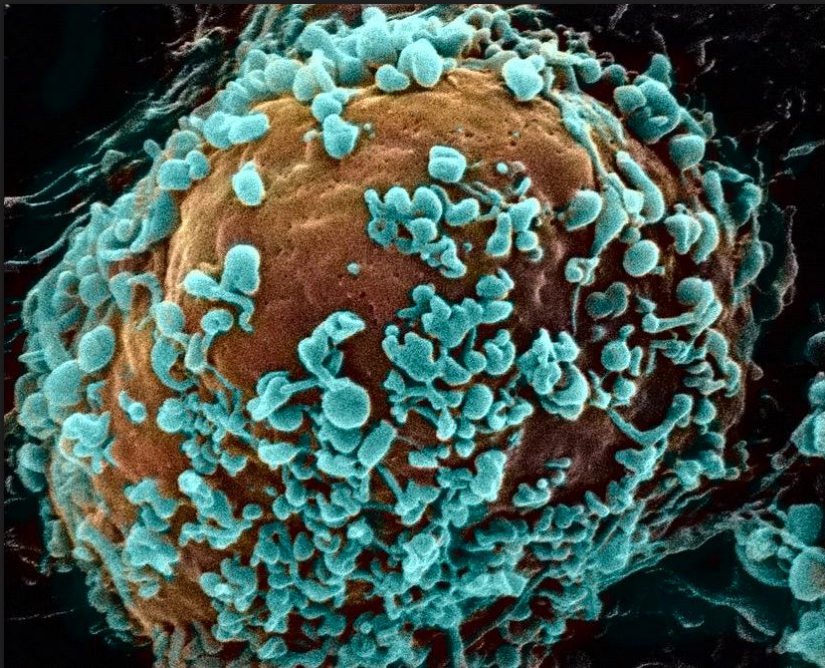
# どうやって新型コロナウイルス (SARS-CoV-2)を検出するの？

One Health Research Forum

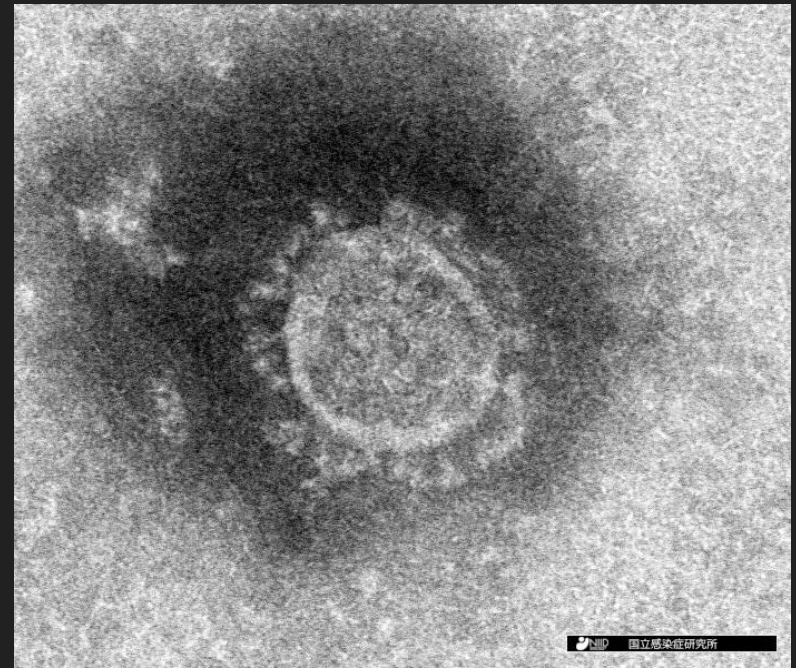


# SARS-CoV-2 ウイルスを 電子顕微鏡で見ると

ウイルスが細胞から出てくる様  
子が確認できます。  
(走査型電子顕微鏡)



ウイルスをよく見ると王冠様の  
突起(スパイク)が周りを取り囲  
んでいます。(透過型電子顕微鏡)





# ウイルスの見つけ方 ～培養法と遺伝子検査法～

## ○ 培養法（長時間）

培養細胞と調べたい試料（サンプル）を一緒に培養すと . . . .

- もしウイルスが存在すれば、細胞が変化してウイルスの増殖を確認できる  
→結果が出るまで**1～3週間**ほど必要

## ○ 遺伝子検査法（リアルタイムPCR法、短時間）

- コロナウイルス遺伝子の配列を標的として、その遺伝子を人工的に増幅してウイルス遺伝子の存在を確認する

ウイルス遺伝子の有無が確認できる

（半定量性有、ウイルス感染性の有無は不明）

→**6～12時間**ほどで結果判定が可能

**COVID-19検査は主にリアルタイムPCR法で行われている！**

# COVID-19を検査するときは、どこからサンプル（検体）を取るのか？



○ ウイルス量は部位により違うようです

下部気道検体 > 鼻腔拭い液 > 咽頭拭い液



# 検体からウイルス遺伝子の検出まで

- 検体には感染性のウイルスが含まれている!
- 個人防護着 (PPE) を着用し、安全基準 (BSL2以上) を満たしたの実験室で検体処理
- 処理された検体からウイルスの遺伝子 (RNA) を抽出

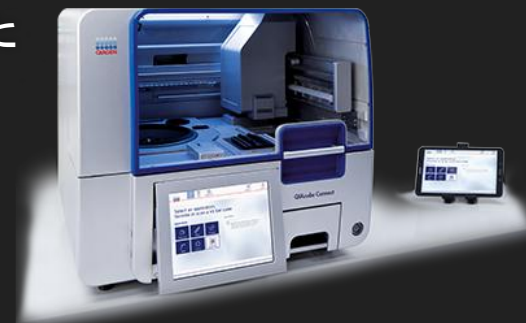
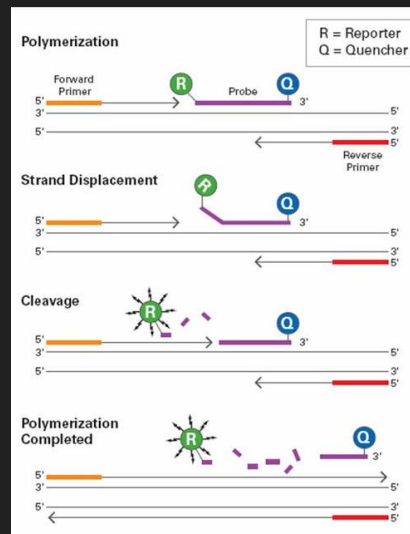
陽性検体には多くの微生物が含まれている  
他の要因が入らない事が最も重要!!

## 安全キャビネット



安全キャビネットⅡB2  
日本エアーテック株式会社

## 個人防護着 (PPE)



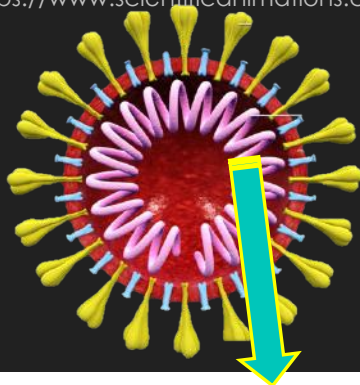
核酸自動抽出機  
QIAcube Connect

遺伝子増幅検査については下記の動画も参考に  
<https://www.youtube.com/watch?v=DrKZpP8S1rs>

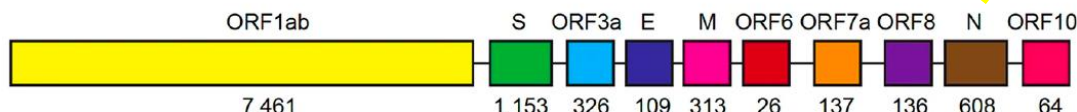
# SARS-CoV-2におけるPCR検査

- 日本ではSARS-CoV-2 ウイルス遺伝子のうち **N領域(矢印)** の遺伝子をPCR法で増幅してその有無を調べている。
- SARS-CoV-2は、**RNA**を遺伝子として持っている。
- ウイルスRNAを人工的にDNAに合成してから、ウイルスの**N**遺伝子を増幅する。

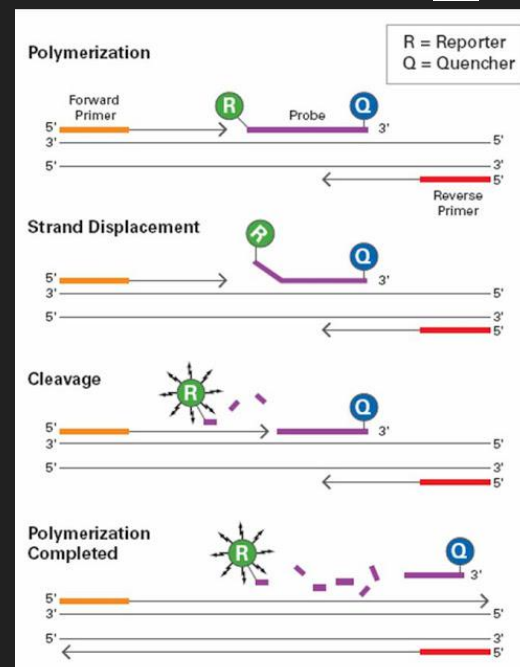
<https://www.scientificanimations.com>



SARS-CoV-2の遺伝子配列

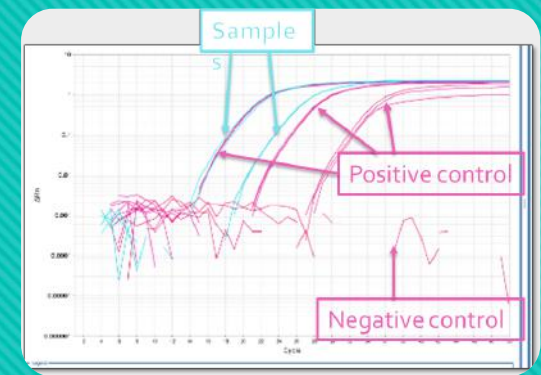


Cell Research volume 30, pages189-190(2020)





# SARS-CoV-2の検査では主に TaqMan Probe 法で検査している



- 遺伝子に特異的な配列の**Primer**、蛍光標識された特異的な配列の**Probe**を用いてPCR法によりコロナウイルスのN遺伝子増幅を行う。

→増幅した遺伝子がSARS-CoV2であるかを確認するために→そのウイルス配列に特異的な**Probe**を反応させる事により**特異配列**のみが検出される。

- Probeに**蛍光物質**と**消光物質**(Quencher)が付加されている。両者が隣接していると光らないが、遺伝子増幅に伴いProbeが分解されると両物質が離れ**蛍光**が確認される(左図)。
- 遺伝子の増幅とともに**蛍光が増え、**蛍光は波形****として確認でき**陽性**がわかる(上図)。
- 一定の**蛍光強度**を確認したサイクル数より遺伝子の量を半定量することができる(上図)。

