

本論文はすでに公開されています
本情報はすぐにご利用いただけます

2023 年 4 月 5 日

「ステルス」オミクロン:PCR 検査で検出できない 新型コロナウイルス N 遺伝子の変異を同定

■ 概要

COVID-19 の原因ウイルスである SARS-CoV-2 の感染を診断するために RT-qPCR 法⁽¹⁾による検査がおこなわれてきました。その際に、RT-qPCR 法では SARS-CoV-2 の N 遺伝子⁽²⁾の 2 つの領域に設定されたプライマー・プローブ配列がタカラバイオ社、TOYOBO 社製などの RT-qPCR キットに利用されています。

COVID-19 のパンデミックが始まって以来、ゲノムに変異が生じた SARS-CoV-2 の亜系統が多数出現し、現在、世界および日本ではオミクロン亜系統が主流となっています。2022 年 10 月中旬に大阪で 1 名の患者から採取された唾液検体から見出したオミクロン亜系統は、N1 および N2 のプライマー・プローブ領域に 3 箇所の変異を持ち、従来のプライマーでは陽性判定できないことがわかりました。

本研究結果により、N1 および N2 領域に 3 箇所の変異のある変異株は従来のプライマー・プローブ配列による PCR 検査で陽性判定されないと考えられることから、COVID-19 に特徴的な症状があり、従来のプライマーを用いた PCR 検査で陽性判定できなかった場合は、別の箇所のプライマー・プローブで PCR 検査を実施することで、このような変異株を見逃すことを回避できると考えられます。

本研究は、国立遺伝学研究所 発生遺伝学研究室の川上浩一教授の研究グループと大阪はびきの医療センター森秀夫医師の共同研究としておこなわれました。

■ 成果掲載誌

本研究成果は、国際科学雑誌「Cureus」に 2023 年 3 月 19 日(日本時間)に掲載されました。

論文タイトル: Stealth Omicron: a novel SARS-CoV-2 variant that is insensitive to RT-qPCR using the N1 and N2 primer-probes

(ステルスオミクロン: N1 および N2 プライマー・プローブを用いた RT-qPCR で検出できない新型コロナウイルスの亜系統)

著者: Hideo MORI, Hiroko YOSHIDA, Hideharu MORI, Tomoya SHIRAKI, Koichi KAWAKAMI

(森秀夫、吉多仁子、森秀治、白木知也、川上浩一)

■ 研究の詳細

● 研究の背景

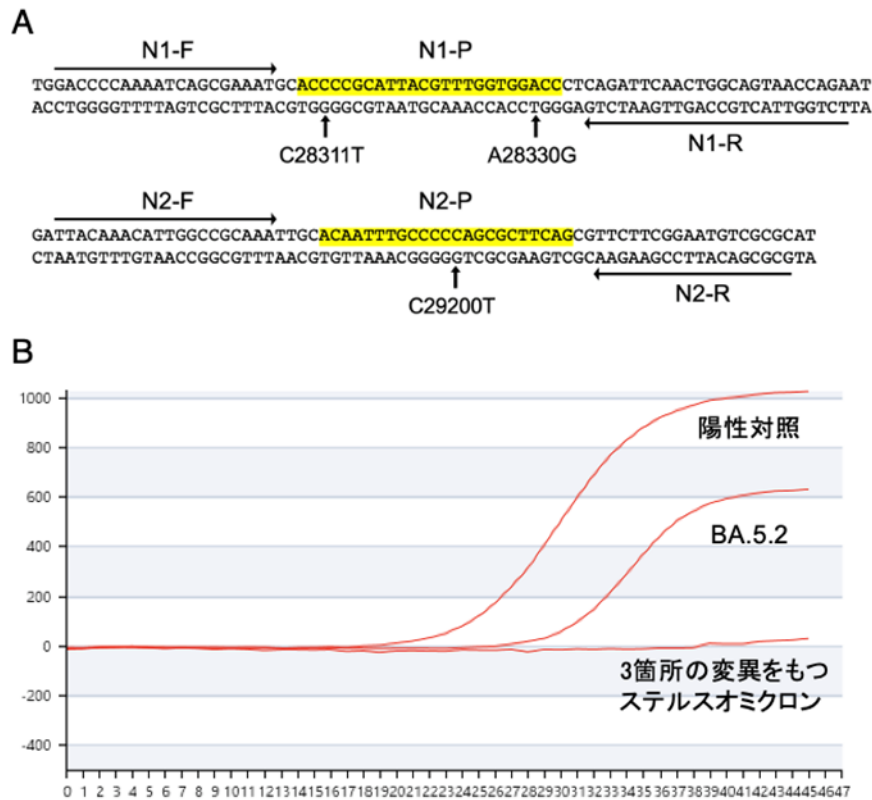
SARS-CoV-2(新型コロナウイルス)は COVID-19 の原因ウイルスであり、そのゲノム配列が決定されてきました。米国 CDC は、SARS-CoV-2 の感染を検出するための RT-qPCR(PCR)用のプライマー・プローブセットの配列を複数推奨しました。その中には、N 遺伝子の 2 つの領域、N1 および N2(図 A)、のプライマー・プローブ配列が含まれ、タカラバイオ社や TOYOBO 社の RT-qPCR キットはそれらの配列を利用しています。以降、RT-qPCR 法は、SARS-CoV-2 感染を診断するためのゴールドスタンダードとして実施されてきました。

パンデミックが始まって以来、ゲノムの様々な箇所に変異を含む SARS-CoV-2 の亜系統が多数出現してきました。現在、世界および日本ではオミクロン亜系統が主流となっています。2022 年 10 月中旬に大阪で 1 名の発熱患者から採取された唾液検体は、複数の異なる核酸検査を実施することにより SARS-CoV-2 陽性と診断されたものの、N1 および N2 のプライマー・プローブを用いた RT-qPCR キットでは SARS-CoV-2 を検出できませんでした。この不可思議な検体について、さらに詳細な解析を進めました。

● 本研究の成果

唾液検体の S 遺伝子⁽³⁾領域を解析した結果、感染株はオミクロンの亜系統であることがわかりました。そこで、この亜系統は N 遺伝子に未知の変異をもつと考え、N1 領域と N2 領域の塩基配列を詳細に調べた結果、N1 領域に 2 箇所(C28311T と A28330G)、N2 領域に 1 箇所(C29200T)変異がはいっていることがわかりました(図 A)。これらの変異が原因で従来にプライマーによる RT-qPCR 検査キットがはたらかなくなっていると考えられます。別の既知のオミクロン系統 BA.5.2 は、N1 領域の 2 箇所(C28311T と A28330G)の変異をもっていますが、N2 領域の変異は持っていません。

陽性対照、BA.5.2、今回の検体をタカラバイオ社製の RT-qPCR キットで解析した結果、BA.5.2 では、PCR 増幅産物が陽性対照の半量程度になるものの検出可能であり、今回の検体では PCR で産物が増幅されないことがわかりました(図 B)。



(A) N1 および N2 領域のプライマー・プローブセットの配列と今回見つかった変異の位置。矢印(N1-F、N1-R、N2-F、N2-R)はプライマーの位置を示す。黄色ラベルはプローブ(N1-P および N2-P)の位置を示す。患者のサンプルに C28311T、A28330G、C29200T の変異が見つかった。

(B) N1 および N2 プライマー・プローブを用いて行った RT-qPCR の増幅曲線。陽性対照、N1 領域に 2 つの変異をもつ BA.5.2、および N1 領域に 2 つの変異と N2 領域に 1 つの変異をもつ変異体を、タカラバイオ社製 RT-qPCR キットで解析した結果。

N1 領域と N2 領域に 3 箇所の変異を持つ変異体は、日本および世界の全ウイルス配列のそれぞれ 0.23% および 0.06% の頻度で確認されています(2023 年 3 月 1 日時点)。そのような 3 箇所の変異を持つウイルスは一部の検査キットで検出漏れしていることを考えると、この頻度は過小評価である可能性があります。すなわち、N1 および N2 プライマー・プローブを用いた PCR 検査で、COVID-19 患者の一部を見落としてきた可能性があるのです。

● 今後の期待

N1 領域と N2 領域に 3 箇所の変異を持つ新規の「ステルス」オミクロン変異株は、大阪で蔓延していた BF.5 から散発的に発生した可能性があります。このような変異株は今後も生じる可能性があり、PCR 検査とゲノム解析で継続的に監視する必要があります。

COVID-19 の症状を有する重症患者を未確定診断のまま放置することを避けるためには、ウイルスゲノム上の複数の領域を検査することが必要です。また、新たな変異体の出現に応じて検査キットを更新していくことも重要です。PCR 検査はプライマーの配列を変えることで迅速抗原キットより容易に新しい変異株に対応することができるという利点があります。

■ 用語解説

(1) RT-qPCR 法

逆転写定量 PCR 法。SARS-CoV-2 の RNA ゲノムを逆転写反応に cDNA にしたのち、定量 PCR を行う方法。

(2) N 遺伝子

SARS-CoV-2 のヌクレオカプシドタンパク質をコードする遺伝子。

(3) S 遺伝子

SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質をコードする遺伝子。

■ 研究体制と支援

本研究は、国立遺伝学研究所 発生遺伝学研究室の川上浩一教授の研究グループと大阪はびきの医療センター森秀夫医師の共同研究としておこなわれました。

この研究は部分的に国立遺伝学研究所への寄附金によって支援されています。

■ 問い合わせ先

<研究に関すること>

- 国立遺伝学研究所 発生遺伝学研究室
教授 川上 浩一(かわかみ こういち)

<報道担当>

- 国立遺伝学研究所 リサーチ・アドミニストレーター室 広報チーム

※Zoom 会議での取材にも対応できますので、Zoom 会議をご希望の場合には、その旨お知らせください。

配付先

文部科学記者会、科学記者会、三島記者クラブなど