

2020年9月3日

電子情報通信学会  
第14回アクセラレーション技術発表検討会  
「COVID-19と戦うアクセラレーション技術」

## SmartAmp法による高速診断キットの開発

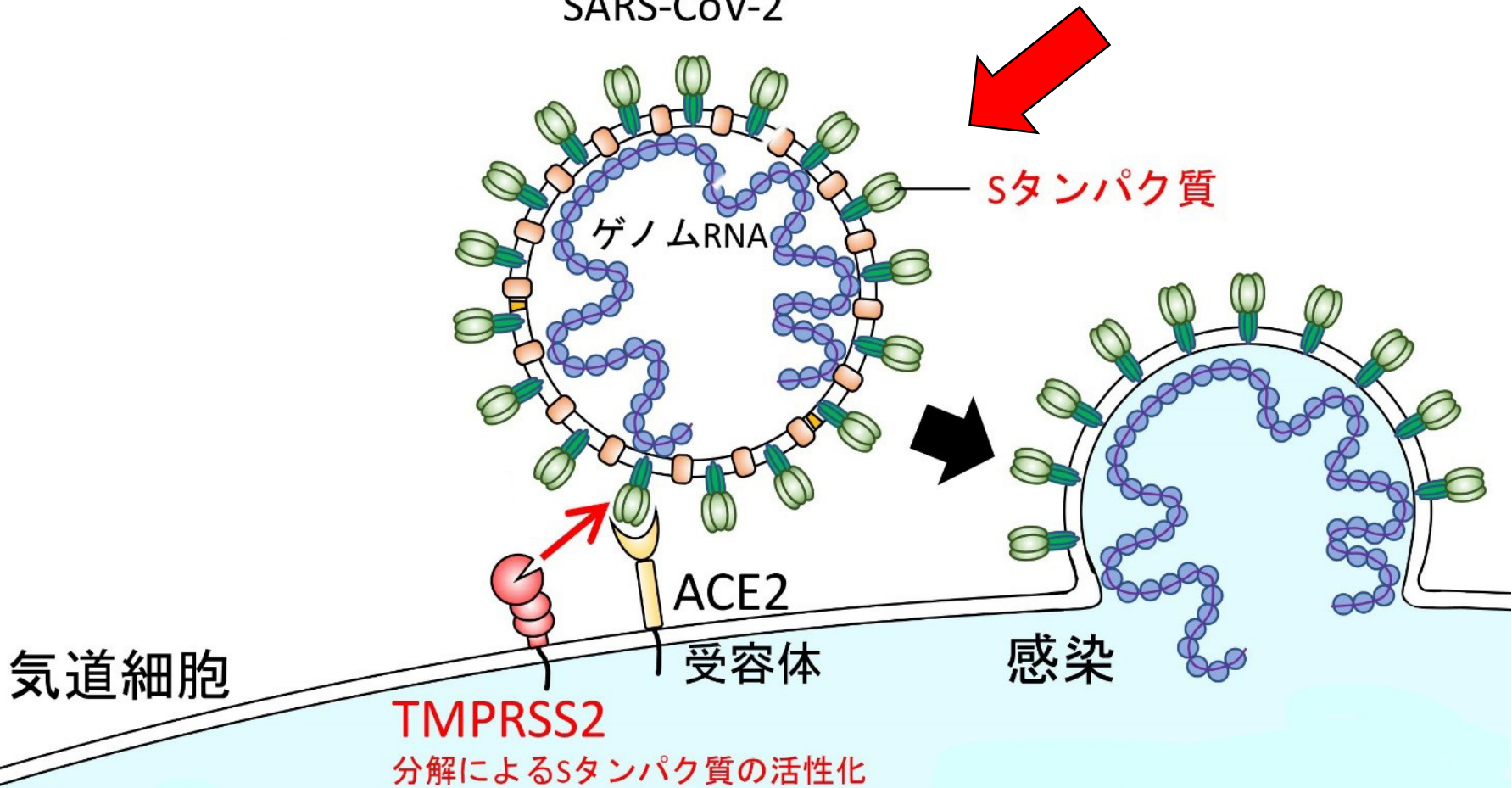
---

理化学研究所  
予防医療・診断技術開発プログラム  
プログラムディレクター  
林崎良英

# コロナウイルスの構造

COVID-19が、細胞に感染するには  
ウイルスの皮の部分(たんぱく質)が不可欠です！

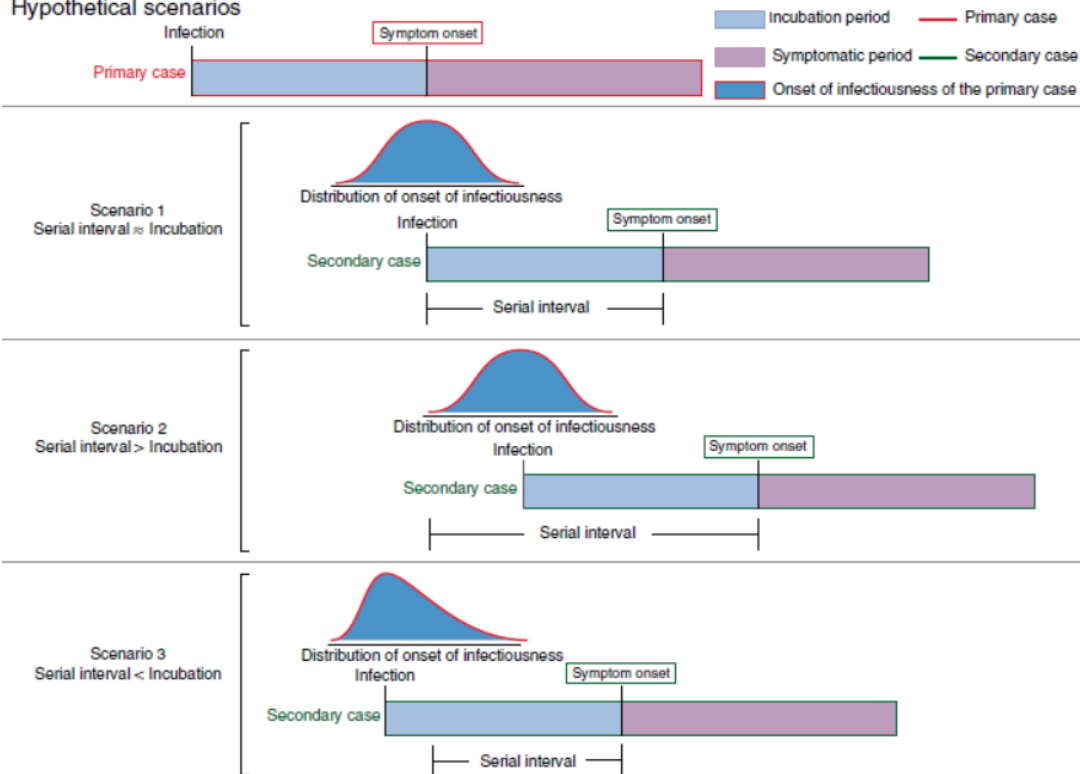
新型コロナウイルス  
SARS-CoV-2



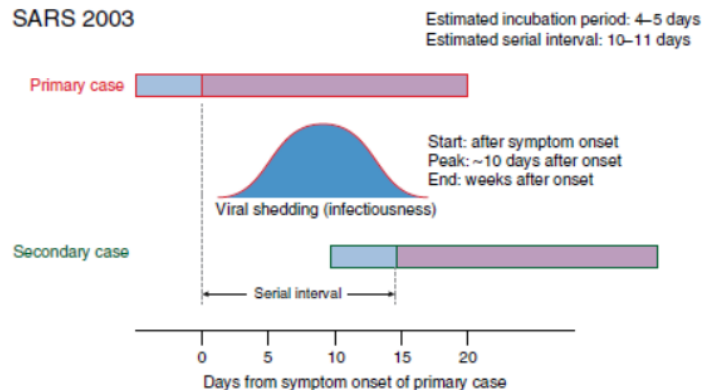
## 【特徴】

- 不顕性感染者が多い(今日現在の人口の数%?)
- 発症数日前が最もウイルスを排出していて、感染性が高い。  
(患者の40~60%がpre-symptomatic transmissionによって感染)
- 集団免疫がない。
- 抗ウイルス薬がない。

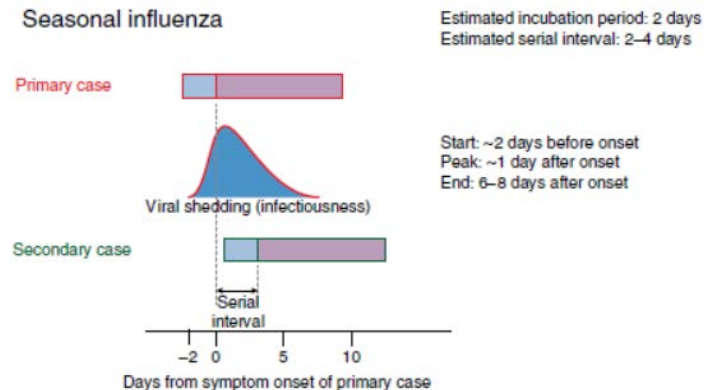
### Hypothetical scenarios



### SARS 2003



### Seasonal influenza



## 【対策】

- 陽性者全員に対しては、「検査と隔離」
- 発症患者に対しては、対症療法
- 抗ウイルス薬、ワクチンを開発

## 【ポイント】

- 「検査と隔離」が基本
- 全数検査（ある集団の全数、発症患者、健常者の区別なし）
- 高感度迅速核酸検査

迅速検出、迅速措置⇒結果が出るまで被検者をその場に足止め  
結果出次第、陽性者の措置を行う。

陽性者⇒ 必要措置ができる体制

（非発症者の宿泊施設で隔離、重傷者の感染者病棟）

CNN health

## Bill Gates says most coronavirus tests are a 'complete waste' because the results come back too slow

By **Allen Kim**, CNN

🕒 Updated 0627 GMT (1427 HKT) July 30, 2020

Gates, the former CEO and founder of Microsoft, believes that people need to get results back sooner so that they're able to "change their behavior so they're not infecting other people."

"The simplest thing, which has to do with such insanity, is you should not reimburse somebody for getting a test that it takes more than 48 hours to get the result back," Gates said on Tuesday.



<https://edition.cnn.com/2020/07/29/health/bill-gates-testing-trnd/index.html>

新規感染者数が増えている状態でイベント緩和を行っている今の日本に重要である

## <タイムスタンプ付きスナップショット検査>

(SmartAmp 法)

唾液採取  
(イベント2時間以内前)

検査結果待ち

速やかに隔離

陰性証明  
(電子情報管理)

イベント参加

40分～1時間

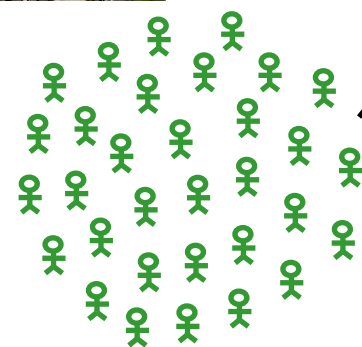
動かないで待機

1日以上

行動リスク大

陰性維持出来ているか

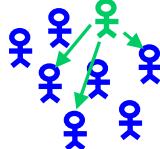
唾液採取



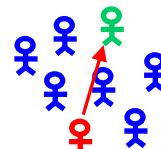
## <従来のPCR法>

- 👤: 不明 (判定前)
- 👤: 陰性
- 👤: 陽性

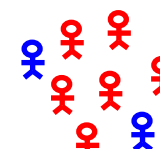
クラスター発生リスク  
複数人食事 家族団楽  
交通機関利用



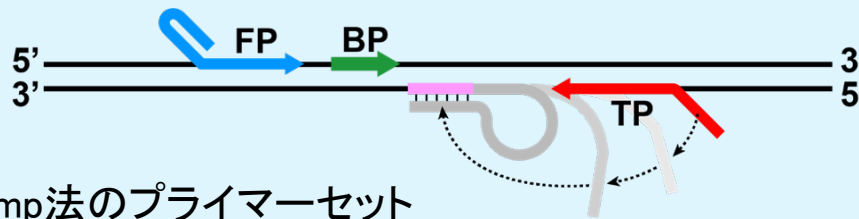
新たな行動  
感染を受けるリスク



隔離・・・クラスター  
濃厚接触者発生リスク

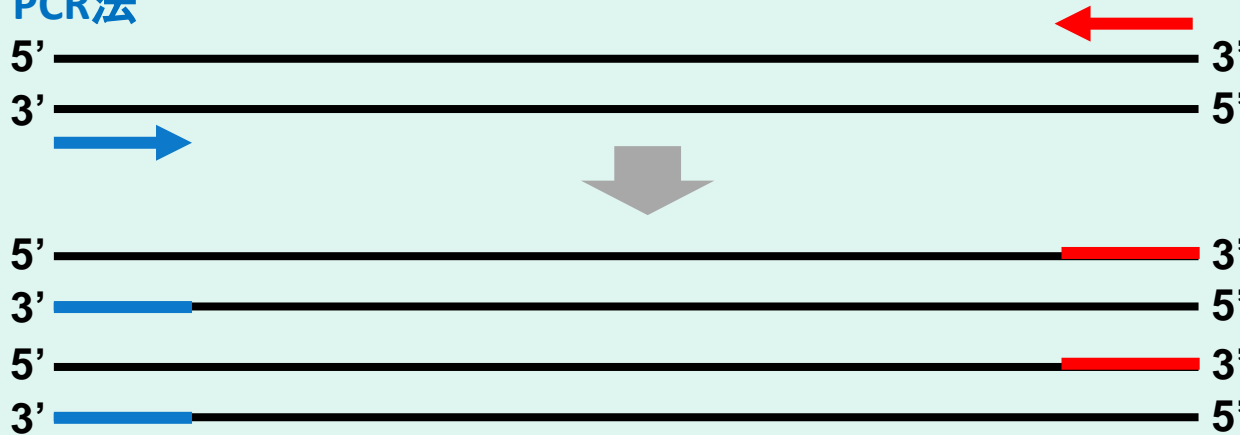


- 超高速検出(15-30 min)
- 等温増幅 (2種類の酵素だけを利用)
- スマホの電池で稼働するため大量のエネルギーを必要としない (小型化が可能)
- 高い感度  
PCR法と同等
- すべてのPCR装置に適応
- 融解曲線解析による陽性/偽陽性判定
- 高い精度  
特異性の高いシングル核酸シーケンス
- バックグラウンドの抑制  
増幅 = 検出
- シンプルデータ解析  
デジタルデータ (多重化ではないデータ解析)
- プライマーの多様なデザインが可能
- 高い安定性  
血液を前処理することなくDNA増幅が可能



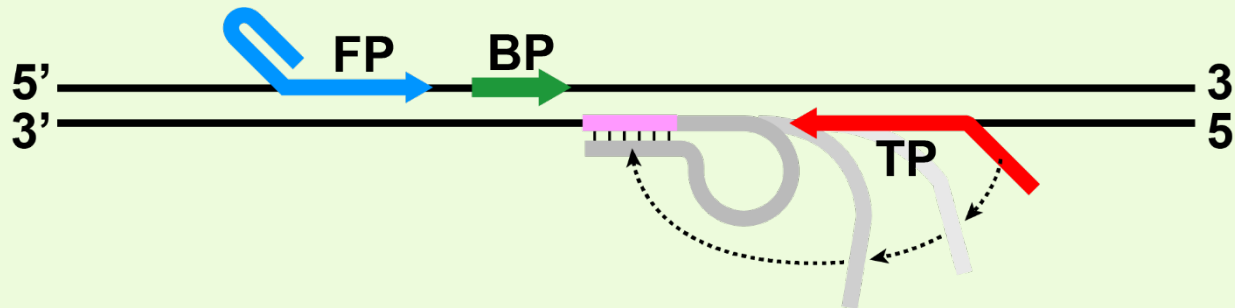
『タイムスタンプ付きスナップショット検査』  
『臨床即時診断 (Point of care test)』に最適

### TaqMan PCR法



- 温度を繰り返し上下させる必要がある。
- 増幅時間 (2時間程度)。

### Eprimer SmartAmp法

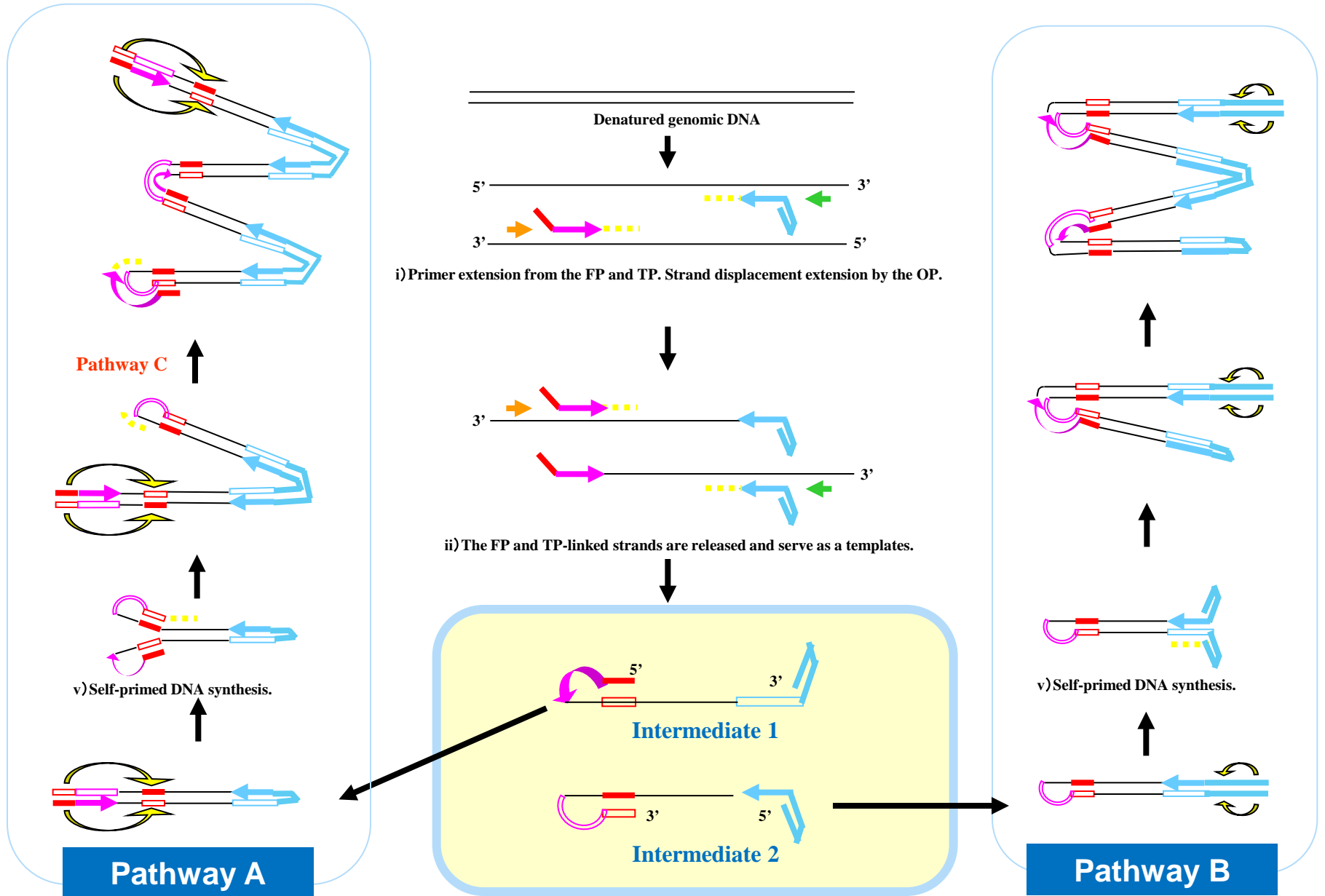


Ref. Mitani, Y., et al. Nat. Method, 4(3):257-262 (2007).

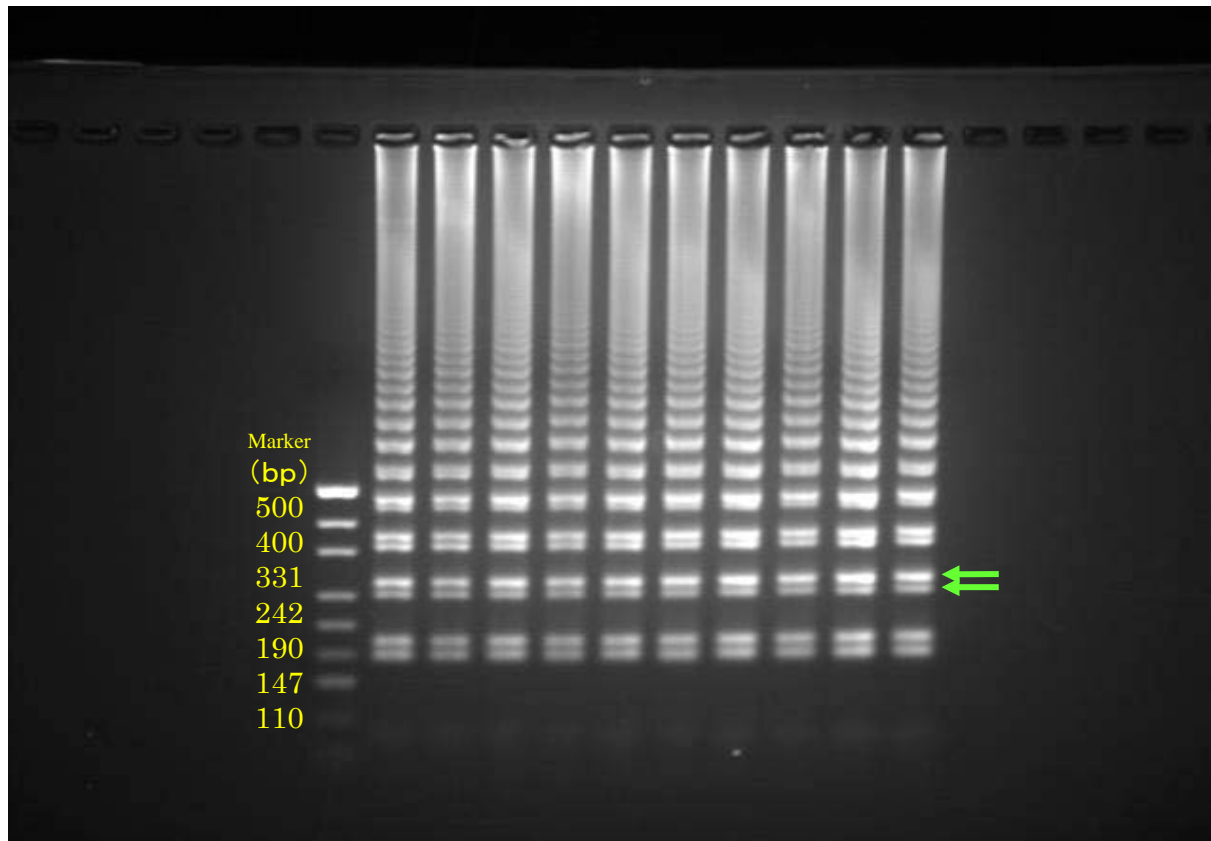
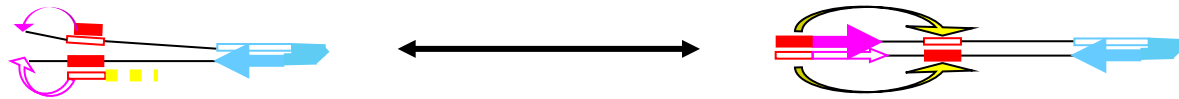
- 非対称プライマーを使用
  - Turn back primer (TP)
  - Folding primer (FP)
  - Boost primer (BP).
- 理研で開発された鎖置換型 DNA polymerase.  
**“Aac DNA polymerase I”**
- 等温で反応 (**67°C**).
- 速い増幅時間 (**10-30 min**).
- 陽性/偽陽性の判定が可能。

Eprimer SmartAmp法の特徴は、検疫などのポイント・オブ・ケア(臨床現場即時診断法)が要求されるニーズに極めてマッチしている





## 2本のバンド⇒2つのPathway



2% agarose gel electrophoresis

# Exciton Primer (Eprimer<sup>®</sup>) の原理と効果

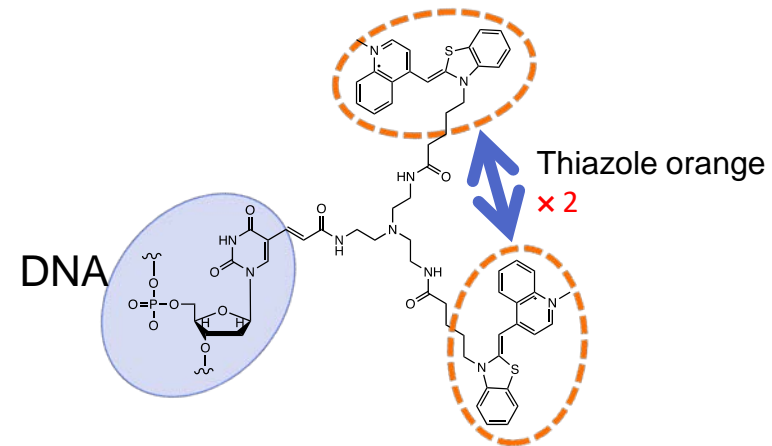
---

## 特徴

- DNAにexciton dyeを結合したプライマー／プローブ
- テンプレートDNAにハイブリしたときにのみ**蛍光**を発する。

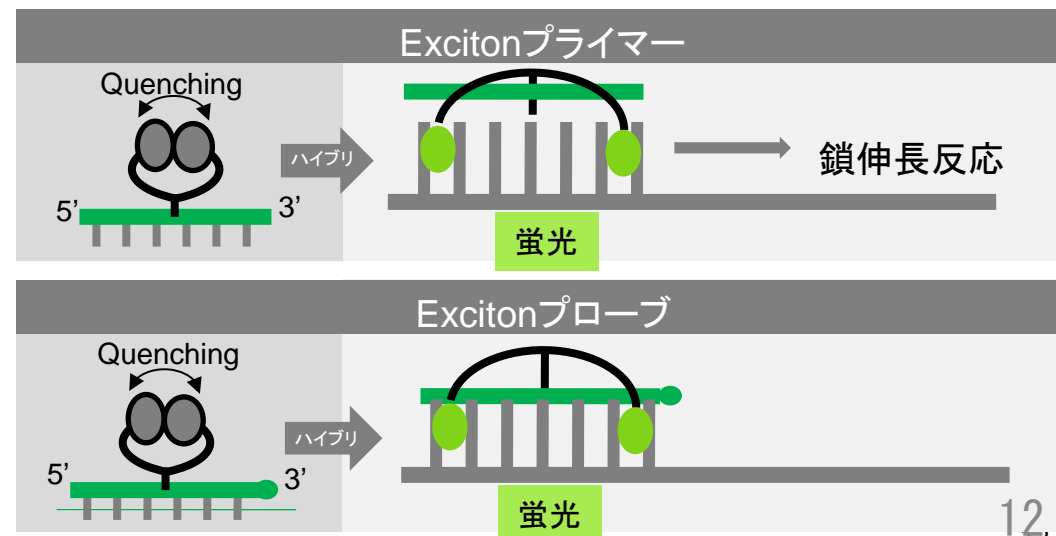
## Eprimer™とEprobe®の構造

同一の蛍光色素分子(チアゾールオレンジ)2分子が一つの核酸塩基から出る2本のアームを介し、各々結合している構造

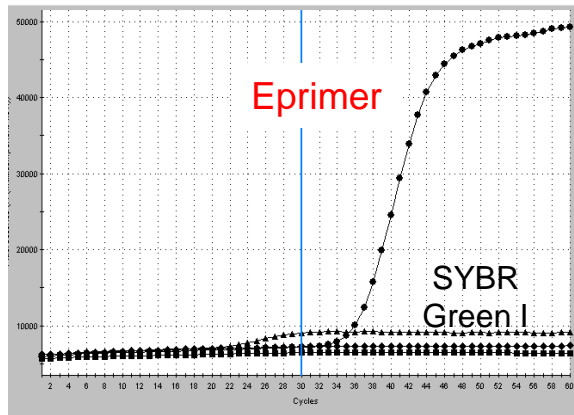


## 原理

Eprobe® (Eprimer™) が一本鎖だったら、蛍光色素同士がくっつきあって、消光する。(蛍光がでない)  
相手のDNAとハイブリダイズすると蛍光が出る。

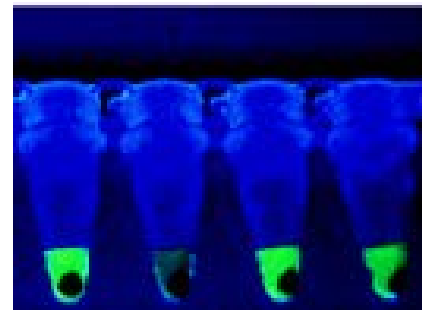


## 高感度



## 目視

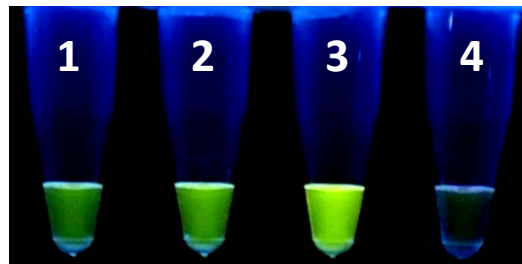
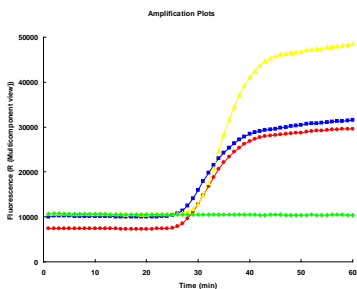
UV



Visible light



## 定量性

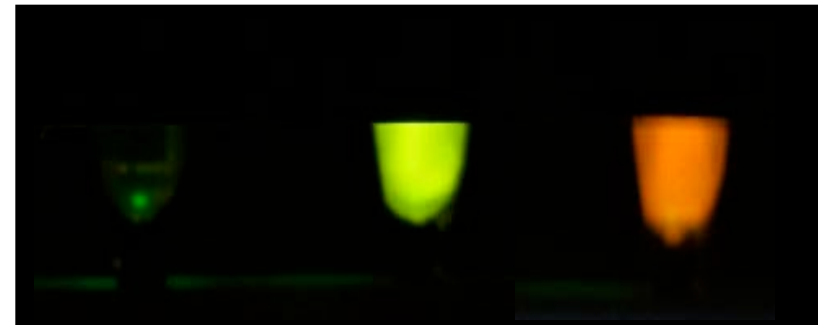


## マルチカラー

(-)

(+)

(+)

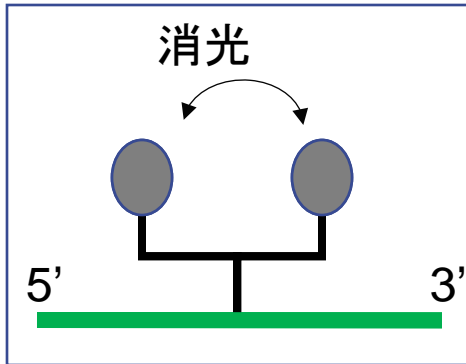


# TaqManとEprimer<sup>®</sup>の比較

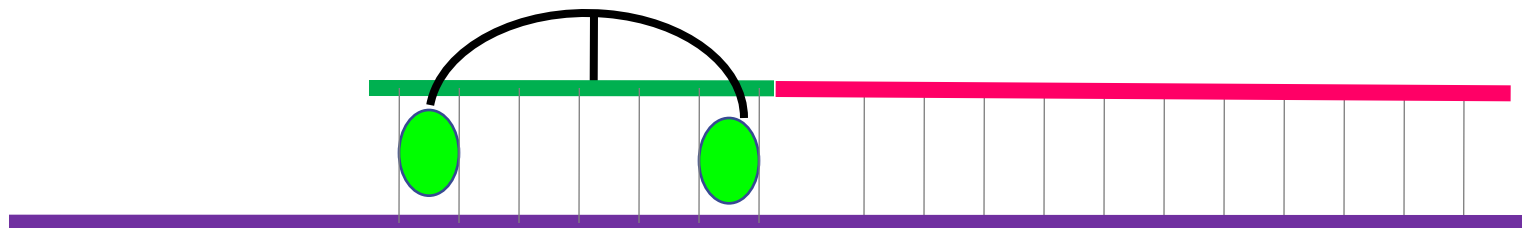
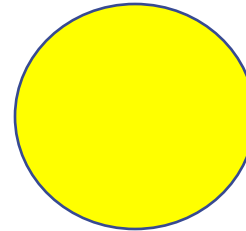
---

TaqMan は、非可逆的シグナル  
Eprimerは、可逆的シグナル

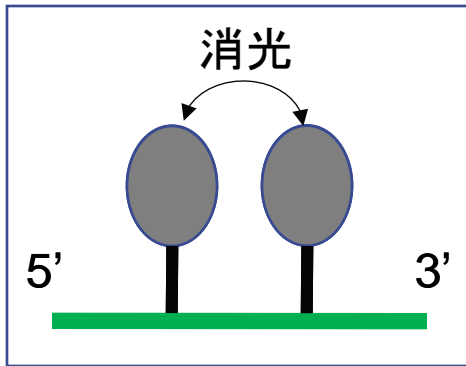
エキシンプライマーは理研のオミックスセンターと岡本主任研究室の共同開発



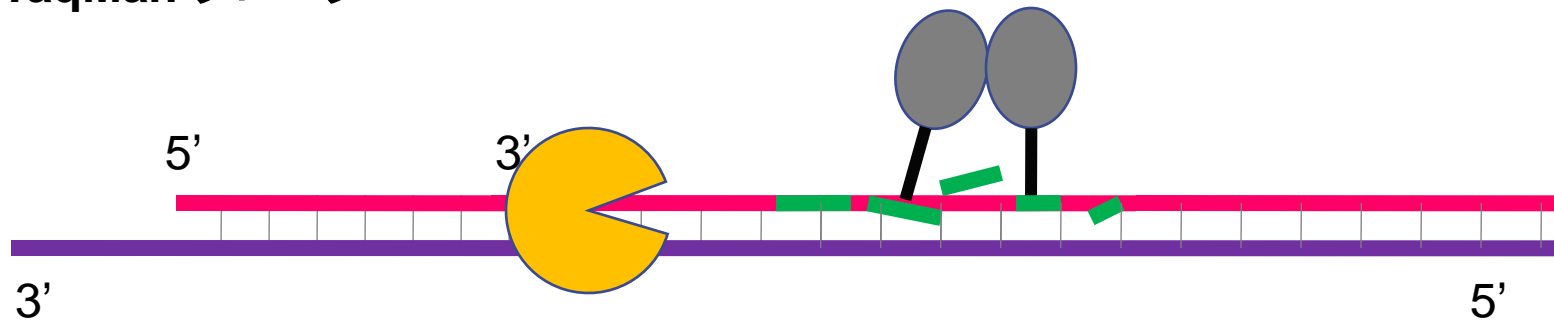
Exciton primer in SmartAmp



## TaqManプローブによる検出



TaqMan プローブ





## TaqMan

## Eprimer™

DNA 精製

必要

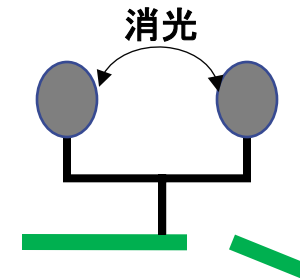
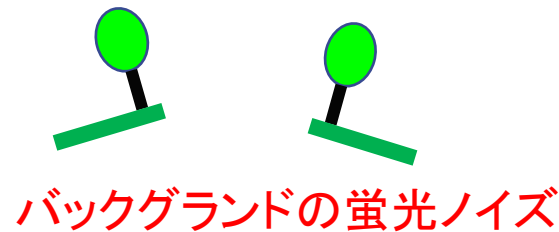
不要

バックグラウンド  
発光のトリガー

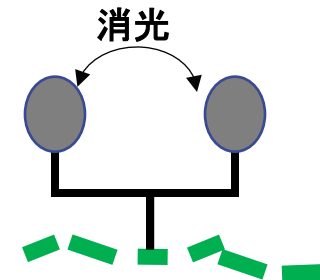
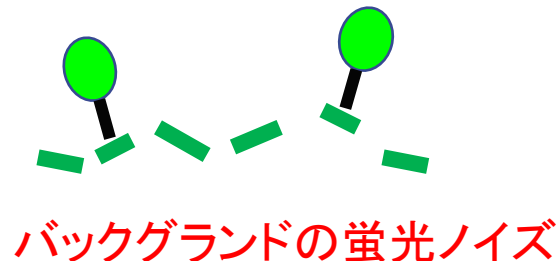
TaqManプローブの分解

対象核酸とエキシトンプライ  
マーのハイブリダイゼーション

エンドヌクラーゼ  
による分解



エクソヌクラーゼ  
による分解



## TaqMan

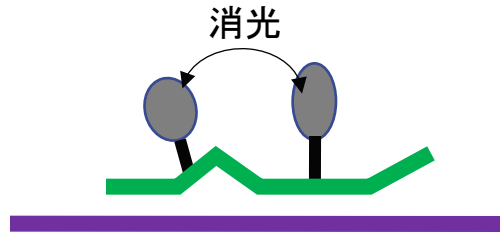
## Eprimer™

ポリメラーゼ

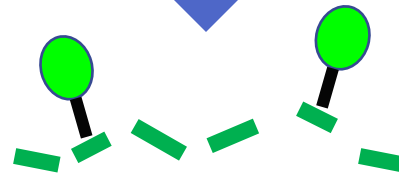
5' エクソヌクレアーゼ活性があるポリメラーゼ

鎖置換活性があるポリメラーゼ

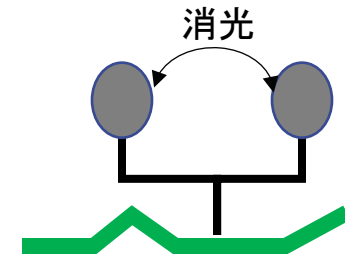
非特異的ハイブリダイゼーション



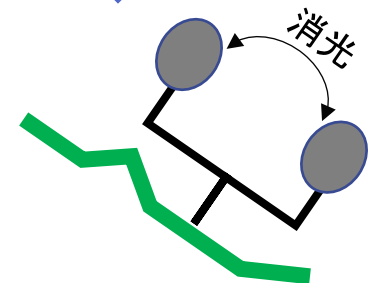
5' エクソヌクレアーゼ活性があるポリメラーゼ



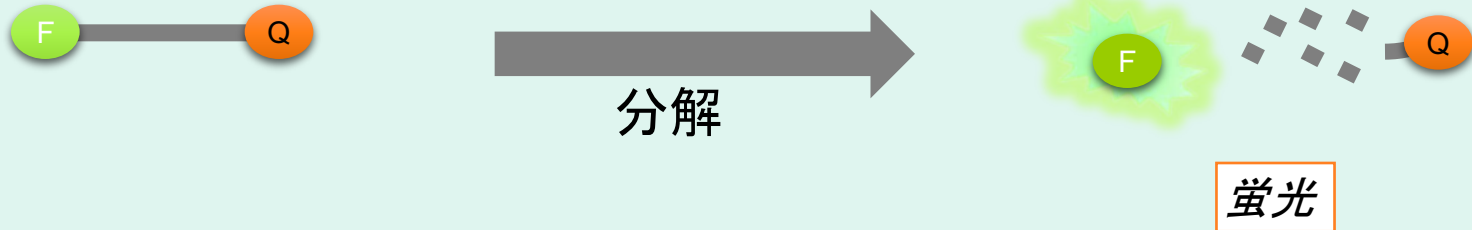
バックグラウンド蛍光ノイズ



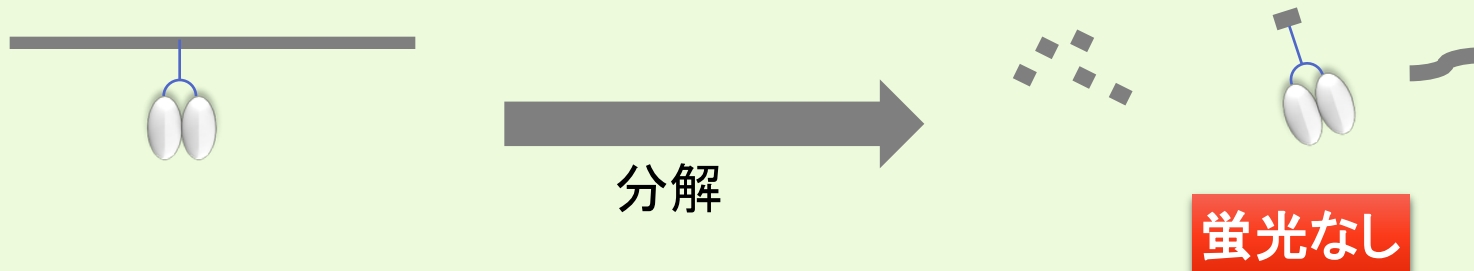
鎖置換活性があるポリメラーゼ



### TaqManプローブの分解



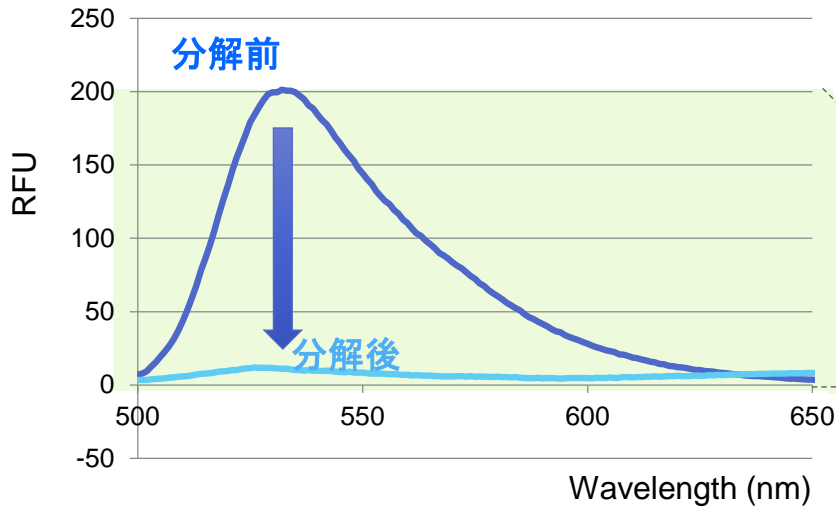
### Eprobe®の分解



# TaqMan vs Eprobe®

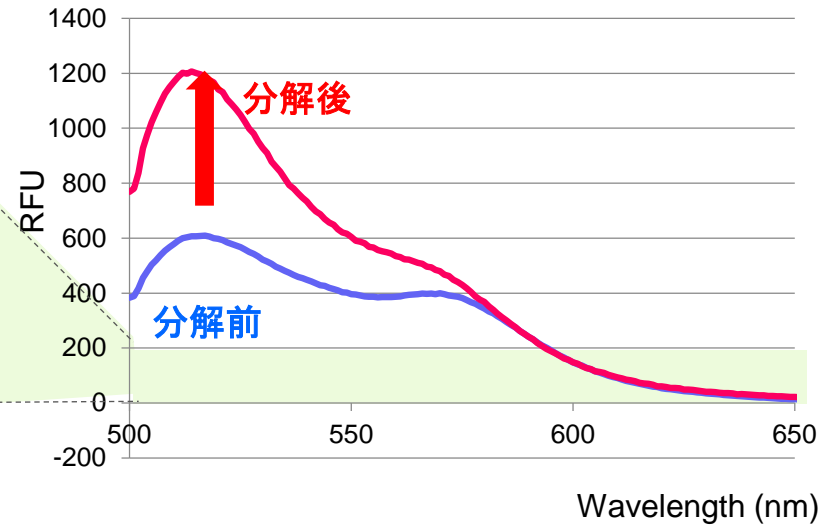
## 長期保管後のバックグラウンドノイズ発生の比較

**Eprobe®**

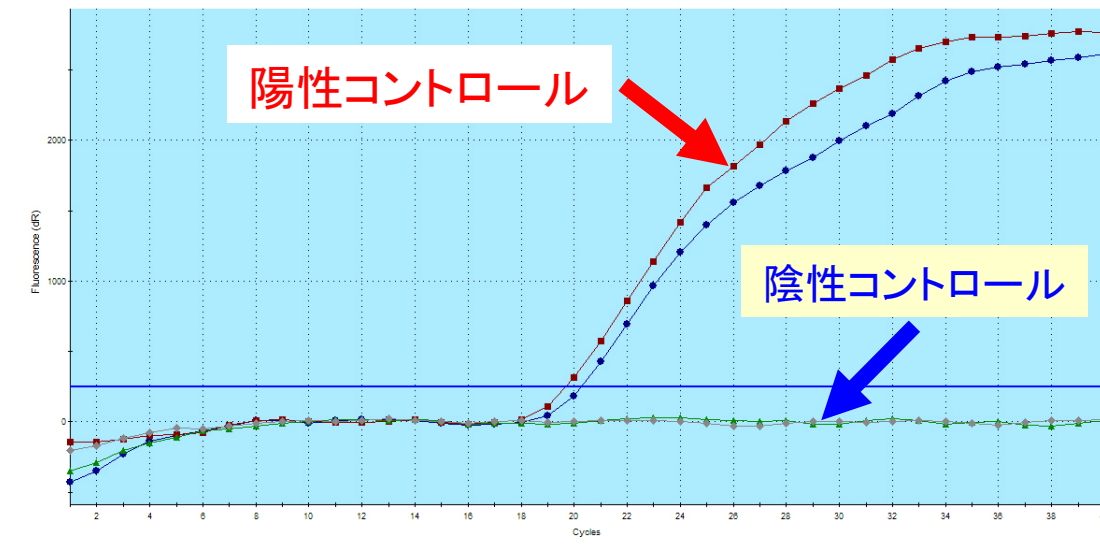


バックグラウンドノイズは分解後に減少

**TaqMan プローブ**



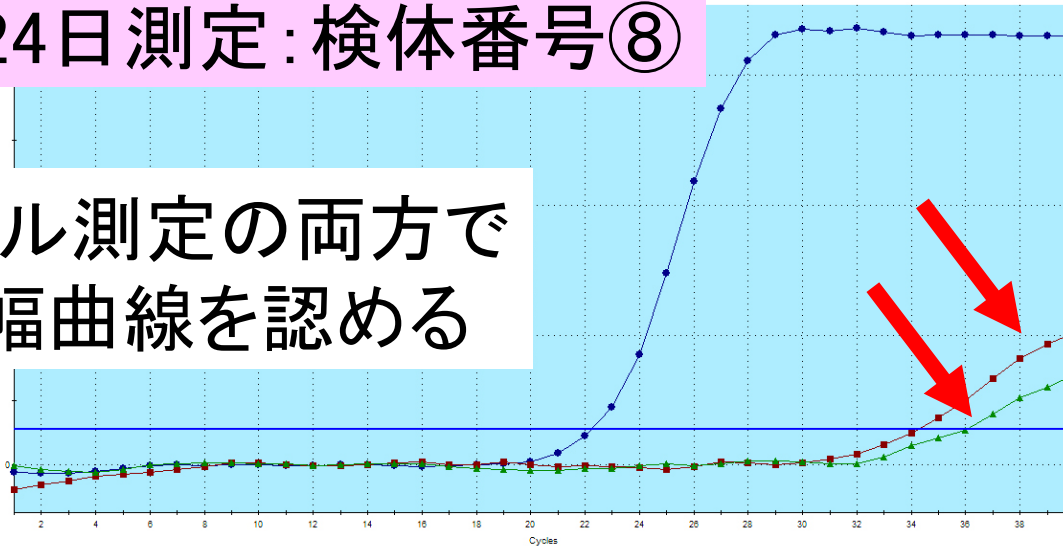
バックグラウンドノイズが分解後に増大



次の検体の増幅曲線は陽性、それとも陰性？

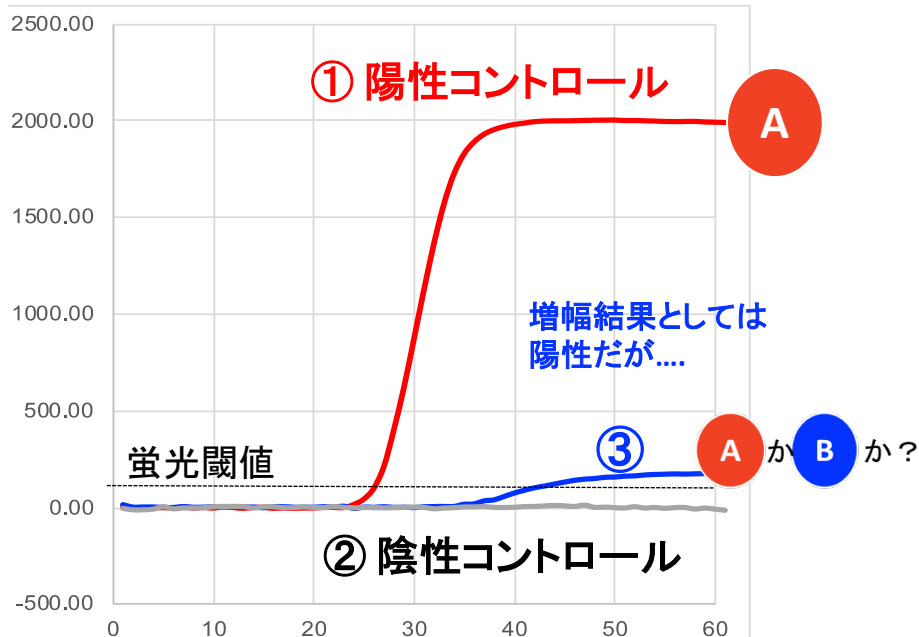
6月24日測定：検体番号⑧

ダブル測定 of 両方で増幅曲線を認める



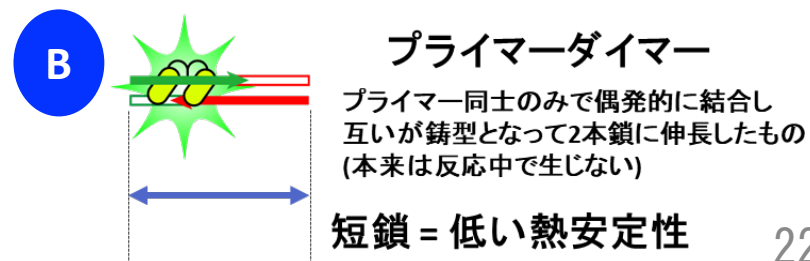
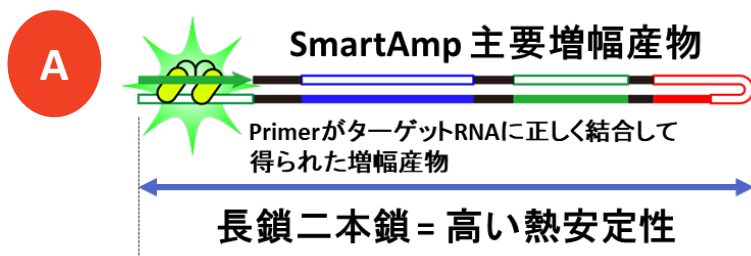
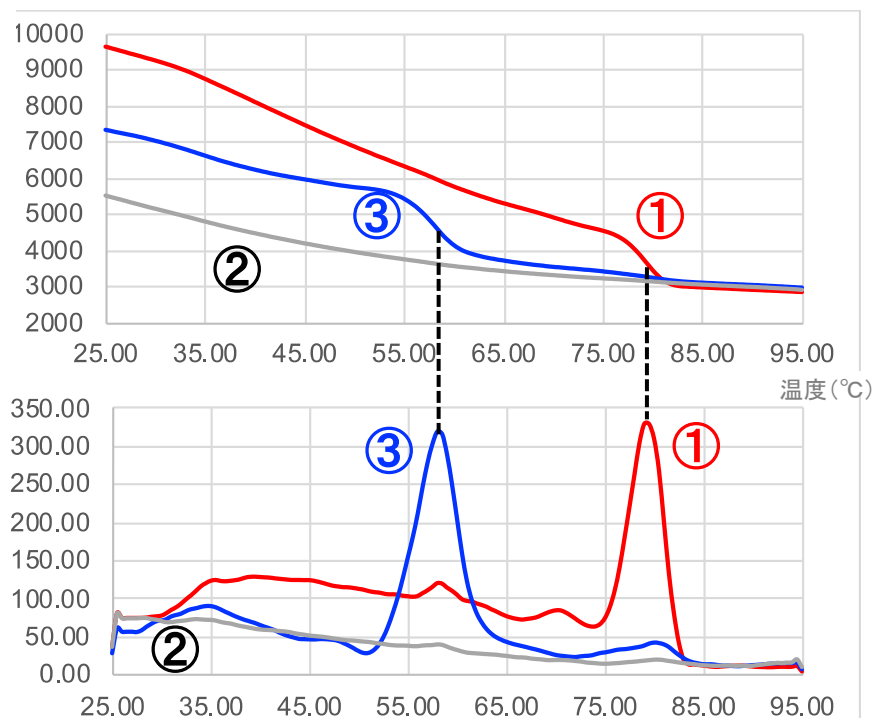
## 陽性／偽陽性の鑑別 —SmartAmp + 融解曲線解析—

### Step 1: SmartAmp反応 (核酸増幅)



核酸増幅反応に伴う蛍光の有無だけで判断しようとした場合、③の結果は、蛍光強度が低いながらも増幅が認められているため、陽性と判断すべき。増幅後の融解曲線を観察すると、③においては明らかに陽性コントロールと異なる温度に融解曲線の変化点が認められた。

### Step 2: 融解曲線解析 (SmartAmp反応後)



# 次の検体の増幅曲線は陽性、それとも陰性？

6月24日測定：検体番号⑧

ダブル測定のうち方(赤)で増幅曲線を認める

増幅曲線

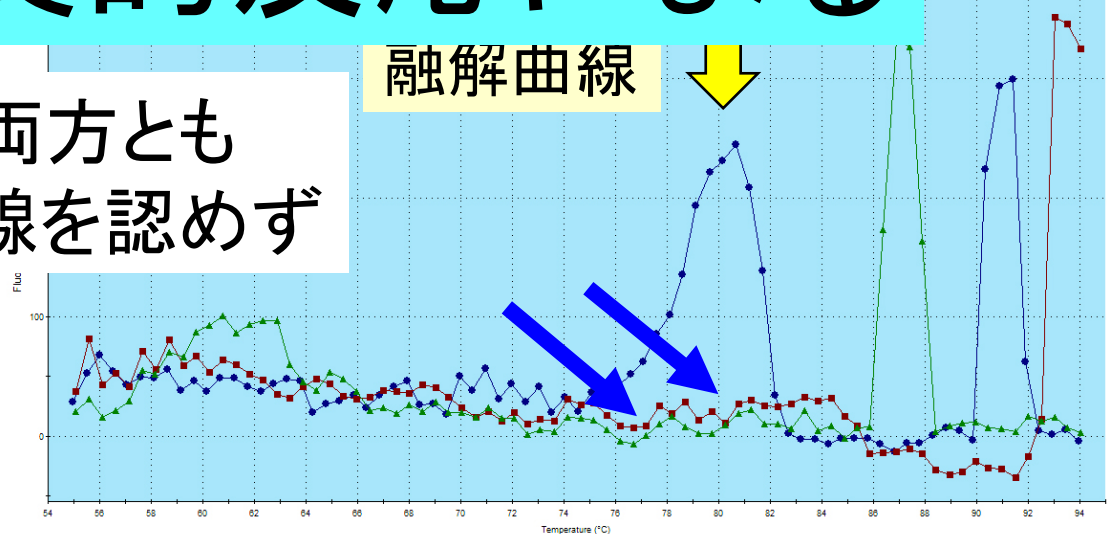
## 判定：陰性

## 非特異的反応による

6月24

ダブル測定のうち方とも特異的な融解曲線を認めず

融解曲線



### 陽性／偽陽性の判定

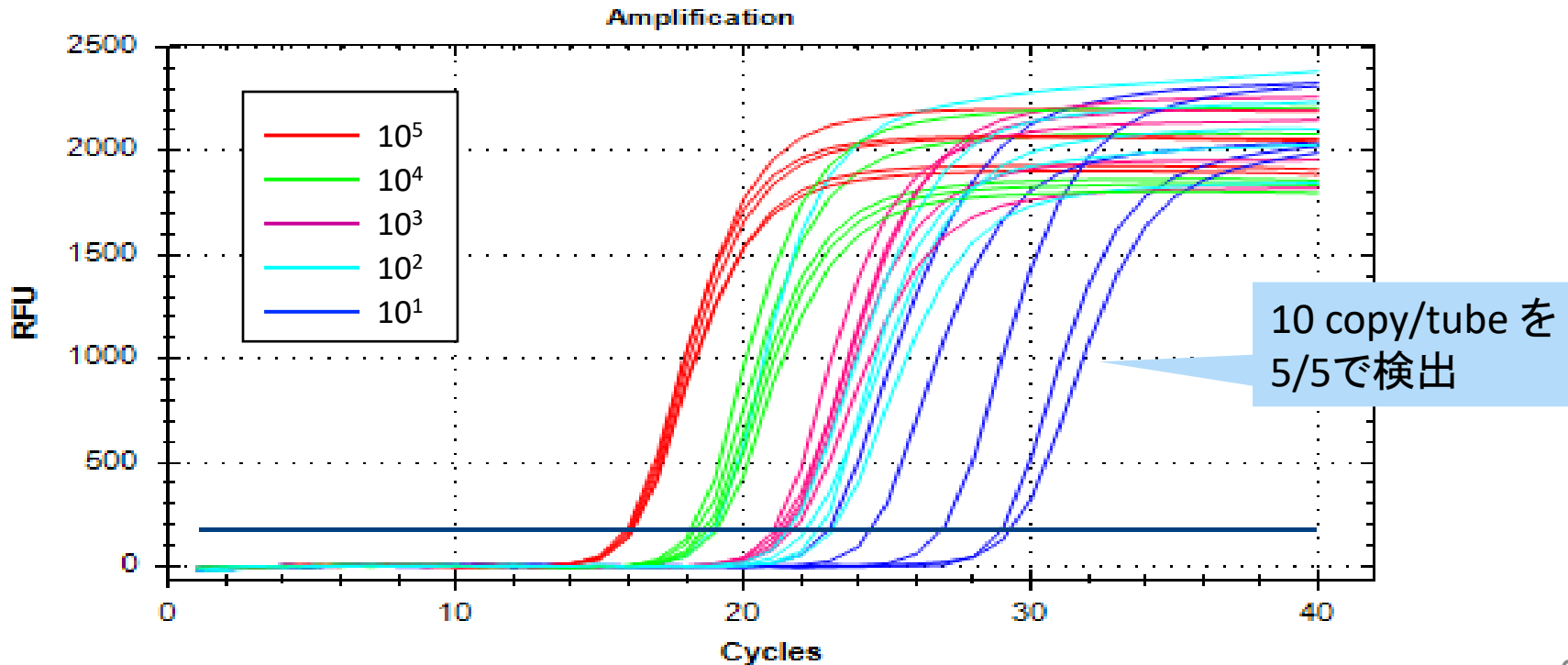
増幅反応検出法	TaqMan PCR法	Eprimer-SmartAmp法
融解曲線解析	不可	可能
非特異反応の評価	不可	融解曲線解析で評価し排除可能
最終判定	増幅曲線のみで判定	増幅曲線と融解曲線解析で判定
偽陽性時対応	再検するのみ	陽性/偽陽性の鑑別可能



# 新型コロナウイルスSmartAmpキットの チューブ当たりの検出感度とスワブ当たりの検出感度

---

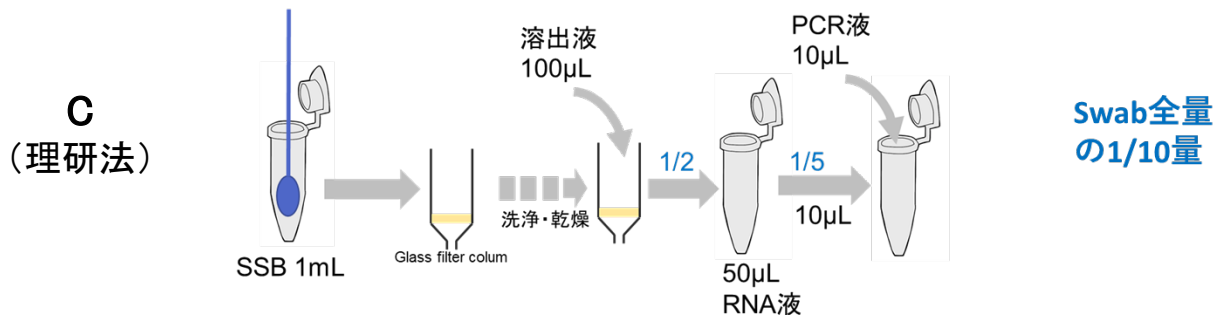
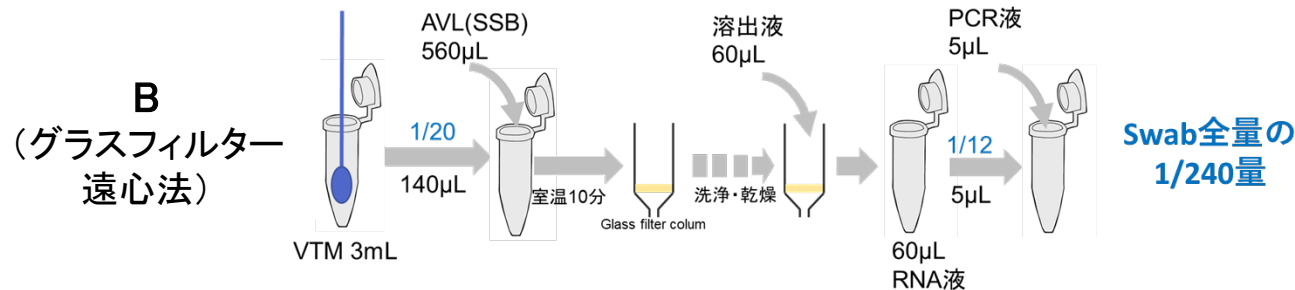
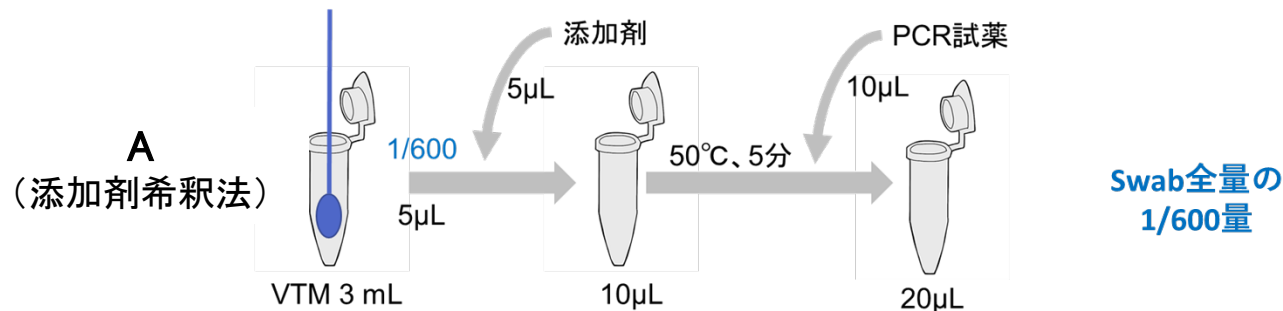
- ① 処理所要時間(試薬)  
一般のPCRが必要とする1~2時間にくらべ、速い。SmartAmpは、陰性判定時間30分(薬事的には40分)
- ② 1反応チューブ内の検出ウイルス数。  
薬事上のLOD(最低感度試験)50コピー/tube(実質20~25コピー)



## 感度と簡便さはトレードオフの関係（鼻腔スワブ）

**1本のスワブ（綿棒）にあたりの感度が重要**

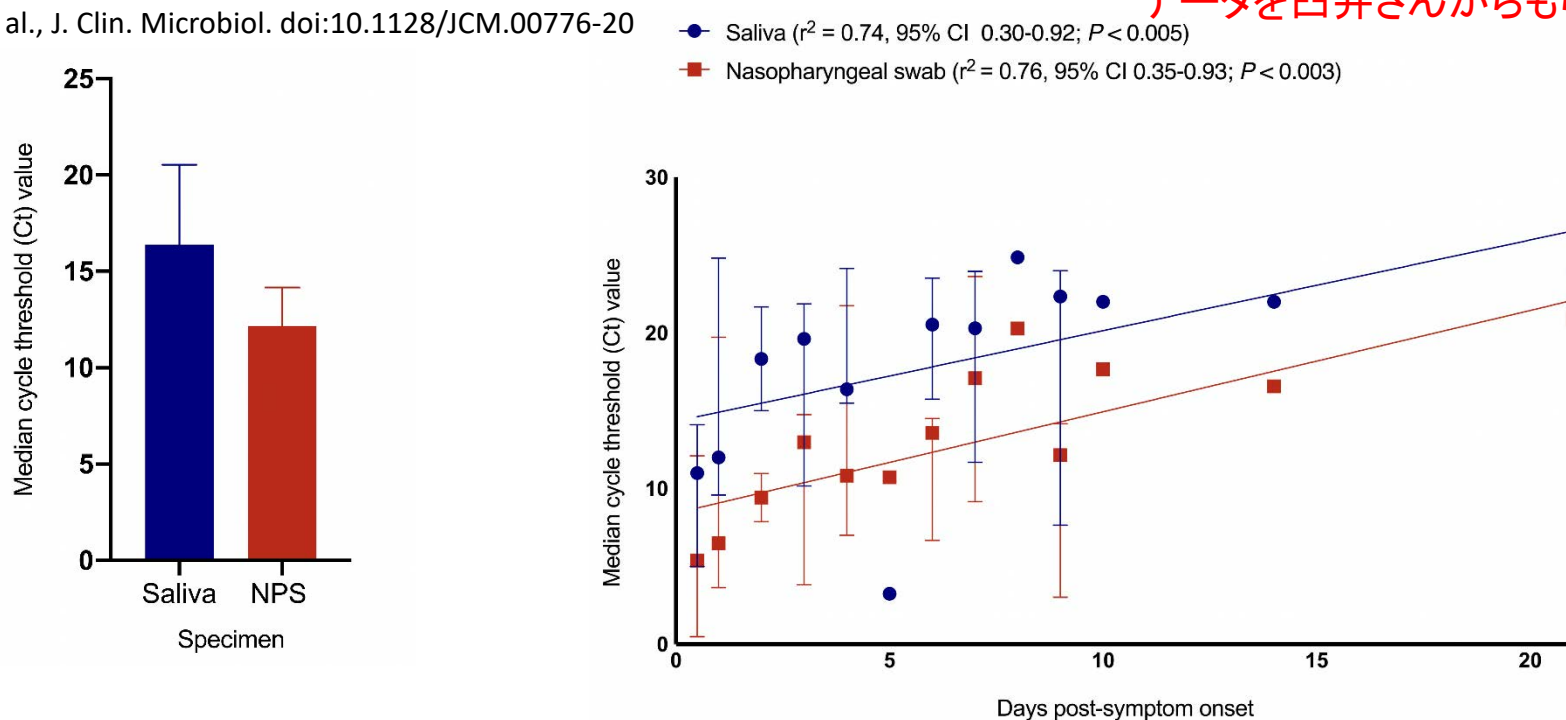
添加剤希釈法による前処理は、1検体から採れるウイルスの大部分を捨てていること（1/600量を計測）になる。1スワブ当たりの感度が非常に悪い。（但し、1チューブ（well）当たりの感度は良い）。RIKENの前処理法は、1/10量を計測しており、1スワブ当たりの感度が良い（希釈法の60倍）



## Saliva as a non-invasive specimen for detection of SARS-CoV-2

唾液のほうが感度が低いという  
データを臼井さんからもらう

Williams, E. et al., J. Clin. Microbiol. doi:10.1128/JCM.00776-20



**Figure. (A)** Median cycle threshold (Ct) value in nasopharyngeal swabs and saliva specimens positive for SARS-CoV-2. Abbreviations: NPS, nasopharyngeal swab.

**(B)** Median cycle threshold (Ct) value and days from symptom onset in nasopharyngeal swabs and saliva specimens positive for SARS-CoV-2. Datapoints represent the median Ct value from patient samples and bars represent the interquartile range. The slope represents the line of best fit.

**Sensitivity of SARS-CoV-2 from Saliva of positive-patients were lower than nasopharyngeal swab ( $\Delta Ct_{Saliva-NPS} = \text{ca. } 3 \rightarrow 2^3 = 8 \text{ folds}$ )**

## 唾液を用いたPCR検査に係る厚生労働科学研究の結果について

【補助金/研究事業】 令和2年度厚生労働行政推進調査事業補助金/新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業

【研究課題名】 一類感染症等の患者発生時に備えた臨床的対応に関する研究

「新型コロナウイルス感染症の診断における鼻かみ鼻汁及び唾液の有用性の検討」

【研究代表者】 国際医療福祉大学成田病院 加藤康幸

【研究分担者】 自衛隊中央病院 感染症内科 今井一男

【研究目的】 唾液を用いたPCR検査を、COVID-19患者の診断に用いることが可能かにつき検証を行う。

【研究方法】 COVID-19と診断され自衛隊中央病院に入院した患者の凍結唾液検体（発症後14日以内に採取された88症例）を用いて、PCR法<sup>\*1</sup>、ダイレクトPCR法、LAMP法<sup>\*2</sup>を外部機関<sup>\*3</sup>で行い、鼻咽頭ぬぐい液を用いたPCR検査結果との一致率を検証した。

【結果】

・発症から9日以内の症例では、鼻咽頭ぬぐい液と唾液との結果に高い一致率が認められた。

発症日からの日数（日ごとの陽性例）

			発症日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日	11日	12日	13日	14日	合計		
唾液	鼻咽頭ぬぐい液	行政検査PCR法（保健所）	①陽性例	2	1	5	4	8	17	11	8	5	10	8	3	3	3	88	
		PCR法（感染研法）	②陽性例 一致率（=②/①）	2 100%	1 100%	4 80%	4 100%	7 87.5%	16 94.1%	10 90.9%	8 100%	5 100%	6 60%	5 62.5%	3 100%	1 33.3%	2 66.7%	2 66.7%	74 84.1%
	PCR法（Cobas8800）	③陽性例	1	1	4	4	6	16	11	8	5	7	5	3	1	2	2	74	
		一致率（=③/①）	50%	100%	80%	100%	75%	94.1%	100%	100%	100%	70.0%	62.5%	100%	33.3%	66.7%	66.7%	84.1%	
	ダイレクトPCR法	SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit	④陽性例 一致率（=④/①）	0 0%	1 100%	4 80%	4 100%	7 87.5%	14 82.4%	10 90.9%	8 100%	5 100%	7 70%	5 62.5%	2 66.7%	1 33.3%	1 33.3%	1 33.3%	69 78.4%
		2019 新型コロナウイルス検出試薬キット	⑤陽性例 一致率（=⑤/①）	0 0%	1 100%	4 80%	4 100%	7 87.5%	15 88.2%	11 100%	8 100%	5 100%	6 60%	6 75%	2 66.7%	1 33.3%	2 66.7%	2 66.7%	72 81.8%
	PCR法	新型コロナウイルス検出キット	⑥陽性例 一致率（=⑥/①）	0 0%	1 100%	4 80%	3 75%	6 75%	12 70.6%	10 90.9%	8 100%	4 80%	5 50%	4 50%	3 100%	0 0%	0 0%	0 0%	60 68.2%
		SARS-CoV-2 Detection Kit	⑦陽性例 一致率（=⑦/①）	0 0%	0 0%	4 80%	4 100%	6 75%	14 82.4%	11 100%	8 100%	5 100%	5 50%	4 50%	2 66.7%	0 0%	0 33.3%	1 33.3%	64 72.7%
	LAMP法（LoopampEXIA）																		

\*1) 感染研法:リアルタイムPCR 装置(ABI7500, QS5, QS7)、Qiasymphony System/Virus RNA抽出キットを用いて、感染研マニュアル通りのPrimeセット2領域およびProbe、酵素を用いて実施、Cobas8800: Cobas SARS-CoV-2を用いて添付文書に準じ実施。\*2: LooampEXIA®、Qiasymphony System/Virus RNA抽出キット、Loopamp 新型コロナウイルス2019(SARS-CoV-2)検出試薬キットを用いて、添付文書に準じ実施。\*3: 株式会社エスアールエル

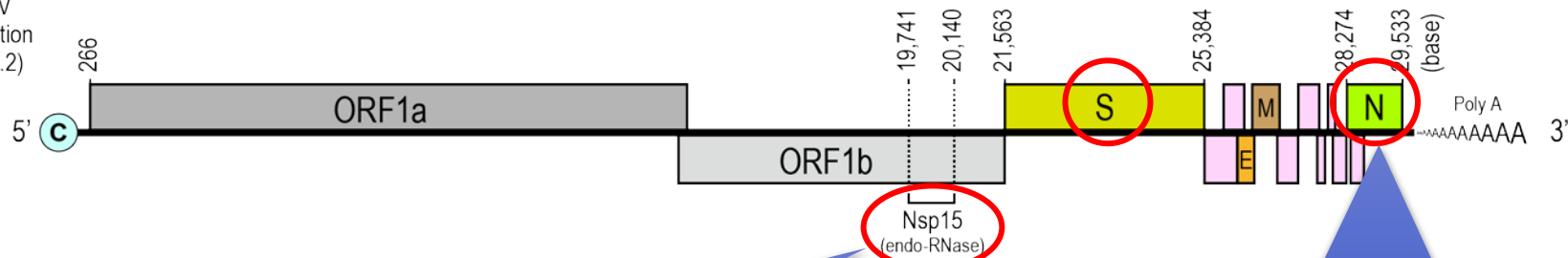
# 新型コロナウイルスSmartAmpキットと ウイルスゲノム変異

---

## 新型コロナウイルスの変異が及ぼす検査キットへの影響

### Complete

WuHan-CoV  
genomic position  
(NC\_045512.2)



変異数 2,448  
解析対象シーケンスデータ数 80,718  
変異率 3.03%

変異数 47,872  
解析対象シーケンスデータ数 80,718  
変異率 59.31%

Nsp15領域に存在するSmartAmpのプライマーデザイン領域より、その上流・下流を均等に含む400bpの範囲について、現時点における新型コロナウイルスのゲノムデータ全数80718配列の変異の数をカウントし、それをデータ全数で除した値を変異率とした。

N領域に存在するN2-PCRプライマーのデザインを行ったゲノム領域より、上流・下流を均等に含む全長400bpの範囲について、現時点における新型コロナウイルスのゲノムデータ全数80718配列の変異の数をカウントし、それをデータ全数で除した値を変異率とした。

Smart Amp法(等温増幅法)は、  
PCR蛍光リーダーと等温蛍光リーダーの双方に使える

---



新型コロナウイルスSmarAmpキットは、ほとんどのリアルタイムPCR蛍光リーダーに使用でき、現在検疫で用いられる全機器の適用可能



# 検査者の安全の確保と検査の拡大

---

## 国立感染症研究所内での新型コロナウイルスSARS-CoV-2取り扱いについて

印刷

詳細

Published: 2020年1月30日

国立感染症研究所 バイオリスク管理委員会  
2020年1月30日

以下のような所内ルールが取り決められましたのでお知らせします。所内のバイオリスク管理委員会で議論した結果、当該ウイルスの所内での取り扱いについて以下の2点が決定された。

1. 新型コロナウイルス2019-nCoVの病原体の取り扱いは、BSL3/ABSL3取り扱いとする。
2. 新型コロナウイルス2019-nCoV感染疑い患者由来の臨床検体はBSL2取り扱いとする。

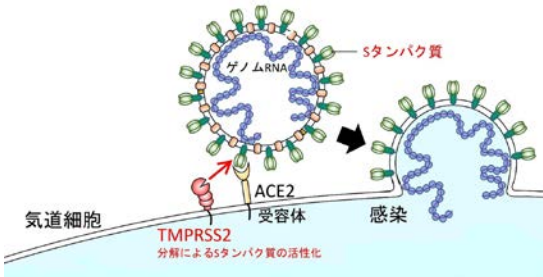
事務連絡  
令和2年3月5日

各 { 都道府県  
保健所設置市  
特別区 } 衛生主管部（局） 御中

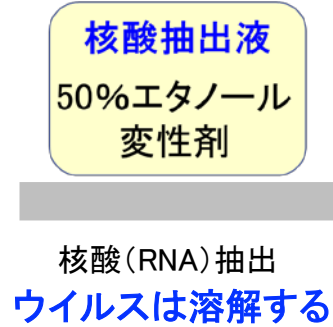
厚生労働省医政局地域医療計画課  
医療関連サービス室

- 3 新型コロナウイルスの病原体を取り扱う施設は、BSL3 及び ABSL3 の基準を満たすこと。新型コロナウイルス感染症の疑いがある患者由来の検体を取り扱う施設は、BSL2 の基準を満たすこと。なお、感染の危険のある検体は取り扱わず、不活化された検体を用いて核酸抽出やPCR検査を行う場合は、BSL3、ABSL3 又はBSL2の基準を満たす必要はない。

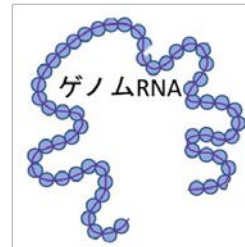
COVID-19ウイルスからのRNA抽出と  
ウイルスの感染力喪失 (不活性化)



**感染力あり**

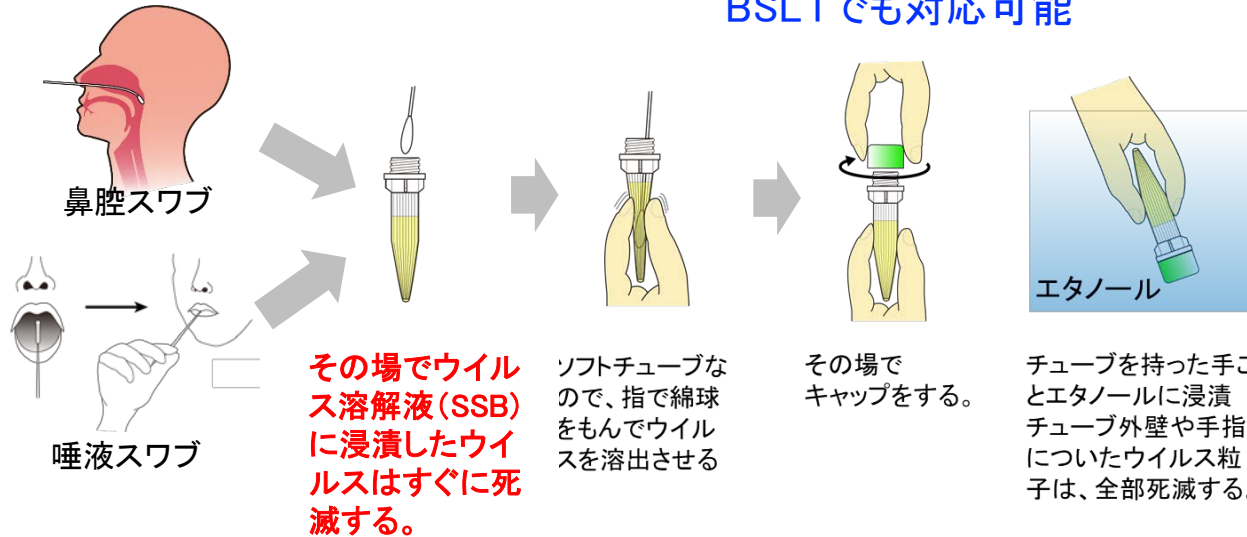


COVID-19ウイルス  
のRNA



**感染力なし**

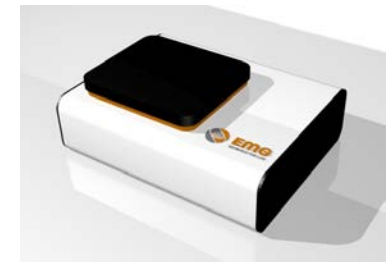
RIKEN-DNAFORMの前処理方法 (ウイルスの不活性化)  
BSL1でも対応可能



作業の全自動化



全自動前処理装置  
LifeBot 96



等温核酸増幅反応装置

## 顕在化した新たな課題(オンサイト検査、出張検査)

新型コロナウイルス感染拡大防止対策の一つとして、「ダイヤモンド・プリンセス船内に検査室をすぐに作ればよかったのに」という反省から、遠心機やPCR蛍光リーダーのような大型機器が必要な検査室を、もっと持ち運びができるようなものにならないかというのが、ポータブル検査装置の最初の発想。



## 「検査の神奈川モデル」(補正予算、県予算による実証研究)

保健所

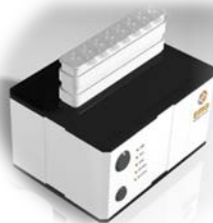
医療機関



- 検査の中心を保健所から医療機関へ
- 大規模クラスター発生回避(介護施設などで陽性者が出たら、すぐに現地で入所者・職員の検査を行う)
- 3崩壊『医療崩壊』、『検査崩壊』、『介護崩壊』の回避

### 前処理装置

- **遠心操作が不要**  
市販されているRNA精製キットは、遠心法を使っているが(遠心機が必要)、本装置では吸引法を採用
- グラスフィルターを使った濃縮技術による、**標的核酸の高い回収率**  
従来の方法では、検体中に含まれる標的核酸の1/600~1/200量しか使えないが、本装置では検体に含まれる全量の1/10量を使うことが可能
- 迅速性  
従来のRNA精製キットの必要時間:  
45分~1時間  
本装置:**6.5分以内に8検体**を処理
- **8検体同時処理**が可能
- 小型スーツケースに本体とアクセサリすべてを収納でき、**持ち運びが容易**



### 核酸増幅蛍光検出装置

- 等温増幅法の利点を活かした**小型**デザイン、低コスト化を実現
- 扱いやすい**8連チューブフォーマット**
- 3つのモジュールで**同時に24検体**まで処理可能
- 3つのモジュールに**ランダムアクセス**可能
- 小型スーツケースに本体とアクセサリすべてを収納でき、**持ち運びが容易**



## ●被災者救護



大雨・台風・地震などの自然災害の自衛隊派遣時における

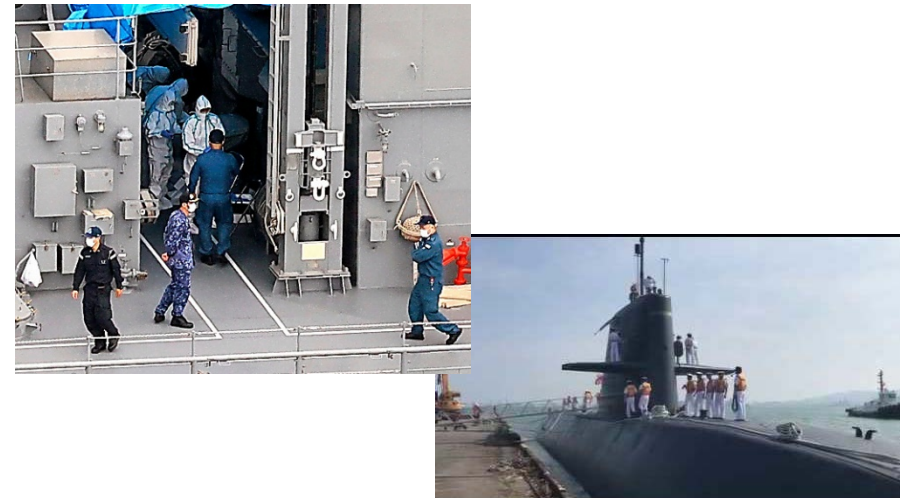
- 隊員全員の**出発時検査**
- 発熱等の症状がある**救護者の即時検査**
- 派遣中の**隊員随時検査**

出典:  
<https://news.yahoo.co.jp/articles/f71b2a00a433602dd5ffb96807954b2310bc86d1>  
[https://www.nikkei.com/article/DGXLASJC06H0A\\_W7A700C1000000/](https://www.nikkei.com/article/DGXLASJC06H0A_W7A700C1000000/)

## ●乗艦時、艦内検査

艦艇派遣時における

- 乗艦時の**隊員全員検査**
- 大規模感染を防ぐ**艦内での速やかな現場検査**



出典:  
<https://digital.asahi.com/articles/DA3S14470866.html>  
<https://www.youtube.com/watch?v=99nuX2GwAOs>

## 【日本代表】U-19代表選手に新型コロナ陽性反応。トレーニングキャンプを中止

8/1(土) 22:27 配信 3



Soccer Magazine  
**サッカーマガジン**  
Web



日本サッカー協会（JFA）は8月1日夜、急きょオンラインで記者会見を開き、U-19日本代表候補選手1名から新型コロナウイルスの陽性反応があり、感染が確認されたと発表した。この結果を受けて1日から5日まで予定していたトレーニングキャンプは中止となった。

### 集合後の検査で感染が判明

U-19日本代表候補選手たちは、本日8月1日から5日までトレーニングキャンプを行なう予定になっていたが、集合時に参加者全員に対して実施したSmartAmp法およびPCR検査の結果、選手1名から新型コロナウイルスの陽性反応が認められた。

<https://news.yahoo.co.jp/articles/f34418820e4240dcaeb804c6b5442f82965c2a7a>

## Jリーグ、コロナ新検査「スマートアンプ法」導入を検討

2020.8.4 06:50 | スポーツ | サッカー

反応



Jリーグ 村井満チェアマン

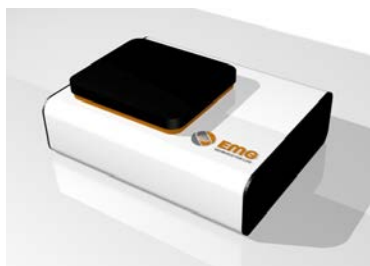
新型コロナウイルスの感染再拡大で、サッカーJリーグでも選手やスタッフらの感染が相次ぐ。Jリーグは2週に1度のPCR検査を行っているが、結果判定が遅れ、2日のJ2大宮-福岡が試合開始直前に急遽（きゅうきょ）中止になるなど混乱が続く。選手やサポーターが安心してサッカーを楽しめる環境作りを目指し、Jリーグは迅速に結果を得られる「スマートアンプ法」など新検査の導入検討を始めた。（五十嵐一）

<https://www.sankei.com/sports/news/200804/spo2008040001-n1.html>

## 全自動ロボット



全自動前処理装置  
LifeBot 96



等温核酸増幅反応装置

### <意義>

- 検査作業工程の自動化  
長時間作業によるヒューマンエラー防止
- 万が一の作業者の感染防止  
(すでにBSL1レベルであるが、、、)

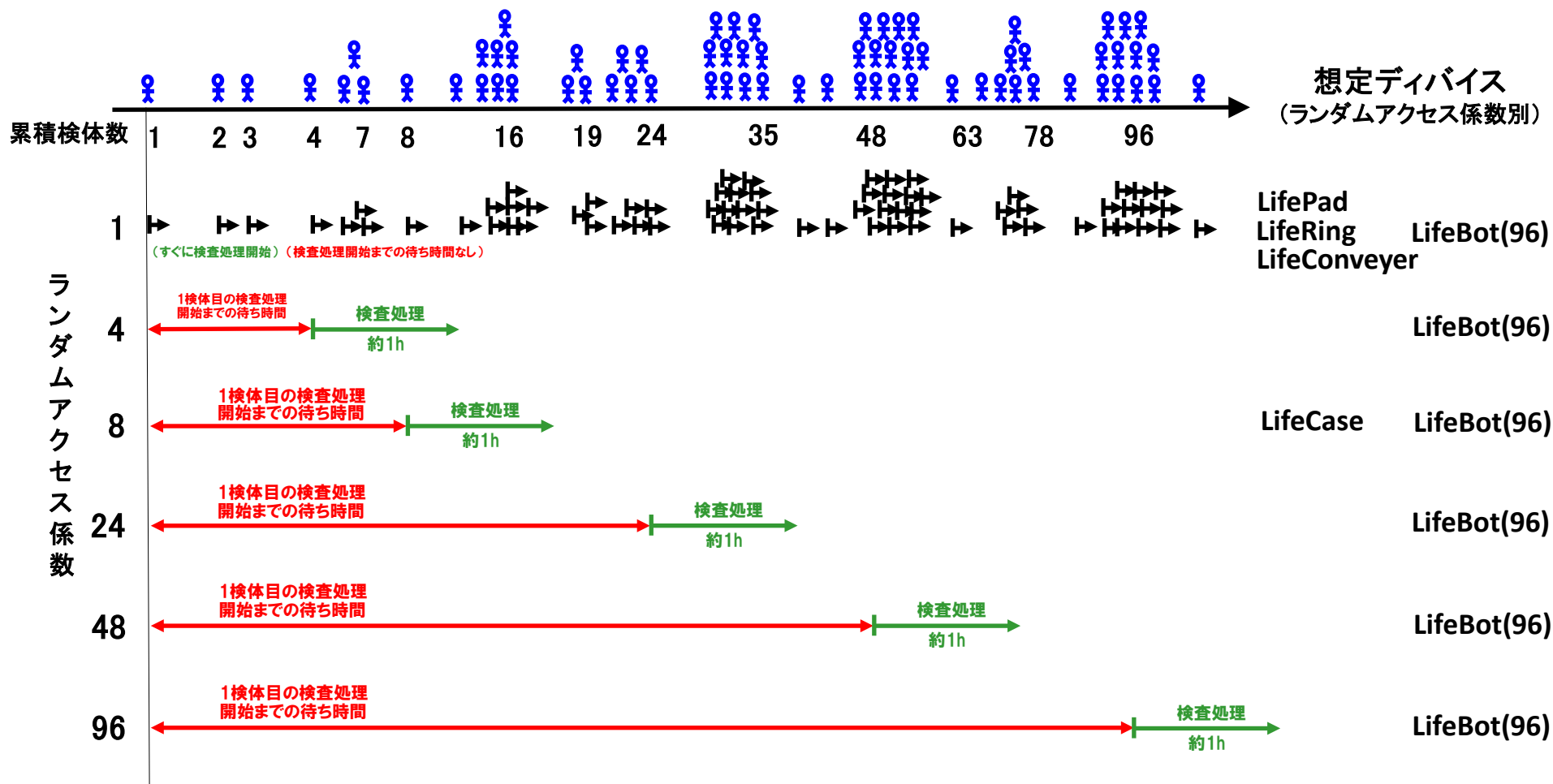
### <特徴>

- 検体から増幅反応液調整まで完全自動化
- クリーンエアシステム
- オートデキャッパーシステム
- バーコードリーダー搭載
- 8～最大96サンプルまでの任意の個数に対応
- 96の臨床検体から、96個の反応溶液を全自動で作るまで58～90分
- 核酸増幅反応装置(96x)



## ウイルス検査におけるランダムアクセスとは

(作業または機械1回がフルスペックを出すために収集すべき検体数)  
 (採取した検体を検査処理する時にまとめる数量)



機材 \ 項目	RNA精製	反応液調整	増幅反応	検出判定	融解曲線	ランダムアクセス係数	キャパシティ	項目数
LifeCase (portable) (発売中)	○	○	○	○	×	1~8	24/70分 48/100分	1 (6まで対応可)
LifeBot 24 (近日発売予定)	○	○	×	×	×	1~24	24/17分	1 (22まで対応可)
LifeBot 96 (近日発売予定)	○	○	×	×	×	8~96	96/58~90分	1 (94まで対応可)
LifeAmp 96 (近日発売予定)	×	×	○	○	×	8~96	96/30分	1 (94まで対応可)
LifeAmp 96 (with melting curve analysis) (近日発売予定)	×	×	○	○	○	8~96	96/30分 (融解曲線解析○○分)	1 (94まで対応可)
LifeLoupe (portable) (開発中)	×	×	×	○	×	1~6	6/10分	1 (6まで対応可)
LifeRing (portable) (開発中)	○	○	○	○	×	1	3/35分	8
LifePad (portable) (開発中)	○	○	○	○	×	1	1/35分	3
LifeConveyer (据置) (開発中)	○	○	○	○	○	1	1200/100分	1

LifeCase



LifeBot (96)



LifeLoupe



LifeRing



POCTのためのDesk-Top type とOTCのためのMobile typeの開発を行っている。

LifePad



特に、高齢化社会では、在宅看護のために医師の往診が増えてきた。このニーズに応えるために、携帯型プラットフォームの開発に着手している。

2020年8月5日 BS 1 「BS国際報道2020」

## 新型コロナ対策で、日本とロシア“医療協力”「スマートアンプ法」

<https://www.youtube.com/watch?v=sQGSCnLQsbQ&feature=youtu.be>

8項目の日露協力プランの成果として、スマートアンプ法による新型コロナ検査システムの開発が取り上げられた。



2020年6月24日 対ドイツ戦勝記念日軍事パレード

## Приехавший в Москву глава Киргизии не пошел на парад из-за коронавируса

モスクワに到着したキルギスタンの大統領、パレードに参加できず

コロナウイルスは、モスクワに到着したキルギスの指導者の代表団の2人のメンバーで検出されました。大統領はビシュケクに戻り、そこで自主隔離となります。



2020年7月14日

## Russia's sovereign wealth fund eyes virus-free airport hubs

MOSCOW, July 14 (Reuters) - Russia's sovereign wealth fund, the Russian Direct Investment Fund (RDIF), is undertaking a pilot project to create coronavirus-free airport hubs in three countries, its Chief Executive Kirill Dmitriev said on Tuesday.

モスクワ、7月14日(ロイター)–ロシアの直接投資基金(RDIF)は、3か国で**コロナウイルスを含まない空港ハブ**を作成するパイロットプロジェクトを実施していると、キリル・ドミトリエフ最高経営責任者(CEO)が述べた。

約74万件のコロナウイルスの確定症例があり、ロシアは独自の検査システムを開発し、多数の抗コロナウイルス薬に取り組んでいる。

## Newsweek WHAT RUSSIA GOT RIGHT ABOUT THE CORONAVIRUS—AND WHAT IT CAN SHARE WITH THE WO... ≡

OPINION

### What Russia Got Right About the Coronavirus—and What It Can Share With The World | Opinion

KIRILL DMITRIEV

ON 7/14/20 AT 5:02 AM EDT

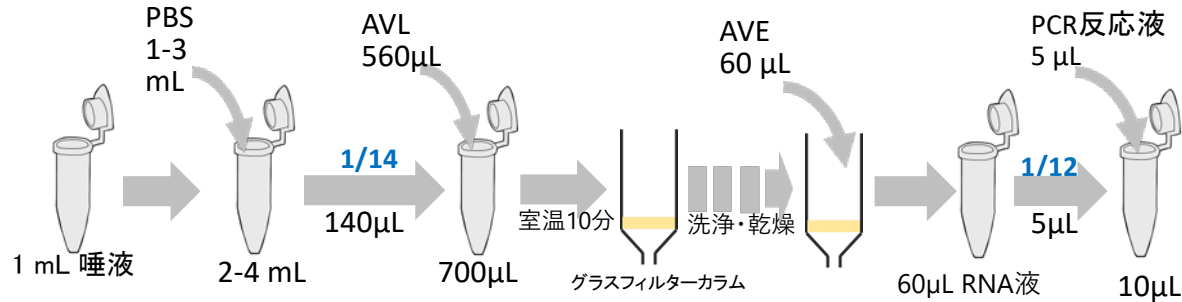


ロシアは、ウイルスの検査、効率的な医薬品の製造における世界的なリーダーの1つであり、独自のワクチンの大量生産に急速に近づいている。RDIFはEMGブランドの下で、ロシアと日本の試験システムを開発した。このシステムは既存のPCRテストシステムのスループット容量を3~4倍に増加できる。この試験システムは、ロシアの最大の産業企業の多くだけでなく、オフィスやサッカー競技会での潜在的な発生を迅速に特定して防止するのにすでに使用されており、また、国外にも1300万反応を超えるキットを提供した。現在、観光活動を安全に再開できるウイルスのない空港ハブを作成するために、3か国でパイロットプロジェクトを実施している。



## 感度と簡便さはトレードオフの関係（唾液の前処理）

### 感染研 マニュアル

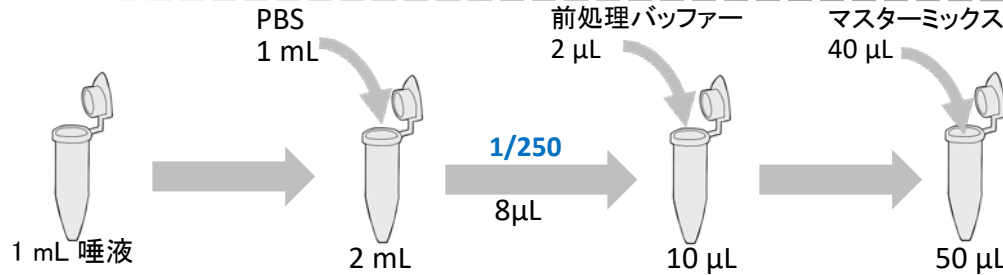


患者検体に含まれる  
RNAが1000コピー  
/1mLの時

増幅反応に持ち込むRNAは  
**6 copy**

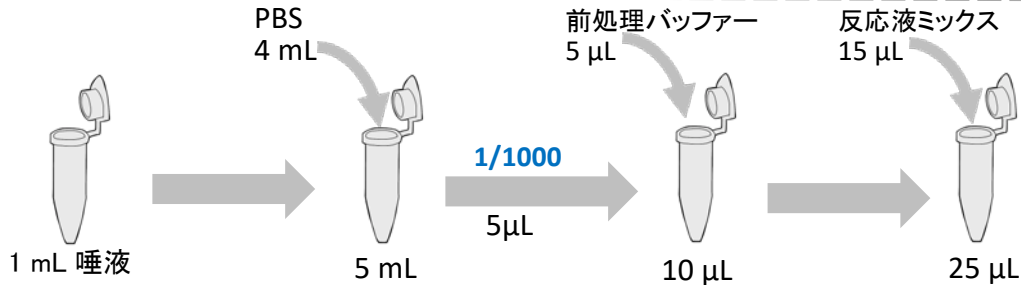
\* 1mLの唾液に1mLのPBS  
を加えた場合

### Takara-Bio



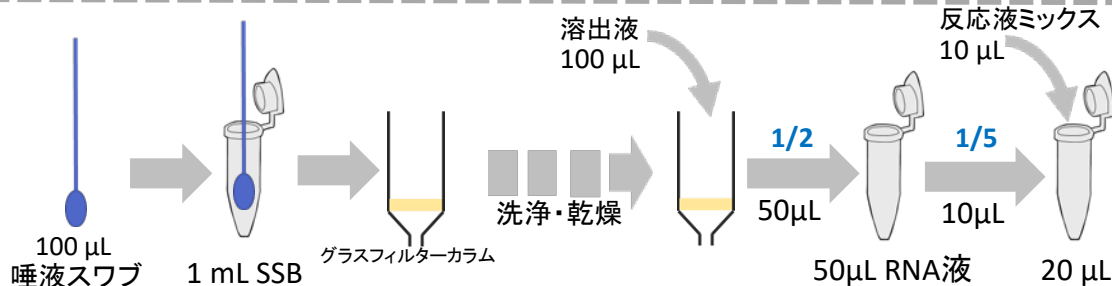
増幅反応に持ち込むRNAは  
**4 copy**

### Shimadzu



増幅反応にかかるRNAは  
**1 copy**

### RIKEN



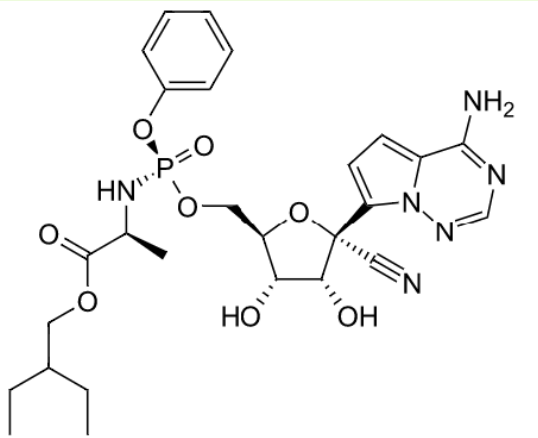
増幅反応にかかるRNAは  
**10 copy**

## 新型コロナウイルス治療薬の主な候補

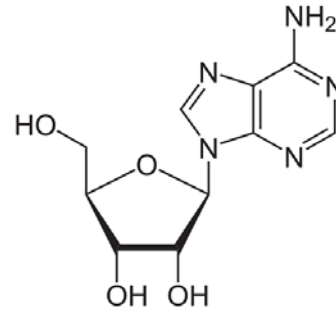
開発時に想定した対象疾患	名称、カッコ内は手掛ける主な製薬会社	治療効果の主な仕組み
<b>エボラ出血熱治療薬</b>	レムデシビル (米ギリアド・サイエンシズ)	ウイルスの複製阻害
<b>抗インフルエンザ薬</b>	アビガン(富士フイルムHD)	ウイルスの複製阻害
<b>抗HIV薬</b>	カレトラ(米アッヴィ)	ウイルスの拡大を阻害
<b>すい炎治療薬</b>	フサン	セリンプロテアーゼ阻害

[https://www.nikkei.com/article/DGXMZO58240640Y0A410C2MM8000/?n\\_cid=SNSTW005](https://www.nikkei.com/article/DGXMZO58240640Y0A410C2MM8000/?n_cid=SNSTW005)

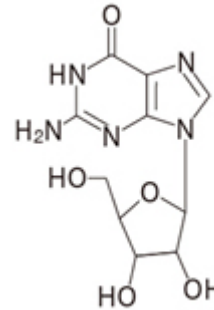
ヌクレオチドと似た構造を持つ化学物質で酵素をだます



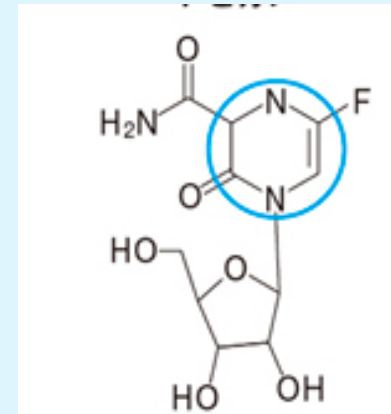
レムデシビル(ベクルリー)



アデノシン



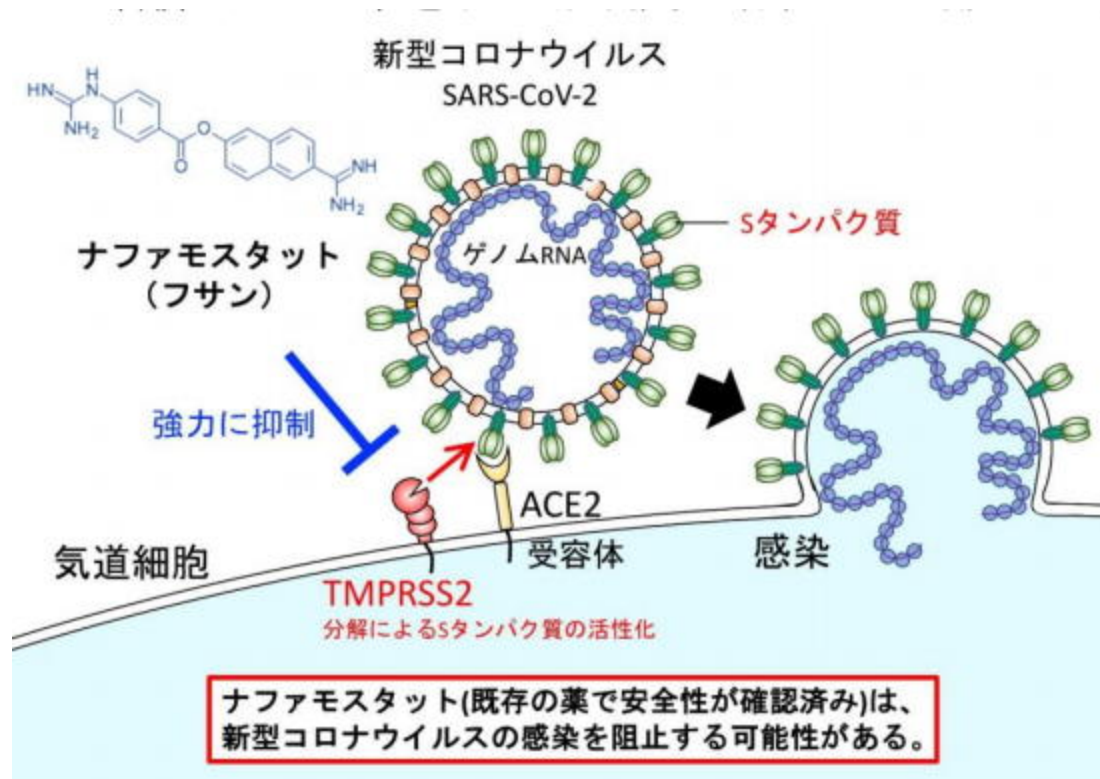
グアノシン



ファビピラビル  
(アビガン)

<https://www.jmedj.co.jp/journal/paper/detail.php?id=14305>  
<https://note.com/tak1974/n/n18b3fe8adca8>

## ウイルスの細胞内への侵入を抑制



出典：東京大学、2020年

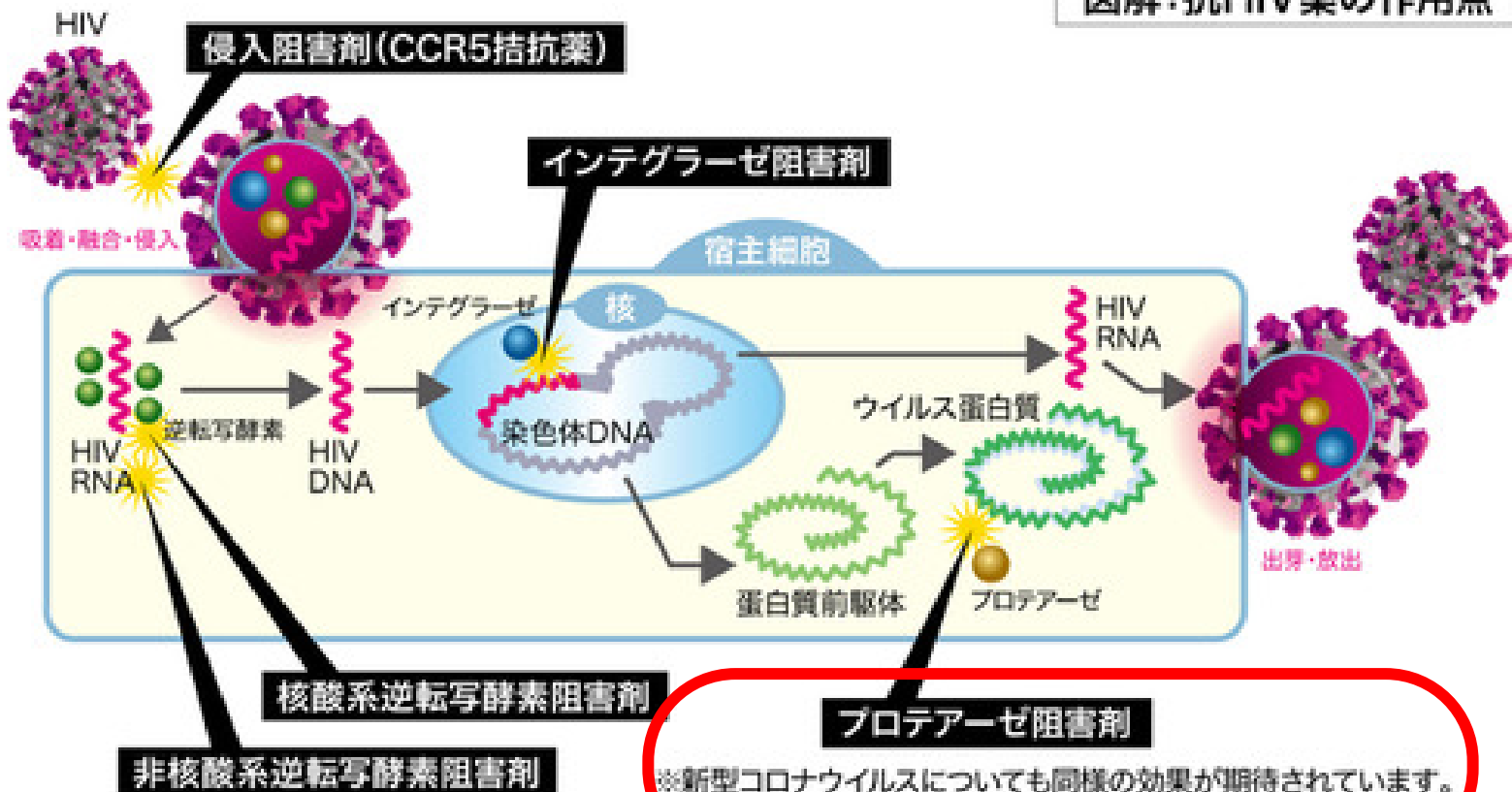
<https://blog.goo.ne.jp/uccjkc/e/e995bfa5c6a95fae3ac5449323b04d13>



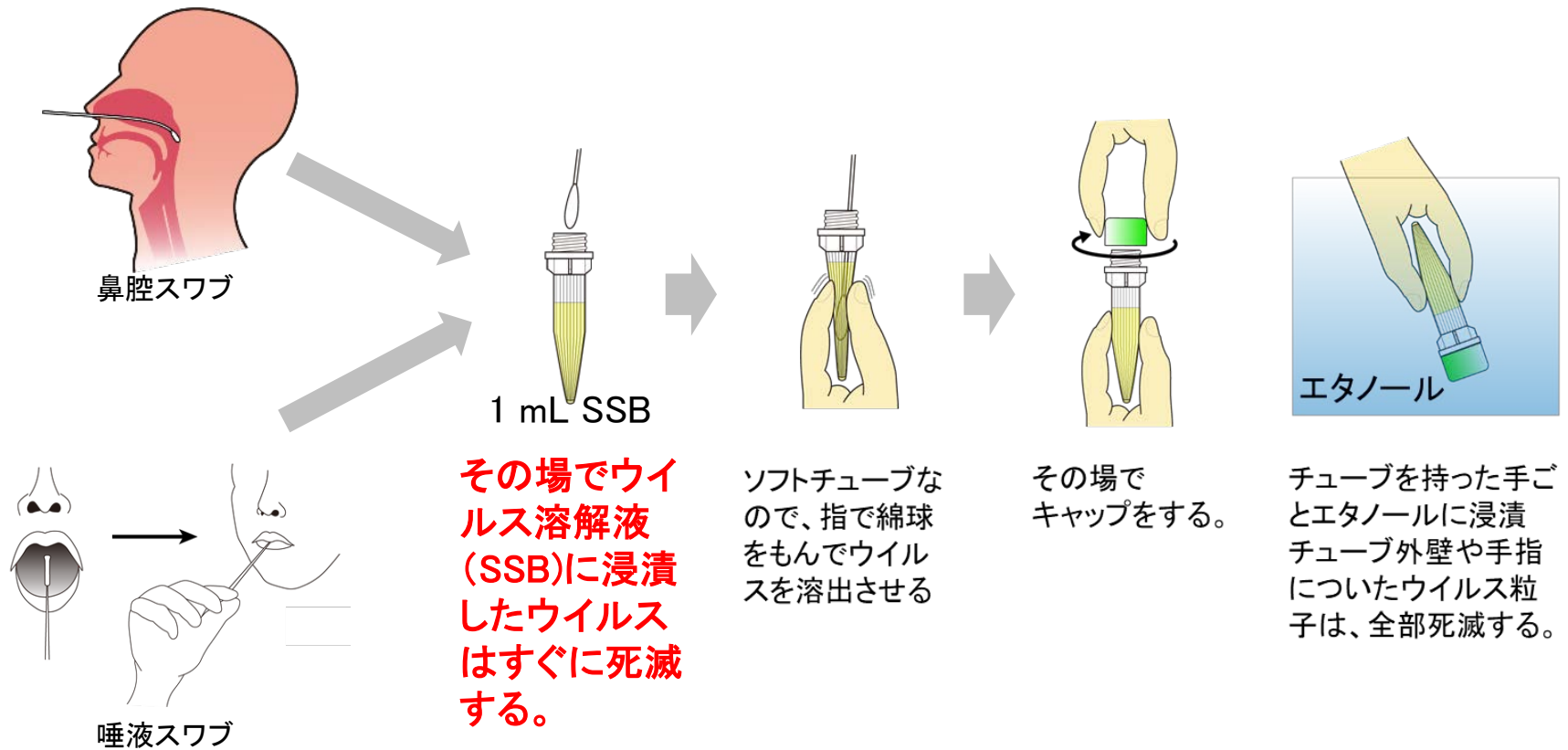
# ロピナビル・リトナビル(カレトラ)

コロナウイルスにおける本薬剤の機序は今のところ不明。  
MARSとかSARSにおいて臨床的な有効性が報告されているので、コロナウイルスに効くのではないかと推測されている。

図解:抗HIV薬の作用点



## RIKEN-DNAFORMの前処理方法

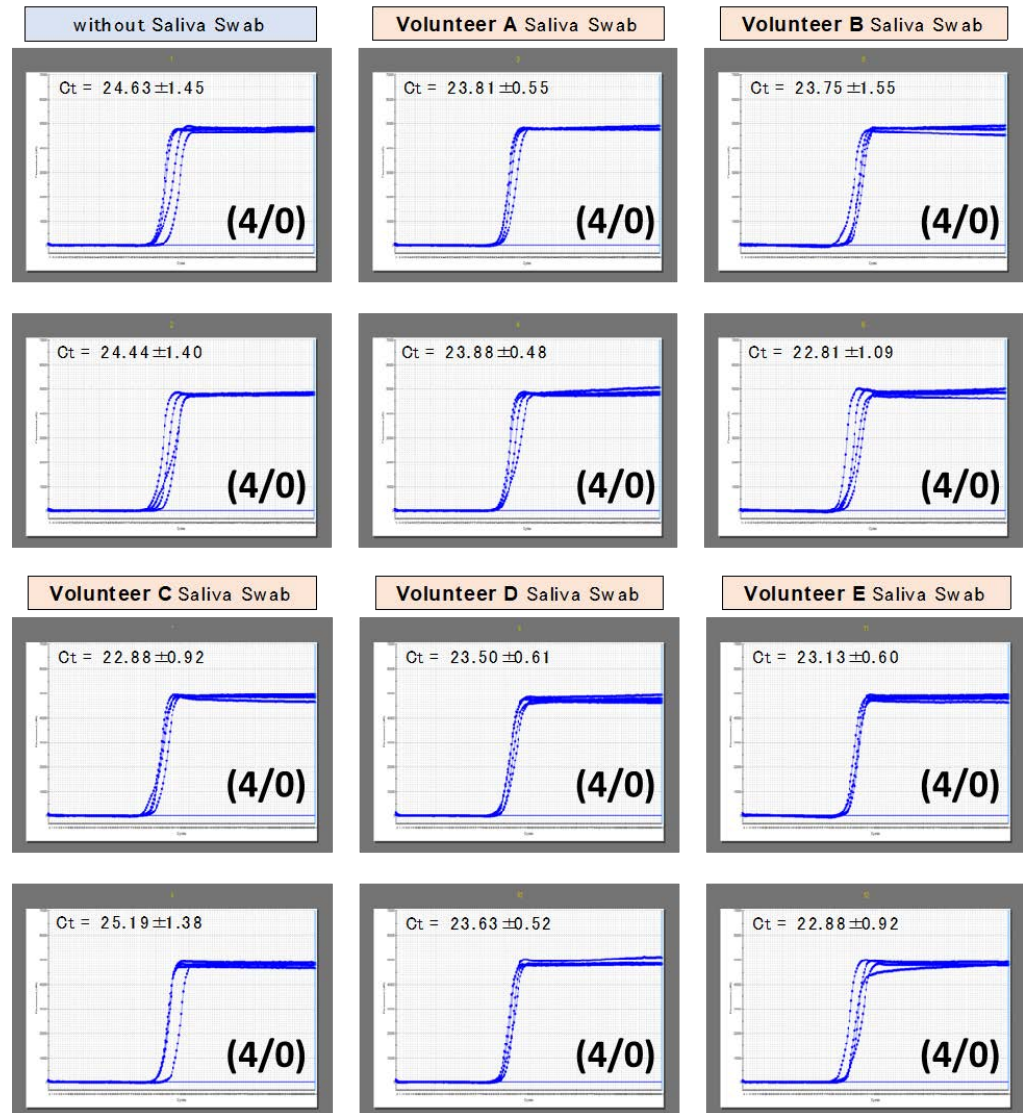


## 測定結果

(True positive/False-negative)

Reference data

qRT-PCR		
Samples	Recovery Rate of RNA (mean, n=3)	SD
Without saliva	99.1%	9.6%
Volunteer A	97.6%	7.8%
Volunteer B	102.4%	1.8%
Volunteer C	96.3%	6.0%
Volunteer D	104.0%	0.7%
Volunteer E	95.2%	3.8%

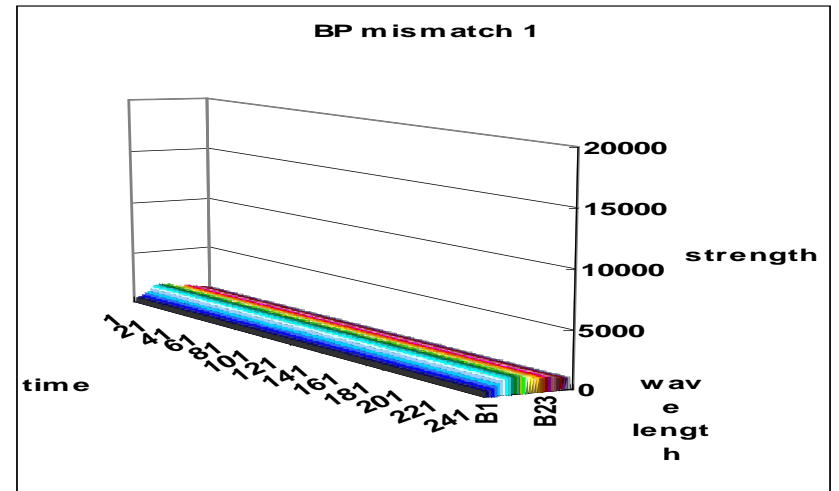
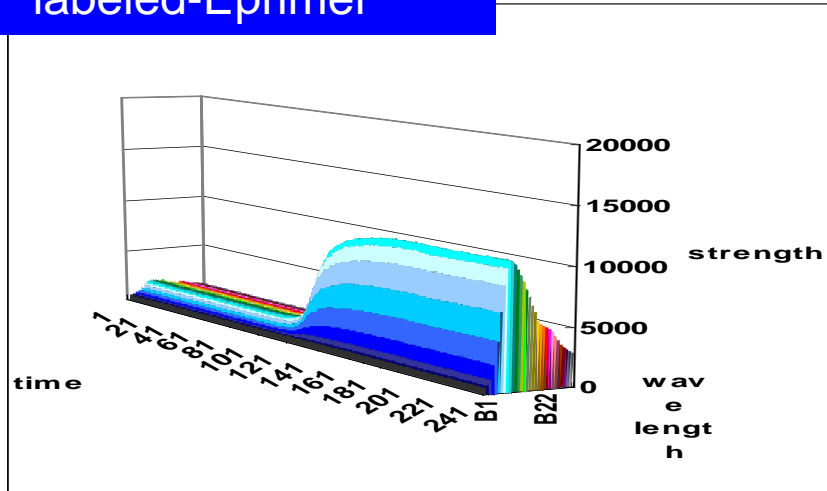


Eプライマーを用いたSmartAmp法がPCR法より優れている点

- ① 測定時間、作業時間が短い
- ② 等温増幅法なので、検出装置を小型化・簡易化することが可能
- ③ 反応後の増幅産物の解析が可能
  - ➡ 反応が正常に行われたかを反応後に調べることができる
- ④ リアルタイム測定、エンドポイント測定の両方ができる
  - ➡ エンドポイント測定は非常に簡便な装置で可能
- ⑤ COVID検出キットでは、ウイルスの変異率低がいNsp15領域にプライマーを設計しているため、変異による偽陰性が出にくい

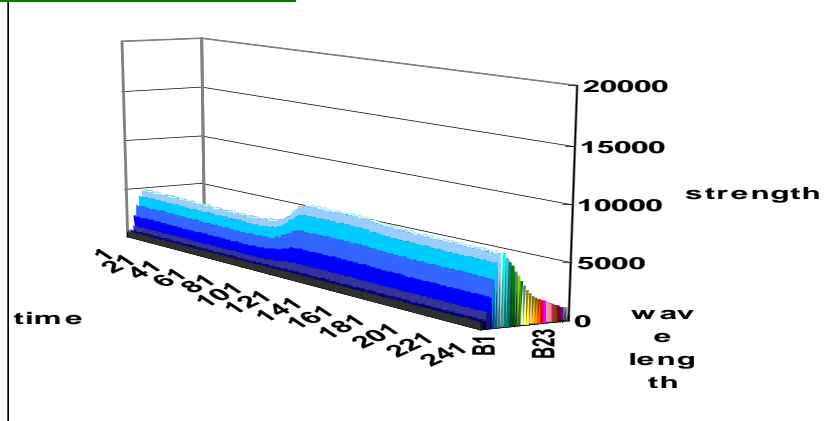
## labeled-Eprimer™

Short wavelength dye

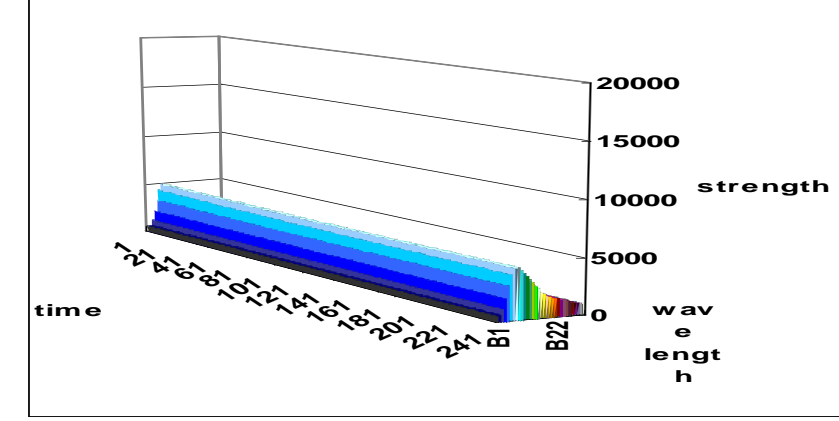


## SYBR Green

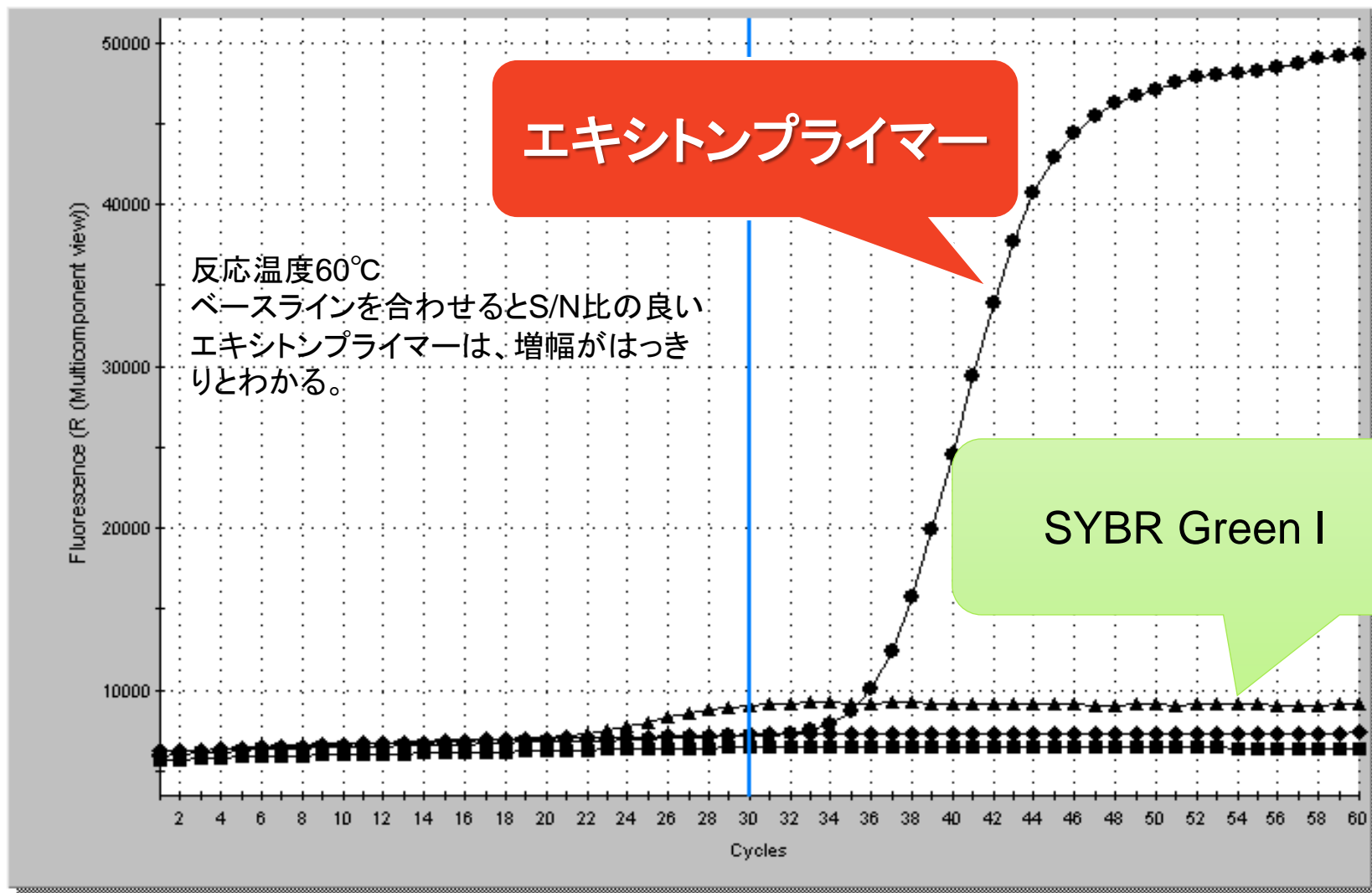
SYBR 1



SYBR mismatch1



## Amplification Plots



# 国立感染症研究所内での新型コロナウイルスSARS-CoV-2取り扱いについて

印刷

詳細

Published: 2020年1月30日

国立感染症研究所 バイオリスク管理委員会  
2020年1月30日

確定検体:BSL3  
疑い検体:BSL2

の通達

以下のような所内ルールが取り決められましたのでお知らせします。所内のバイオリスク管理委員会で議論した結果、当該ウイルスの所内での取り扱いについて以下の2点が決定された。

1. 新型コロナウイルス2019-nCoVの病原体の取り扱いは、BSL3/ABSL3取り扱いとする。
2. 新型コロナウイルス2019-nCoV感染疑い患者由来の臨床検体はBSL2取り扱いとする。

事務連絡  
令和2年3月5日

各  
都道府県  
保健所設置市  
特別区 衛生主管部（局） 御中

厚生労働省医政局地域医療計画課  
医療関連サービス室

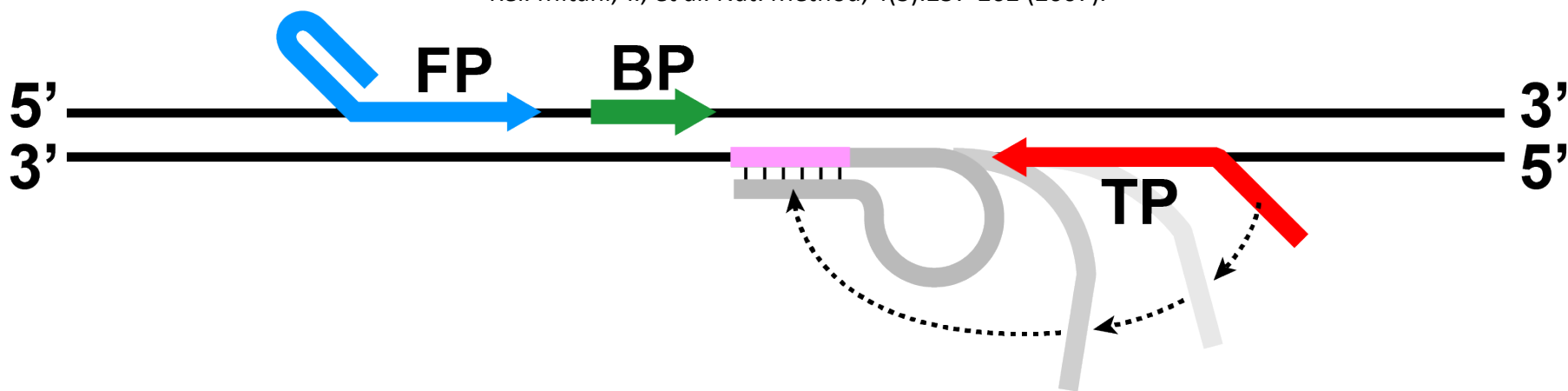
新型コロナウイルス感染症に係る病原体核酸検査のみを行うために臨時的に開設した衛生検査所における感染管理や精度管理等について

）  
中略  
）

- 3 新型コロナウイルスの病原体を取り扱う施設は、BSL3 及び ABSL3 の基準を満たすこと。新型コロナウイルス感染症の疑いがある患者由来の検体を取り扱う施設は、BSL2 の基準を満たすこと。なお、感染の危険のある検体は取り扱わず、不活化された検体を用いて核酸抽出や PCR 検査を行う場合は、BSL3、ABSL3 又は BSL2 の基準を満たす必要はない。



Ref. Mitani, Y., et al. Nat. Method, 4(3):257-262 (2007).



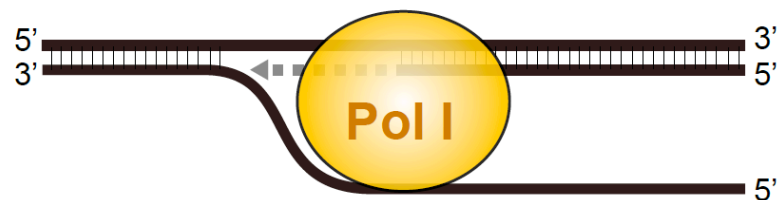
- ・非対称プライマーを使用

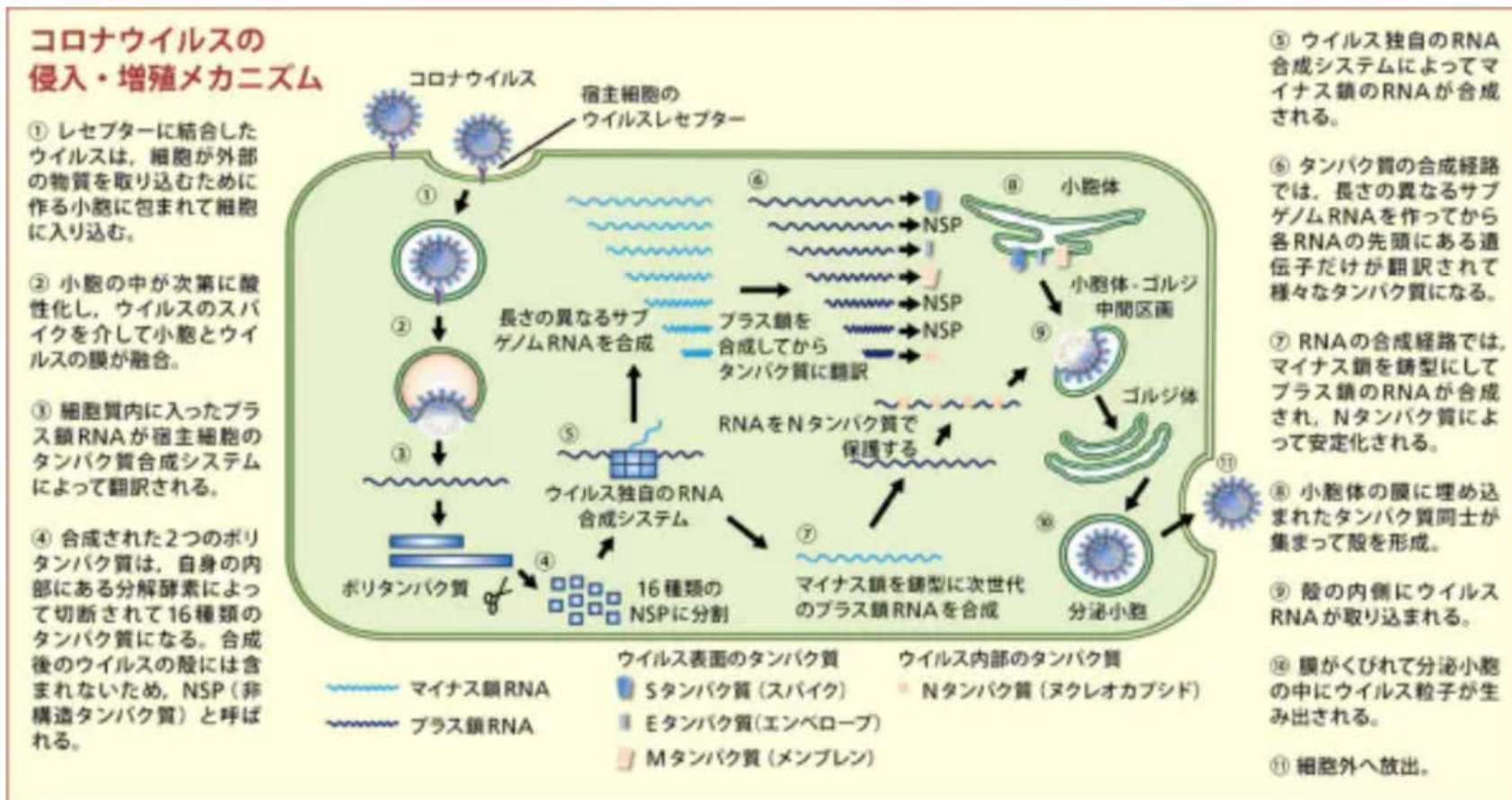
Turn back primer (TP), Folding primer (FP), Boost primer (BP).

- ・理研で開発された鎖置換型 DNA polymerase.

“Aac DNA polymerase I”

- ・等温での反応のみ (67°C).
- ・速い増幅時間 (10-30 min).





コロナウイルスの仲間では知られているウイルスの侵入と増殖のメカニズム

[https://www.nikkei.com/news/print-article/?R\\_FLG=0&bf=0&ng=DGXMZO57219400V20C20A3000000](https://www.nikkei.com/news/print-article/?R_FLG=0&bf=0&ng=DGXMZO57219400V20C20A3000000)