応用物理学会秋季学術講演会 注目講演プレスリリース

2023年 9月 11日

SATORI法による臨床現場即時検査の実現に向けて
Toward point-of-care testing with SATORI

人類の未来の必需品
小型で低コストの新型コロナウイルス世界最速検出装置

理化学研究所 開拓研究本部,
○飯田 龍也, 安藤 潤, 篠田 肇, 渡邉 力也

【発表概要】

- **新型コロナウイルスのRNAを1分子レベルで識別し非増幅で検出する検査法「SATORI法」およびその全自動検査装置「opn-SATORI装置」を開発し、世界最速となる9分以内の検出を実現**

- **新型コロナウイルス感染症の臨床検体を用いた検証実験では、従来法のPCR検査・全ゲノム解析と98%の一致率で陽性陰性・変異株を判定できることを実証**

- **SATORI法による臨床現場即時検査の実現に向けた装置の小型化・低コスト化のため、顕微鏡代替の検出装置「COWFISH」を開発**

理化学研究所、東京大学、京都大学、東京医科歯科大学による共同研究グループは、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）のRNAを1分子レベルで識別し、世界最速となる9分以内の検出を実現する検査法「SATORI法」を開発してきた。さらにSATORI法による検査を全自動で行う「opn-SATORI装置」を開発し、SARS-CoV-2臨床検体を用いた最新の検証実験では9分以内の世界最速の検出を実現し、検出感度はPCR検査法とほぼ同等の3.9コピー/マイクロリットル(μL、1μL は100万分の1リットル）を達成した。さらにPCR検査法や全ゲノム解析など、他の先進的診断法と比較しても遜色のない、98%の一致率で陽性陰性・変異株を判定できることを実証した。この数値は、感度では既存のPCR検査法の感度に匹敵し、速度では大きく上回る検査を実現していることを意味する。最近では、小型・低コストの検出装置「COWFISH」の開発にも成功しておりデスクトップサイズ（横幅35cm、奥行45cm、高さ30cm）を実現している。また、SATORI法は新型コロナウイルス以外のウイルス種にも適用可能性があり、次世代の感染症診断法として臨床現場即時検査(POCT)への応用が期待されている。

【詳細】

非増幅で“1分子”レベルのRNA検出を実現する「SATORI法」

WHO（世界保健機関）によれば、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）のパンデミックは、1918年に発生したスペインかぜの大流行から数えて、少なくとも6回目の世界的大流行だとされる。そして将来、パンデミックはより頻繁に発生すると予測されており、それらはより急速に拡大し、世界経済にとって大きな損害となり、さらに高い世界的な罹患率と死亡率を持つものになるとされている（※1）。こうした時代に生きる人類にとって、簡便性が高く、高精度な判定ができる感染症診断デバイスは、未来の必需品だといえる。

今やお馴染みのものになった新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の感染診断には、ウイルスのRNAを増幅して検出する「PCR検査法」と、ウイルスのタンパク質抗原を検出する「抗原検査法」がある。PCR検査法は、正確な検査が可能だが前処理に最短で1時間程度の時間がかかり、抗原検査法は、30分程度の短時間での検出ができるが検出エラーが多く、迅速性と精度がそれぞれトレードオフの関係になっている。

「私たちの研究チームは、最先端のRNA検出技術『SATORI法』を開発しました。SATORI法の特徴は、従来のPCR検査法とは異なり、核酸を増幅するプロセスを持たないことです。SATORI法は、核酸認識技術などに使われる酵素『CRISPR-Cas13a』によって“1分子”レベルでウイルスのRNAを識別し、マイクロチップ技術を組み合わせることによって迅速・高精度な検出を実現しています」開発者らはそう話す。

※1 Imagining the future of pandemics and epidemics: A 2022 perspective (no date) World Health Organization. Available at: https://www.who.int/publications/i/item/9789240052093 (Accessed: 29 August 2023).

高感度で、他のウイルス種の認識にも使える汎用性も兼ね備える

SATORI法の核心となるのは、CRISPR-Cas13aの酵素活性を利用し、ウイルスのRNAの存在を迅速に数分以内で蛍光シグナルに変換する技術だ。SATORI法でウイルスを検出する役割を果たすCRISPR-Cas13aは、ターゲットとなるウイルスのRNAを認識するように設計された「crRNA（ガイドRNA）」を持つ。CRISPR-Cas13a試薬と検体の反応溶液は「分注機（※2）」によって数十フェムトリットル（fL、1fLは1000兆分の1リットル）の微小試験管が数十万から百万敷き詰められたマイクロチップに導入される。ターゲットとなるウイルスのRNAを認識すると、CRISPR-Cas13aが活性化し溶液中の蛍光レポーター分子が切断され、蛍光を発するようになる。この一連の働きによって、CRISPR-Cas13aによるウイルスのRNAの認識が、蛍光シグナルに変換されるのだ。そしてマイクロチップ上で蛍光を発する微小試験管（輝点）を数え上げることで、ウイルスRNAの正確な量を数分で定量することが可能になる。判定では10個以上の輝点の量で陽性となるという（図1）。

※2 **分注機** 「分注器」はマイクロピペットに代表される、微量な液体・試薬を軽量し、所定の場所へ吐出ことができる化学実験器具。分注機は、分注作業を機械化することで高速で大量の分注を可能にする。

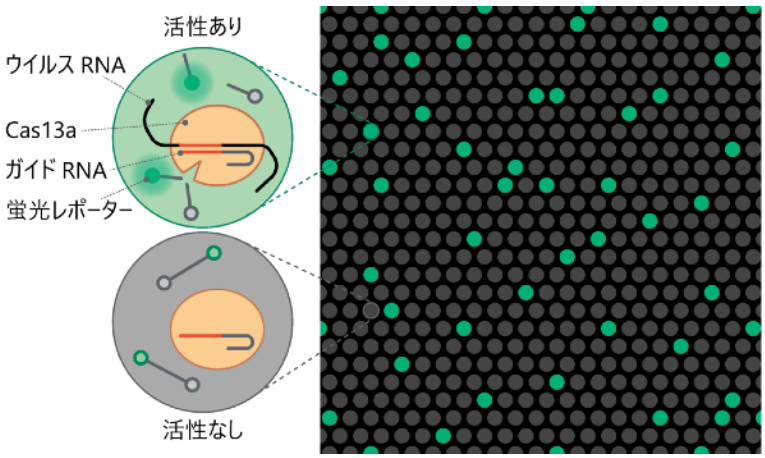

図1 SATORI法の概略図。ウイルスのRNAを認識し、CRISPR-Cas13aが活性化すると蛍光シグナルを発する（左図上）。マイクロチップ（右図）上ではそれらが輝点の分布として捉えられ、その数から陽性判定を行う。

さらに同研究グループはSATORI法の感度をより高めるために磁性を持ったナノ粒子「磁性ビーズ」を添加している。CRISPR-Cas13aと結びつくように加工した磁性ビーズを溶液中に入れ、マイクロチップの下部から磁場をかけることによって、より多くのCRISPR-Cas13aおよびウイルスRNAをマイクロチップ上の試験管に効率よく捕捉することができる。磁性ビーズ添加により、感度を100倍向上させ、PCR検査法と同等の3.9コピー/μLを達成した。

「SATORI法の利点は、crRNAの配列設計次第で、さまざまなRNAの検出に対応できる汎用性を持つことです。インフルエンザウイルスなど他のウイルス種の認識にも使える可能性があるほか、基礎疾患などの診断にも役立てる可能性があります」（開発者ら）

SATORI法はウイルスRNAの1塩基変異の識別による変異株の判定や、複数のウイルス感染症を並列的に診断する可能性も秘めているという。

革新的な性能のデスクトップの感染診断装置

「SATORI法を社会実装していく上では、装置化が重要です。とくにクリニックや検疫所における臨床現場即時検査（POCT）での使用を前提とした、全自動かつコンパクトな感染診断装置を目指して開発を続けてきました」（開発者ら）

同研究グループはSATORI法を全自動のRNA検出装置とすべく開発を進めてきた。2022年に最初に開発された、分注機と顕微鏡からなる「opn-SATORI（automated platform on SATORI）」装置は、世界最速検出（9分以内）と高感度（3.9コピー/μL）の両立を達成した。COVID-19の臨床検体を用いた実証実験において、PCR検査法や全ゲノム解析など、他の先進的診断法と比較しても遜色のない、98%の一致率で陽性陰性・変異株を判定できる（図2）。しかしopn-SATORIは、横幅 160cm、奥行70cmと大きく、さらに輝点を検出するための検出部に共焦点顕微鏡が使われているため、非常に高価であるという課題があった。

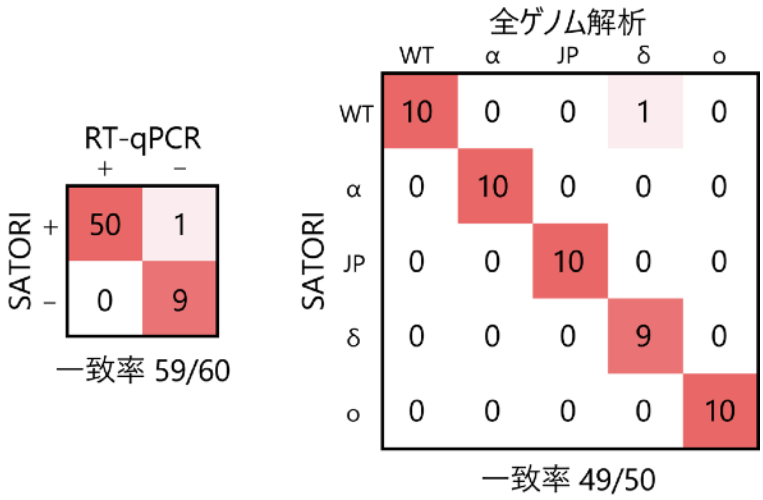

図2 PCR検査法に対するSATORI法の陽性（＋）・陰性（–）判定の一致率（左図）。全ゲノム解析法に対するSATORI法の変異株判定の一致率（右図）。

「大幅なサイズダウンとコストダウンを目指すべく、改良を重ねました。そこで辿り着いたのが、検出部である顕微鏡を市販の一眼レフカメラで代替できないか、ということでした」（開発者ら）

かくして2022年に誕生したのが、「COWFISH（compact wide-field femtoliter-chamber imaging system for high-speed digital bioanalysis）」という装置だった。市販の一眼レフカメラと、広範囲の撮像でも歪曲収差がほとんど生じない「テレセントリックレンズ」を利用することで、高解像度と60万個の微小試験管を一度で撮像することを実現（※3）した。これにより、設置面積比で約7分の1以下へのサイズダウン（横幅35cm、奥行45cm）、検出部の原価を約30分の1以下にコストダウン（約120万円）することに成功した。さらに共焦点顕微鏡では分割して撮影しなければならないことによる検出にかかる時間を、約10分の1（1回の撮像時間が約10秒）にまで大幅に短縮した（図3）。一方で、SATORI法によるRNA検出においては顕微鏡と同等の性能を維持している。

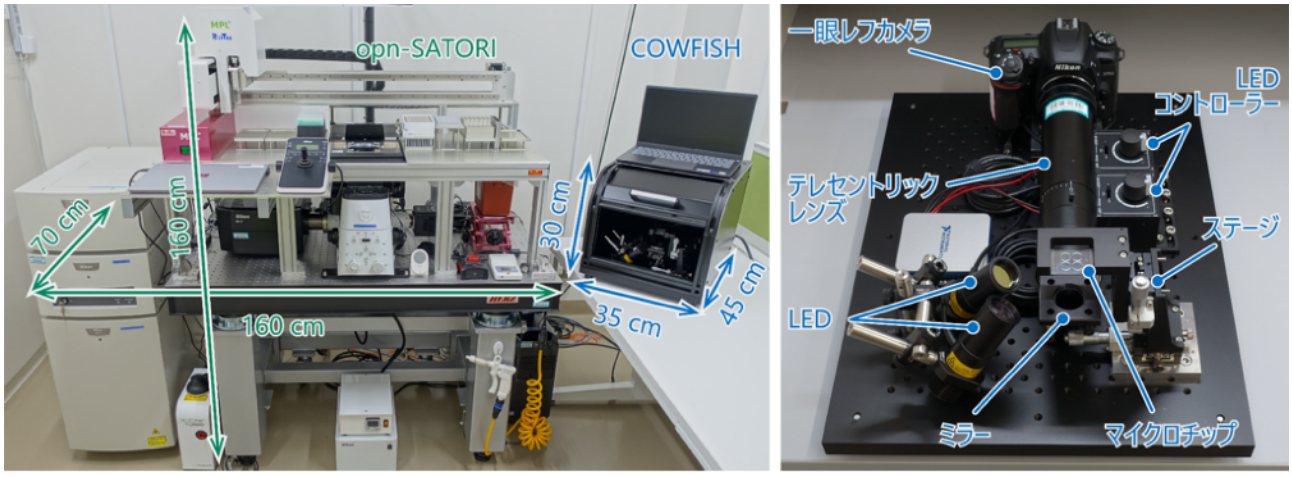

図3 opn-SATORIとCOWFISHのサイズの比較（左図）。COWFISHの部品構成（右図）。

「現在はさらなる小型化（COWFISH2）に向けて改良を重ねています。将来的には卓上分注機に搭載できるくらいにまで検出ユニットを小型化できれば、応用可能性がさらに広がると考えられます」（開発者ら）

※3 視野面積は11.8mm×7.9mm（約60万個の微小試験管を1回で撮像可能）。 空間分解能は3.4マイクロメートル（μm、1μmは100万分の1メートル）。

次の10年は臨床研究に、ゆくゆくはPCR検査法を代替

SATORI法の将来性について、これから先10年間は、臨床研究を加速するための技術・装置として実装を進めたいと開発者らは話す。

「まずはウイルス感染症の検査項目を増やしながら、PCR検査法では診断が難しいような疾患への応用も模索することで、SATORI法ならではの強みを見出したいと考えています。そして将来的にはPCR検査法と並ぶ、また一部では代替するような検査法になることを見越しています。少なくともそのポテンシャルはすでに証明されているはずですから」（開発者ら）

開発者らは現在、日本への流入が危惧されるデング熱やジカウイルス感染症など、蚊が媒介するウイルスの感染症診断法をSATORI法で確立すべく、研究を進めている。開発者らが発明した未来の必需品はますます便利に、正確になることで、これからの人類を守っていくのだろう。