

## PCR 法による検査 (原理)

## Principle of PCR test

永井秀典

E-mail: hide.nagai@aist.go.jp

昨年初頭からの新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の世界的な蔓延により、核酸同定検査法である Polymerase Chain Reaction (PCR) 検査が広く知られる様になった。PCR 検査は、試料中に含まれるゲノムを抽出 (RNA の場合はさらに逆転写反応により相補的な DNA を合成) し、この DNA 中の標的配列を認識して挟む様に結合する 2 種類の 20 塩基程度の短い 1 本鎖オリゴ DNA (プライマー) と、DNA の材料となる核酸モノマー (dNTP) を混合し、それらを重合するための触媒として耐熱性 DNA ポリメラーゼ酵素を用いて、標的 DNA 配列のコピーを合成する原理に基づいている。特に、試料から抽出した DNA とこれらを混合した PCR 溶液を専用のサーマルサイクラーにセットし、二本鎖 DNA を一本鎖に解離させる変性温度 (約 95°C) と、プライマーを結合 (アニーリング) させる一本鎖の鋳型 DNA から 2 種類のプライマー配列に挟まれた領域を二本鎖 DNA に複製する伸長温度 (50~70°C 程度) の間を繰り返し温度変化 (サーマルサイクル) させることで、標的配列の DNA を指数関数的に増幅することが可能である。さらに、リアルタイム PCR 法として、サーマルサイクルにより DNA の変性と複製を繰り返しながら、特定の DNA 配列の増幅を蛍光検出によりモニターする手法が PCR 検査に最も活用されている。なお、PCR 法では、ペルチェヒーターにより 95°C と 50°C 程度の温度を 30 回以上変動させるため、1 時間以上の分析時間を必要としていたため、高速化が求められていた。

そこで我々は、Fig. 1 に示すマイクロ流体デバイスを用いることで、極めて高速なサーマルサイクルを可能とし、超高速なリアルタイム PCR 装置を開発した。Fig. 2 に示す通り、15 分以内に SARS-CoV-2 の遺伝子に対して、既存のリアルタイム PCR 装置と同等の 5 コピー/反応から検出可能であった。本技術は、簡易検査法である抗体を用いるイムノクロマトグラフィー法とほぼ同等の検査時間までリアルタイム PCR 法を高速化することに成功しており、今後は、確定検査法である PCR 検査がクリニックや家庭レベルまで広く普及していくことを期待している。

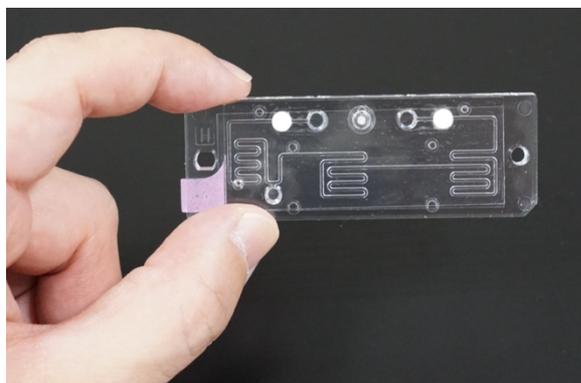


Fig. 1 Microfluidic device for rapid PCR.

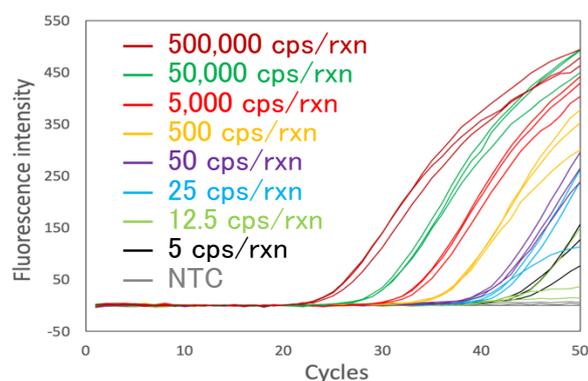


Fig. 2 Amplification curves for SARS-CoV-2 gene.