

新型コロナウイルス (SARS-Cov-2) PCR 検査における異常反応の原因検索

©室井 亮磨¹⁾、田代 裕子¹⁾、宮原 一代¹⁾、東田 正二¹⁾
株式会社 シー・アール・シー 総合研究所¹⁾

【背景】当社では、新型コロナ PCR 検査を 2020 年 5 月より島津製作所の「Ampdirect™ 2019-nCoV 検出キット」を用いて測定している。このキットは RNA 抽出操作が不要で、ヌクレオカプシド (N) 遺伝子の 2 ヶ所 N1 (np.28286-28358)、N2 (np.29164-29230) を 1 本のチューブで検出する。2021 年 8 月に測定した臨床検体 2 例において、N1 の立ち上がりが早い (Ct 値 20 サイクル以下) にもかかわらず、N2 の立ち上がりがほぼ見られないという乖離事例を経験した。その原因について検討したので報告する。

【対象】N2 の立ち上がりが全く見られなかった 1 件 (検体 1)、微弱な立ち上がりのみが見られた 1 件 (検体 2)。

【方法】ダイレクトシーケンス法によるシーケンス解析で N1、N2 検出領域を含む N 蛋白領域 (np.28274-29533, 1260bp) の塩基配列を決定し、武漢株の標準配列

(MN908947) と比較して変異の有無を調べた。また、現行の測定方法の別法として、国立感染症研究所が提示しているプロトコル (国感研法) で PCR 検査を実施した。検出領域は N (np.28706-28833)、N2 (np.29125-29282) である。

【結果】シーケンス解析では、検体 1、2 ともに 4 ヶ所の変異を確認した。そのうち 28461A>G、28881G>T、28916G>T の 3 ヶ所は共通した変異であったが、検査に影響を与えない部位であった。残りの 1 ヶ所は、検体 1 は 29183A>C で N2 フォワードプライマー 3' 末端、検体 2 は 29200C>T で N2 プローブ領域内にそれぞれ変異を確認した。国感研法の測定では 2 検体ともに N 領域、N2 領域の両方で立ち上がり、乖離は見られなかった。

【考察とまとめ】今回、新型コロナ陽性検体であるにもかかわらず、島津製作所試薬で N2 領域が検出不能であった原因は、検体 1 ではフォワードプライマー 3' 末端に相当する塩基の変異 (A>C) により伸長反応が起きず PCR 増幅されなかったため、検体 2 ではプローブ領域内の塩基変異 (C>T) によりアニーリング効率が下がり微弱な立ち上がりのみが見られたと考えられた。国感研法では設定されたプライマーおよびプローブ領域と 4 ヶ所の変異が合致しなかったため PCR 反応に影響を与えなかったと考えられた。連絡先：092-623-2111 内線番号 (8036)