

呼吸器感染症の新たな遺伝子検査法

高野 弘 (栄研化学株式会社 市場対策室 LAMP 推進部)

1980年代に遺伝子増幅法である PCR 法が開発されて以来、遺伝子検査はその高い感度と特異性から、感染症の診断を中心に利用されるようになった。さらに SARS コロナウイルスや新型インフルエンザウイルスのような新興あるいは再興感染症の出現により、遺伝子検査の重要性は増している。また起因微生物の種類が多い呼吸器感染症においては、分離培養が困難、あるいは培養に時間を要する場合、起因微生物の鑑別のために遺伝子検査が有用であると考えられている。しかし、遺伝子検査は、検体からの核酸の抽出、遺伝子増幅、及び検出の複数の工程を経ねばならず、さらに各工程で高度なスキルと高価な装置や設備が必要であり、未だに簡便にどこでも検査を実施するには難がある。そこで我々は迅速性、簡便性、高特異性を併せ持つ新規遺伝子増幅法 Loop-mediated isothermal amplification(LAMP)法を開発し、従来遺伝子検査が実施できなかった検査環境でも使用可能な試薬の開発を目指してきた。本演題では、呼吸器感染症における遺伝子検査の有用性ととも、LAMP 法を用いた遺伝子検査の簡略化の取り組みについても紹介したい。

LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) 法は、6つの領域を含む4種類のプライマーを用いて鎖置換型の DNA polymerase、ターゲット DNA を混合して等温で反応させると、幾つかの反応ステップを踏んで、両方の末端でループをまいたダンベル様構造をした一本鎖 DNA が生成される。このダンベル様構造の DNA を起点として増幅サイクリング反応が起こる。増幅反応は等温で連続的に進む。(詳細は <http://loopamp.eiken.co.jp> を参照)

呼吸器感染症は起因微生物の種類が多く、その診断には分離培養、血清診断、特異抗原検出などの種々の検査手法が利用されてきている。しかし、これら従来法のみではいくつかの課題があり、遺伝子検査法は、高感度、特異的な迅速診断法として期待された。呼吸器感染症は遺伝子検査法の適応と考えられても実際に臨床現場で利用できる体外診断用医薬品として承認された遺伝子検査試薬キットは少なく、また、迅速診断とはいえ 2~3 時間を要する、あるいは核酸抽出等の前処理に時間を要する等課題は少なくない。そこで、我々は分離培養に時間を要する *Mycoplasma pneumoniae*、常在菌の汚染度が高いと分離が難しい *Legionella* 属、最近世界的に流行した H1pdm2009 インフルエンザウイルス、病原性が高く、培養に時間がかかる結核などについて、呼吸器感染症における遺伝子検査法の課題を解決し臨床現場に貢献できるよう、LAMP 法を用いて、新たな遺伝子検査試薬キットを開発した。前処理の簡易化を含めて、この新たな遺伝子検査手法を紹介したい。