

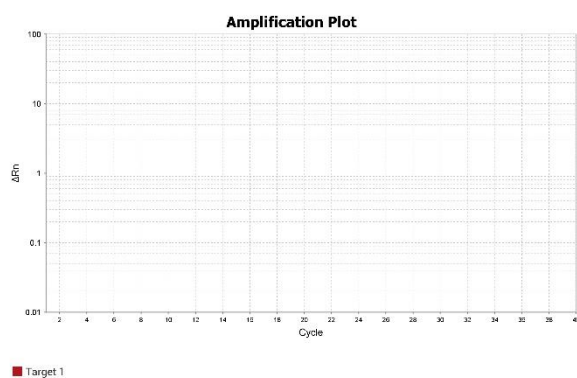
新型コロナの PCR 実験結果

1. 組分けの概要

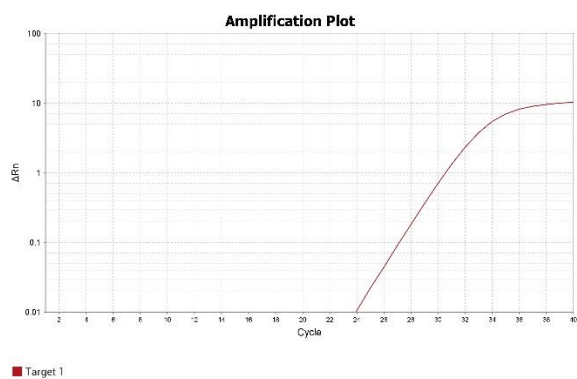
講習者 20 名を 10 名ずつ 2 つのグループに分け、各グループの講習者 10 名をさらに 2 人一組の 5 組に分けた。そして、その 5 組に対し、検体 1、2、3、4、5 のサンプルを渡し、同じ PCR 反応液を 2 つ調製してもらった。つまり、各組 2 人の PCR 検査の結果は同じようになってはならない。なお、検体 1、2、3 は新型コロナ陽性、検体 4、5 は陰性だということがあらかじめ判っている。陰性コントロールと陽性コントロールの反応液は教員が調製した。

2. 陰性・陽性コントロールの結果

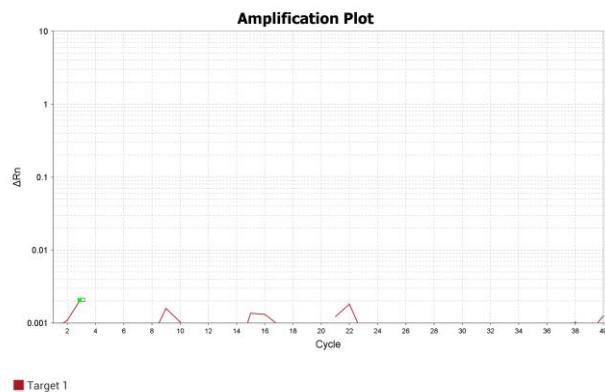
下図：グループ A（上 2 つ）とグループ B（下 2 つ）の結果



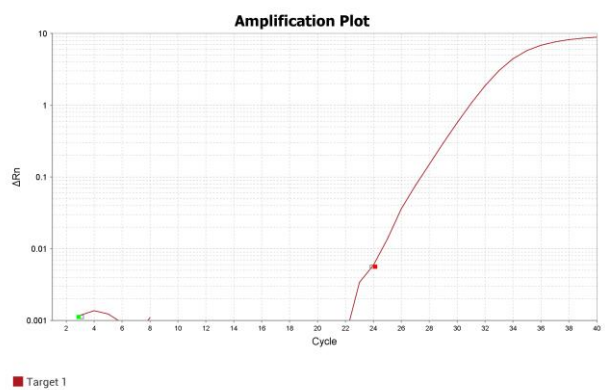
左：グループ A、陰性コントロール



左：グループ A、陽性コントロール



左：グループ B、陰性コントロール



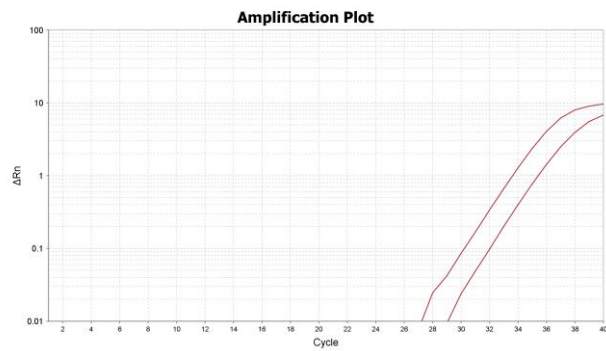
左：グループ B、陽性コントロール

解説：陰性コントロールでは 0.01 未満の微弱な蛍光が検出される（グループ B のグラフで観察できる）。しかし、このレベルの蛍光は二重鎖 DNA の増幅とは無関係のものとみなすことができる。一方、陽性コントロールでは、陰性コントロールで観察されたバックグラウンドレベルの蛍光をはるかに超える強度の蛍光が PCR の後半で検出され、明らかに二重鎖 DNA の増幅が認められる。

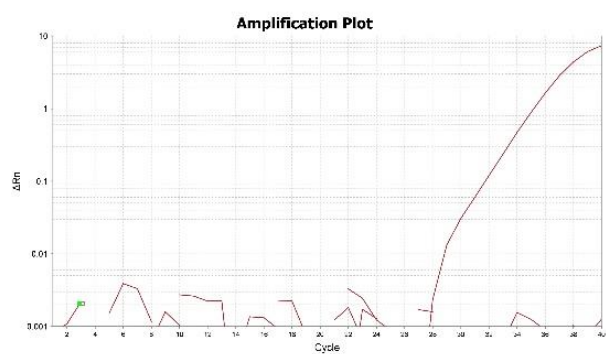
3. 各検体の PCR の結果

3-1. 検体 1（陽性検体）

下図：グループ A（上）とグループ B（下）の結果



■ Target 1

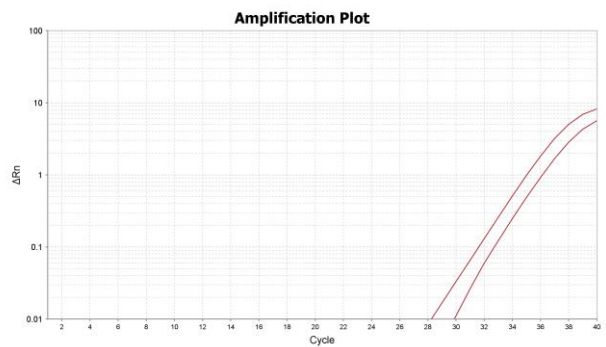


■ Target 1

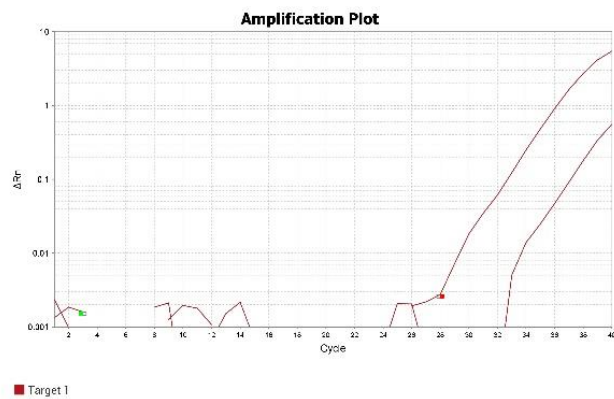
解説：グループ A では、予想通り、2 人とも新型コロナ陽性の結果となった。一方、グループ B では、同じ「検体 2」を反応液に加えたはずなのに、2 つの反応液のうち片方でだけ陽性という結果であった。検体、プライマー F、プライマー R、DNA ポリメラーゼ溶液の 4 つのうちどれかを入れ忘れてしまうと陰性の結果が出てしまう。あるいはこれらを加えるときの容量を大きく間違えてしまった場合も。

3-2. 検体 2（陽性検体）

下図：グループ A（上）とグループ B（下）の結果



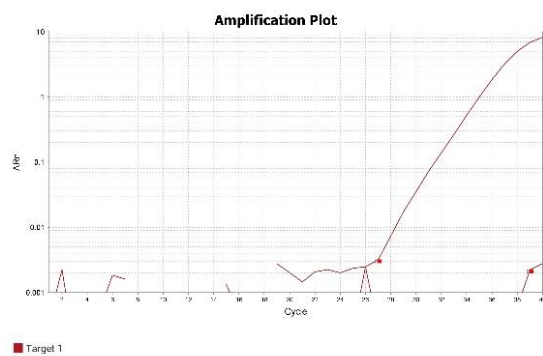
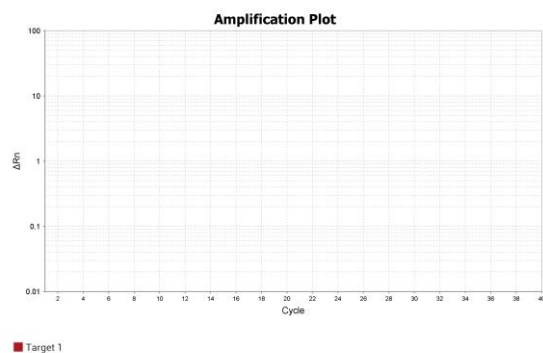
■ Target 1



解説：予想通り、どの反応液でもコロナ陽性の結果となった。ただし、グループ B では DNA 増幅の速さに 4 サイクル以上の違いが見られた。

3-3. 検体 3（陽性検体）

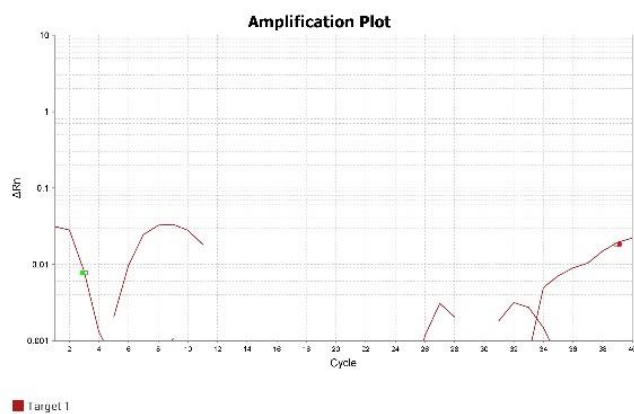
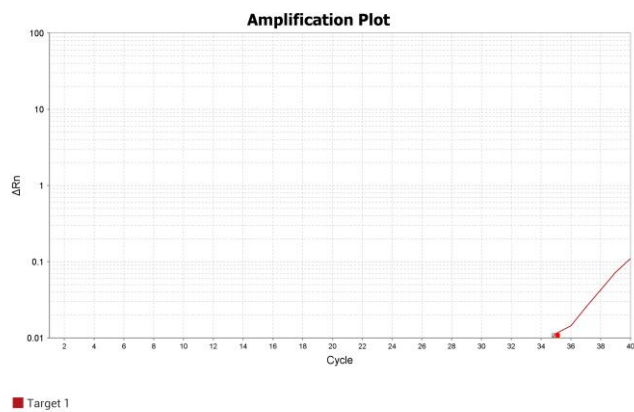
下図：グループ A（上）とグループ B（下）の結果



解説：検体 3 は予備実験で陽性とわかっていたものだが、4 人のうち 1 人（グループ B）のみ陽性という結果であった。

3-4. 検体 4（陰性検体）

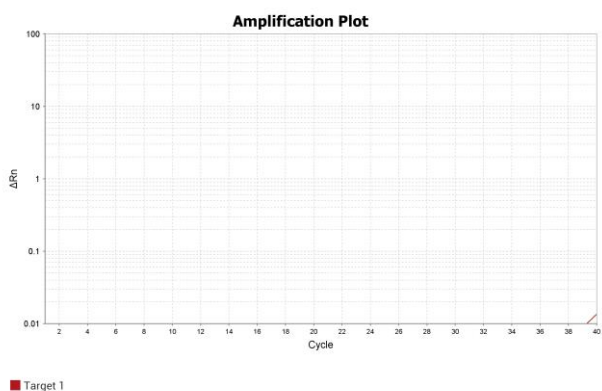
下図：グループ A（上）とグループ B（下）の結果

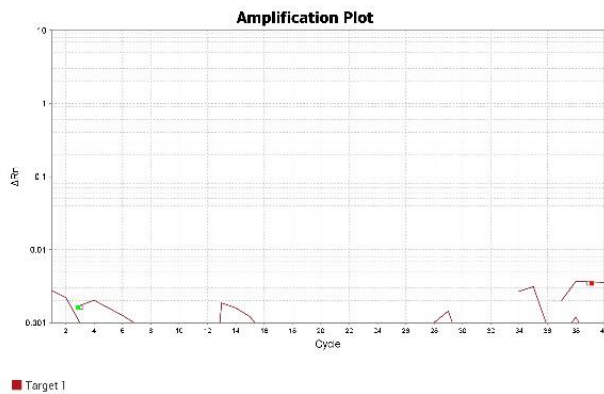


解説：本来、陰性の結果が出るはずの検体 4。バックグラウンドの蛍光のレベルが陰性コントロールや他の陰性検体（検体 5）と比べて一桁ほど高かった。原因は不明。

3-5. 検体 5（陰性検体）

下図：グループ A（上）とグループ B（下）の結果





解説：予想通り、コロナ陰性という結果であった。バックグラウンドの蛍光強度は陰性コントロールとほぼ同程度であった。

4. 総評

- ・今回の実験結果より標的ウイルスの特徴的な遺伝子配列を、わずか数時間で増幅できたことがグラフから読み取れる。この実験法は、ウイルスの検出を目的とした検査だけでなく、ウイルス感染により人体のなかで作られる様々な分子（インターフェロンなど）の検出を目的とした研究使途にも用いられている。

- ・マイクロピペットを用いた実験をはじめて経験し、全体としては予備実験通りの結果を得ることができた。一方で偽陰性や擬陽性疑いの結果も得られており、この実験で熟練した手技を必要とすることがよく理解できたと思う。（定）

- ・今回の実験結果は、検体に新型コロナウイルスが存在するのかもしれないのか、はっきりさせる事の難しさを良く表していると思います。皆さんがピペットマンの操作に慣れていなかったことや、スタッフによる溶液を加えていく手順の説明が不十分であったことも結果に反映されているのかなと思いました。

- ・最近、PCR 検査という言葉をよく耳にしますが、今回の実験でこの検査が高い技術の上に成り立っている事を実感してもらえれば幸いです。（千原）

（以上竹内）