

ムタントウ ンセレ ピエール 論文内容の要旨

主 論 文

Development and Evaluation of Quantitative Immunoglobulin G Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Diagnosis of Coronavirus Disease 2019 Using Truncated Recombinant Nucleocapsid Protein as Assay Antigen

発現 N タンパク質を用いた新型コロナウイルス特異的 IgG 抗体測定法の開発と評価

Pierre Nsele Mutantu, Mya Myat Ngwe Tun, 鍋島武, Fuxun Yu, Patrick Kakoni Mukadi, 田中健之, 田代将人, 藤田あゆみ, 蟹江信宏, 大城亮作, 高園貴弘, 今村圭文, 平山達朗, Meng Ling Moi, 井上真吾, 泉川公一, 安田二郎, 森田公一

International Journal of Environmental Research and Public Health,
18 卷 18 号 9630、2021 年
<https://doi.org/10.3390/ijerph18189630>
[14 ページ]

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：森田公一教授)

緒 言

Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) は新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の原因ウイルスである。このウイルスは 2019 年 12 月に中国武漢で出現し世界に伝搬して 2020 年 3 月に世界保健機関はパンデミックを宣言するに至った。すでに世界では 2 億 5 千万の人々が感染し、500 万人を超える死者が報告されている。急性期の診断は RT-PCR 法などウイルス遺伝子の検出が重要であるが、不顕性感染も多く存在することから、ウイルス特異抗体検出による血清診断、血清疫学解析は重要であり、抗体検査法の開発、改良は感染対策上も重要な研究項目である。本研究では大腸菌で発現したウイルス N タンパク質を用いた安価で簡便な抗体検出法の開発と評価を目指した。

対象と方法

SARS-CoV-2のNタンパク遺伝子は2019-nCoV/Japan/TY/WK-521/2020株の遺伝子RNAからRT-PCR法により完全長のNタンパク遺伝子断片とコロナウイルスに高い相同性があるN末端(121残基)を欠損させた遺伝子断片($rN_{\Delta 121}$)を増幅し、それぞれpQE-30プラスミドのHisタグの下流に組みこみE. Coli XL-1 Blueに導入した。形質転換した大腸菌は大量培養後にIPTGにより組み換えタンパク質の発現を誘導したのち、細胞を8M尿素存在下に破壊し内部の組み換えタンパクをニッケルカラム、続いて尿素を除きコバルトカラム精製を用いる2段階の精製を行った。精製したタンパク質を96穴ELISAプレートに固定して間接ELISA法によりNタンパク抗体を定量的に測定した。評価には177検体の新型コロナウイルス感染疑い例の血清、155検体の陰性血清(新型コロナウイルス出現前に採取された検体)を用いて、ウイルススパイク(S)タンパク質を用いた間接ELISA法やウイルス中和試験との比較を行い感度・特異度を算出した。血清の利用については長崎大学熱帯医学研究所倫理審査委員会の了承を得た。

結 果

コロナウイルス間で保存された領域を欠損させた $rN_{\Delta 121}$ 抗原を用いた間接IgG-ELISA法では177例の新型コロナウイルス感染疑い例のうち、118例が陽性、59例は陰性と判定された。155例の陰性血清では8例は陽性、147例が陰性であった。完全長のN抗原を用いた間接IgG-ELISA法では、177例の疑い症例中124例が陽性、53例が陰性となった。155例の陰性血清については17例が陽性、138例が陰性となった。新型コロナウイルスSタンパク質を抗原とする市販の間接IgG-ELISAキットを用いて同じ血清を測定したところ、疑い例177検体のうち121例が陽性、56例が陰性であり、陰性コントロール血清155例では2例のみ陽性となった。ウイルス中和試験では疑い例177検体中124例が陽性、陰性コントロール血清では陽性は0例であった。以上の結果から、 $rN_{\Delta 121}$ 抗原を用いた間接IgG-ELISA法ではSタンパクを用いた間接IgG-ELISA法、およびウイルス中和試験と比較して、それぞれ感度は(91.1% vs. 91.9%)、特異度は(93.8% vs. 93.8%)と算出された。

考 察

新型コロナウイルスの $rN_{\Delta 121}$ 抗原を用いた間接IgG-ELISA法は中和抗体法やSタンパク質を用いる間接IgG-ELISA法と比較して同等の感度・特異度を持つ安価な新型コロナウイルス血清診断法であることが示された。また現在、新型コロナウイルスSタンパク質を成分とするワクチンが全世界で普及しているが、ワクチンでは産生されない抗Nタンパク抗体を検出できる本システムはワクチン接種が進む地域での血清疫学調査を実施するうえで極めて有用な手法となることが期待される。