

迅速かつ正確なCOVID-19検出を可能にする紙基板センサデバイスの開発

アンソニー・ジェノ, 南 豪

東京大学生産技術研究所
フランス国立科学研究センター

仏国と日本の技術の融合

Genotグループ (仏国)

核酸抽出・固定化技術
および
粒子分散技術の開発

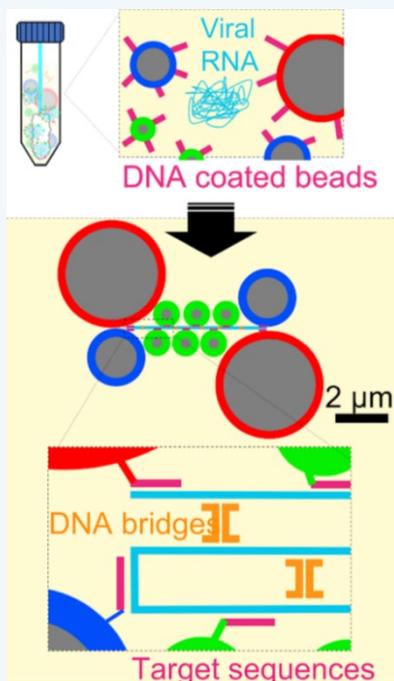
南グループ (日本国)

紙基板型アレイと
機械学習を駆使した
画像解析システム
の確立

二国間の技術の集結

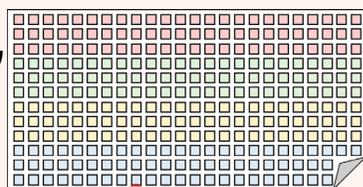
迅速なCOVID-19検出方法の開発

新たなRNA検出法の提案

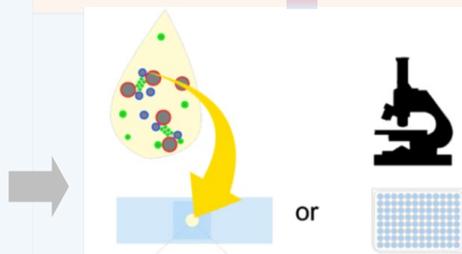


フィードバック

使い捨て可能な
紙基板型アレイによる分析

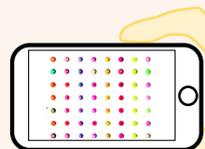


新たな試み



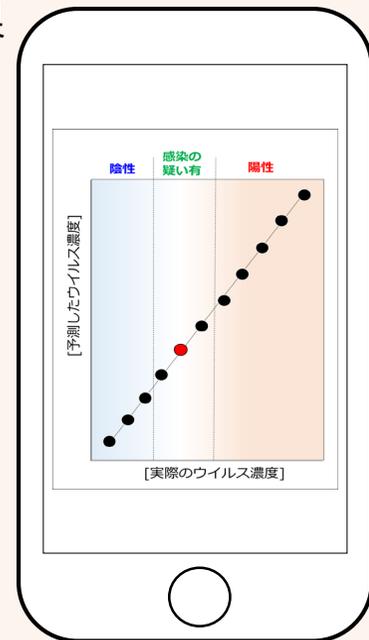
従来の手法

CCDカメラまたはスマートフォンでの撮影,
機械学習による画像解析



診断結果

(将来展望)
アプリによる
診断結果の表示



ANR Flash/J-Rapid FindCov project

Simple, fast and enzyme-free detection of SARS-Cov-2



Deteix
Genot
Lobato
Okumura



Tauran



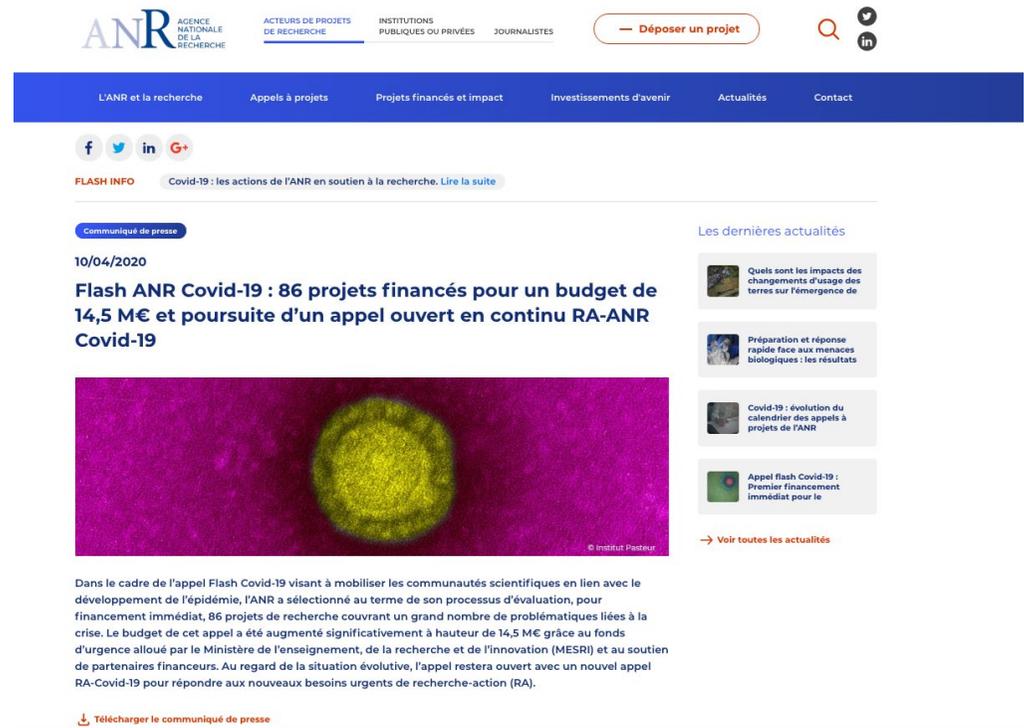
Gines
Rondelez



Fujii
Minami
Sasaki
Kubota

ANR Flash call covid-19

- The french National Agency for Research (ANR) opened a flash call on covid-19 in March. フランス国立研究機構は新型コロナウイルスに関する研究提案を公募
- 予算 : Budget initially 2M€, increased to 14.5 M€ (~16億円)
- 279 applications (提案), 86 projects selected (採択)
- 多様な分野を取り込む (工学、生物学、医学、数学、倫理学、社会学、法律学)

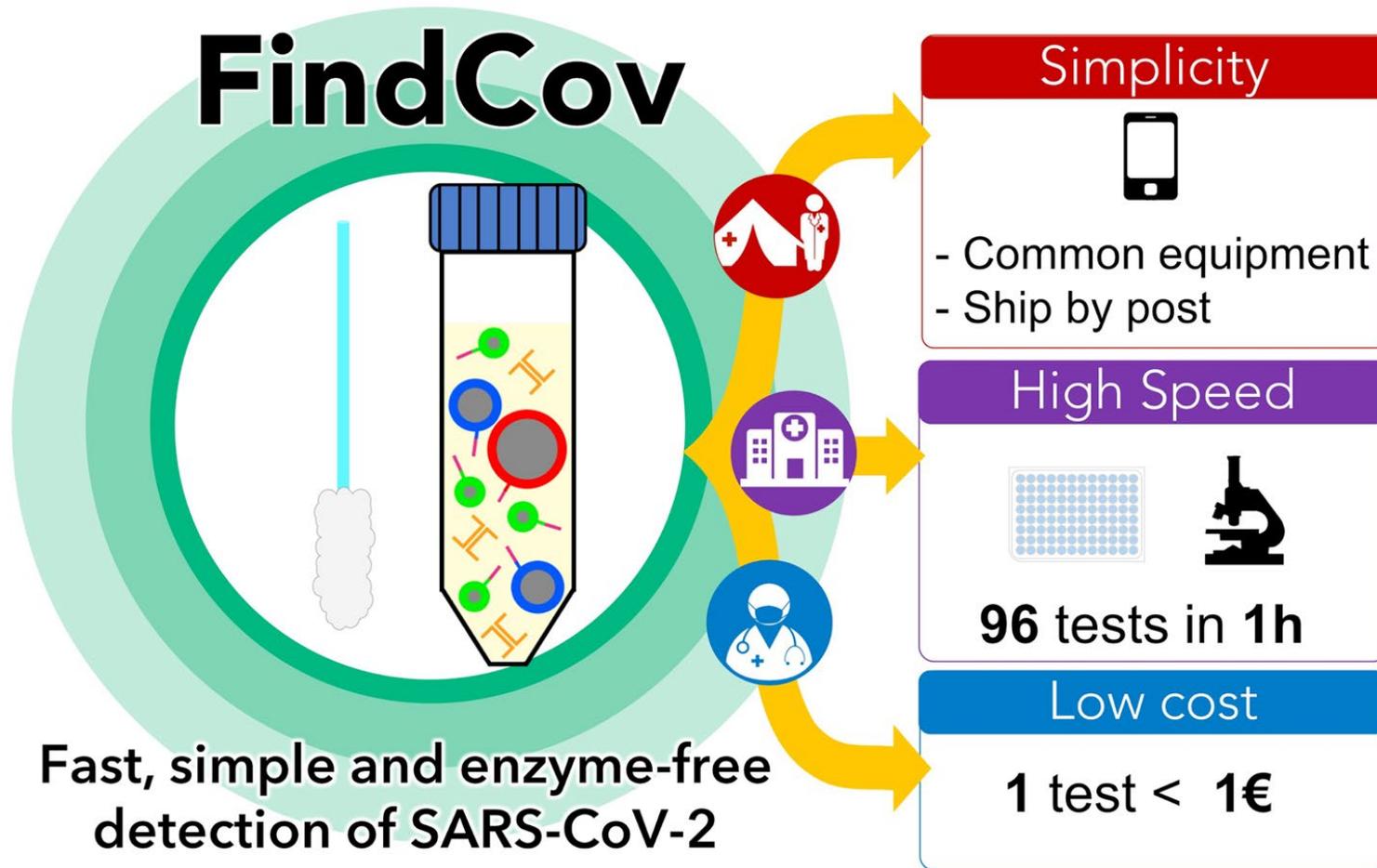


The screenshot shows the ANR (Agence Nationale de la Recherche) website. The header includes the ANR logo and navigation links for 'ACTEURS DE PROJETS DE RECHERCHE', 'INSTITUTIONS PUBLIQUES OU PRIVÉES', and 'JOURNALISTES'. A 'Déposer un projet' button is visible. The main content area features a 'FLASH INFO' section with a date of 10/04/2020 and a headline: 'Flash ANR Covid-19 : 86 projets financés pour un budget de 14,5 M€ et poursuite d'un appel ouvert en continu RA-ANR Covid-19'. Below the headline is a microscopic image of a virus particle. The text below the image states that ANR selected 86 research projects in response to the COVID-19 crisis, with a budget of 14.5 M€. A 'Télécharger le communiqué de presse' link is provided at the bottom.

Examples of themes:

- preventive measures 予防策
- treatments, including vaccines ワクチンを含む治療法
- large-scale testing 大規模検査
- seroprevalence studies 血清学的検査
- epidemiological rebounds 感染の第二波
- unlocking strategies 都市閉鎖の出口戦略

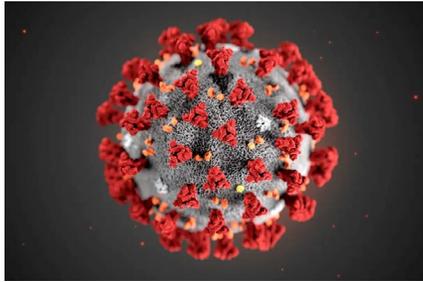
FindCov



目的: 簡単に、早く、酵素を使わずにSARS-CoV2を検出する手法の提案とその実証

従来のCovid-19検査の課題

Covid-19



Features 特徴

- Long incubation time
潜伏期間が長い
- Many asymptomatic carriers
無症状の感染者が多い

Li et al., Science 2020.

Massive testing needed
大規模検査が必須



検査場所

医療現場で
職場で
学校で
空港で

Massive shortage of tests
検査不足が顕著



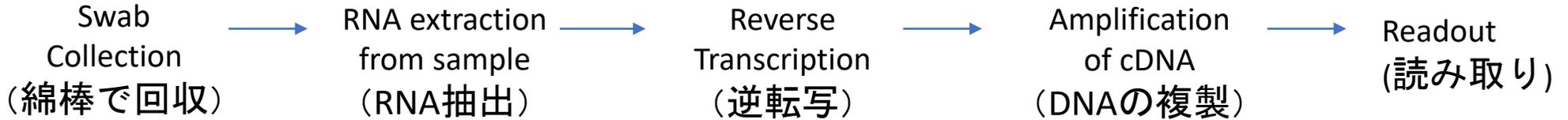
Reasons 理由

- Lack of reagents (薬品の不足)
- Lack of manpower (人手の不足)
- Costs (費用)
- Reliability (偽陽性、偽陰性)

PCR検査

Limitations of PCR (and enzymatic methods)

PCRなど酵素による検査の制約



Shortage of extraction kits
RNA抽出キットの不足



Needs enzymes
酵素が必須

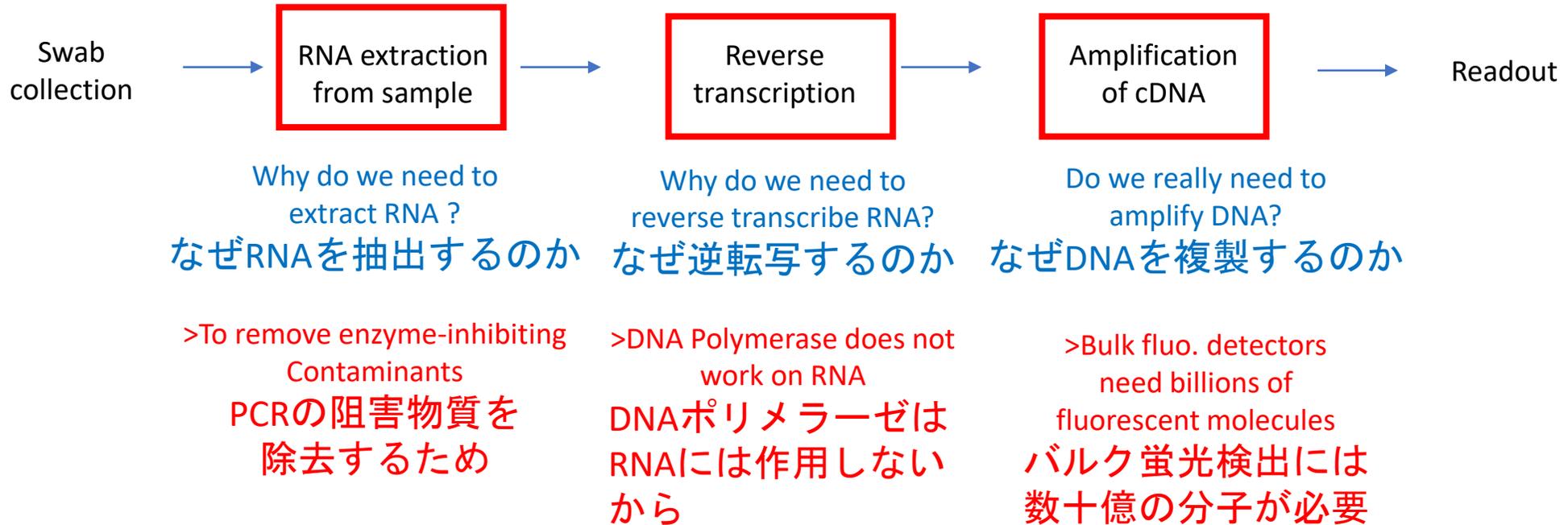


Needs device for temperature cycling and fluorescence reading
温度制御や蛍光読み取りの措置が必須



PCR検査の課題

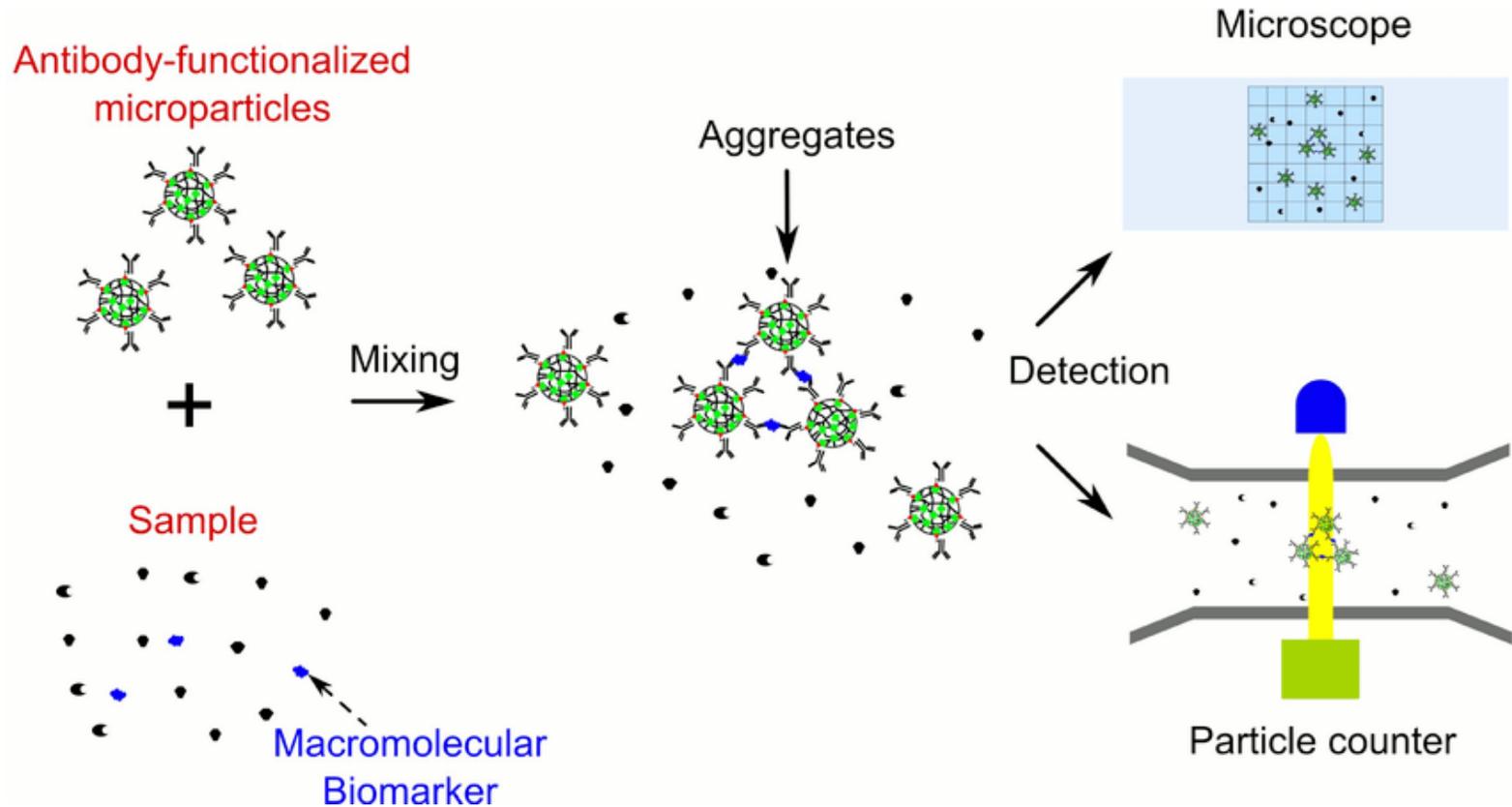
Can we do differently ?



The community of immuno assays has detected proteins for 50 years without all this !

(抗体を用いたタンパク質の検出には煩雑なプロセスは不要である)

ビーズを用いた免疫アッセイ

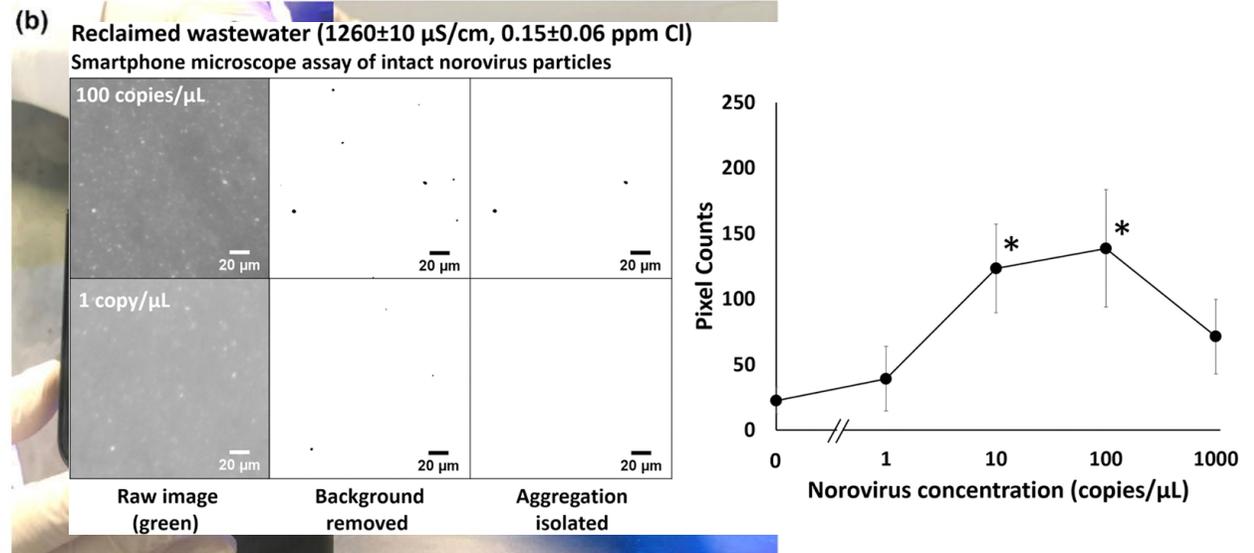
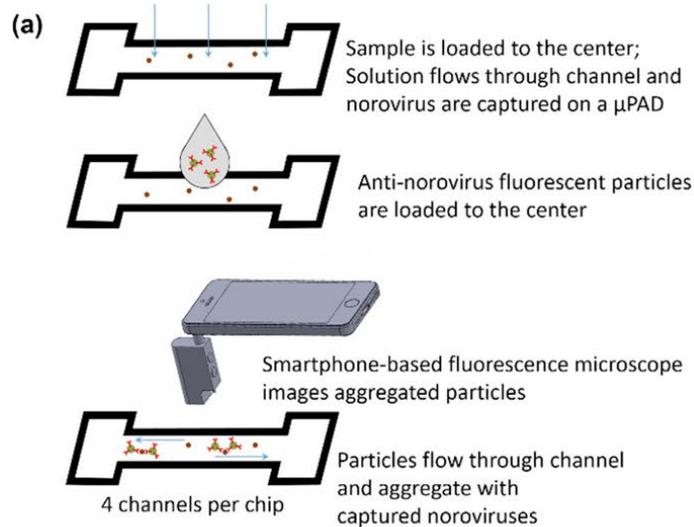


Wu, Haiyan, et al. "A Versatile Microparticle-Based Immunoaggregation Assay for Macromolecular Biomarker Detection and Quantification." *PLoS one* 10.2 (2015).

ミクロなタンパク質の1分子を検出することが困難だが、メゾスコピックな集合体のビーズクラスターを活用すると、可視化できるようになる。

紙基板型マイクロ流路センサ

“Smartphone-Based Paper Microfluidic Particulometry of Norovirus from Environmental Water Samples at the Single Copy Level”, Soo Chung et al., ACS Omega 2019



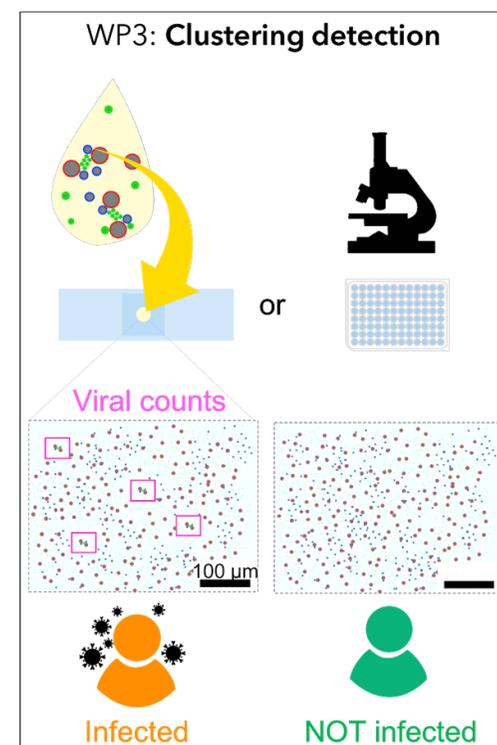
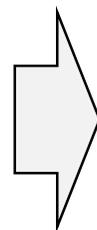
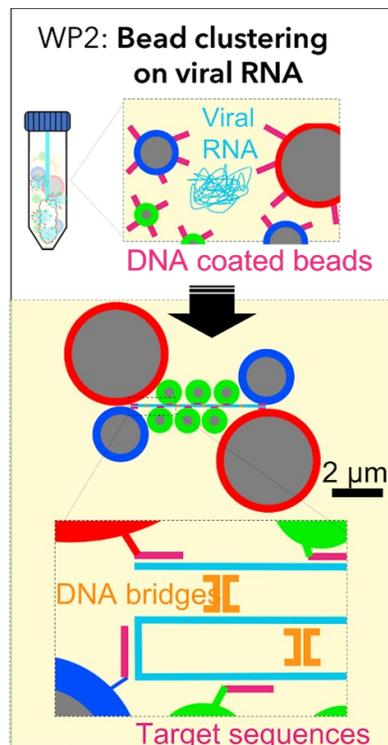
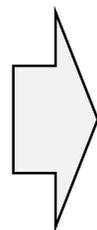
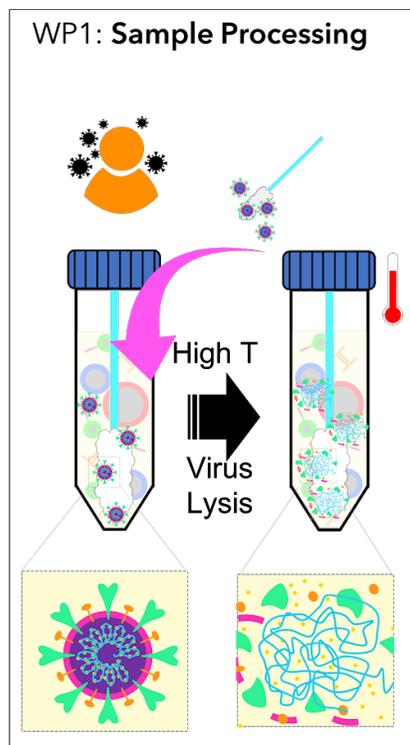
Typical viral load of Covid: ~ 1000 copies/ μL (Wang et al., 2020, JAMA)

Covid RNA ($\sim 20 \mu\text{m}$) is much bigger than a typical protein ($\sim 10 \text{ nm}$)



新たなRNA検出法の提案

Genotグループ (仏国)



- Direct lysis by heat
加熱しRNAを放出させる
- Protect RNA from degradation
(acidic pH, RNase inhibitors,
chelating agents)
RNA分解を防ぐ試薬を調製

- Assembly of beads cluster on the
RNA (~20 μm).
RNA
を折り畳んでビーズクラスタ
ーを集合させる
- Passive diffusion of beads or
active mixing...

- Directly count clusters
クラスターの直接カウント
- Several techniques available
(Dynamic Light Scattering,
Optical detection...)

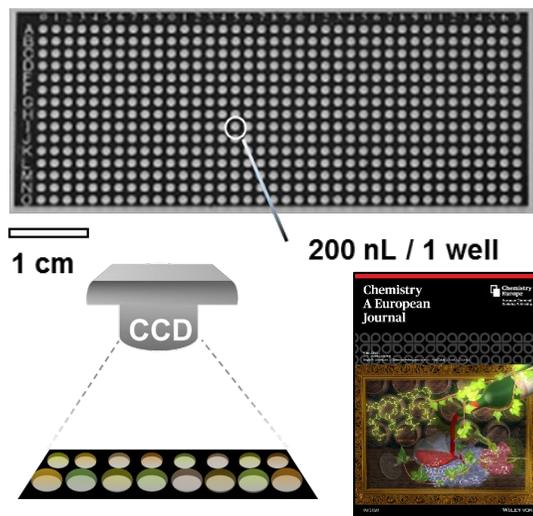
RNA検出用ビーズの開発



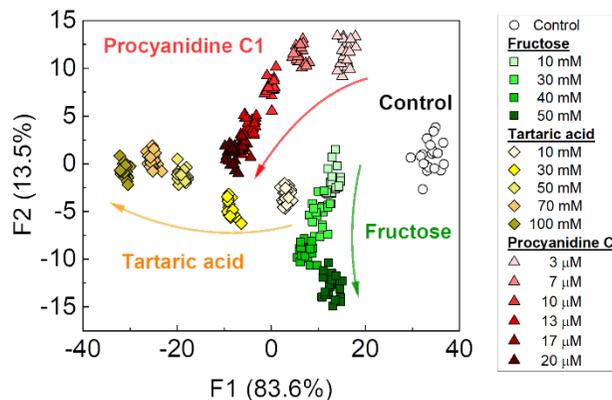
使い捨て可能な紙基板型アレイの開発

南グループ (日本国)

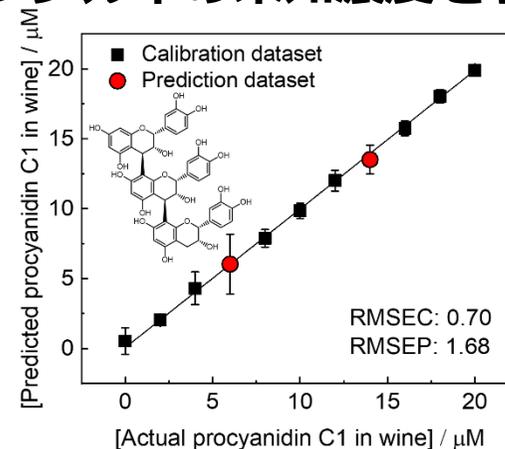
画像解析技術を組み合わせた多成分同時分析



成分と濃度を判別



実サンプル中の未知濃度を予測



T. Minami et al., *Chem. Eur. J.* 印刷中, 論文表紙に選定

紙基板型デバイス (PADs) T. Minami et al., 投稿中

■ 低コスト, 軽量, 使い捨て可能, ごく微量のサンプル量での分析が可能

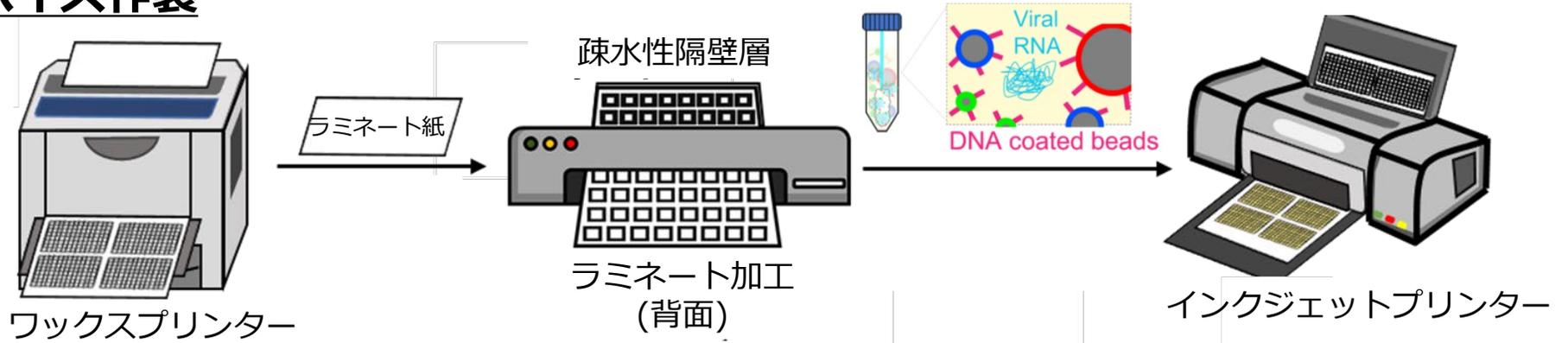
G. M. Whitesides et al., *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 5990; D. Citterio et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 5294.



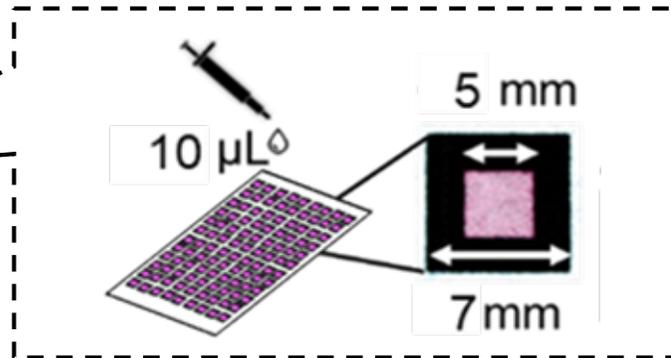
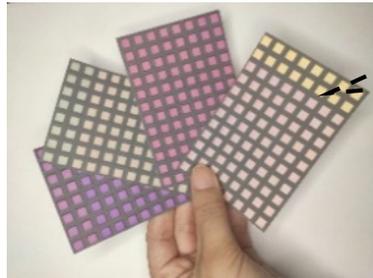
画像処理と紙基板型アレイを組み合わせた分析

RNA検出用ビーズを実装した紙基板型アレイ

デバイス作製



サンプリング



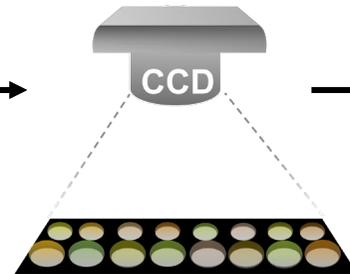
目視での認識



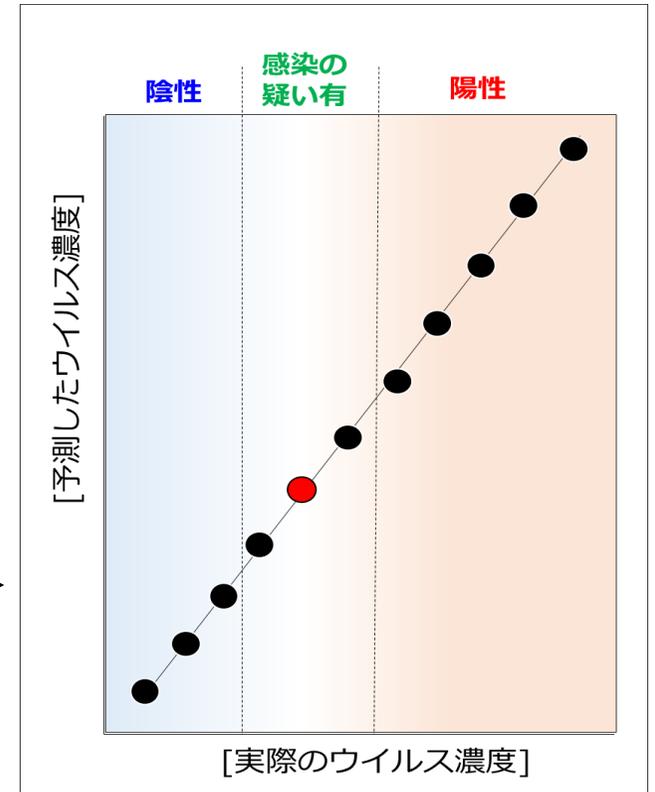
低 高



撮像



画像解析



研究計画



Genot Grp.(仏国)

RNA抽出法の最適化

標的RNAに結合するDNAのビーズ固定化

画像解析を用いたRNA-DNA相互作用の可視化

ヒト由来サンプルを用いたRNA検出



南 Grp. (日本国)

紙基板デバイスの
パターンニングの最適化

画像解析アルゴリズム
の開発及び最適化

擬似的な実サンプルを用いた予備的検証

紙基板デバイスを用いたRNA検出と、スキャナー
による撮像および機械学習を用いた画像処理

スマートフォンによる撮像及び
機械学習を用いた画像処理

紙基板デバイスを用いたヒト由来サンプルを用いたRNA検出と機械学習を導入した迅速な画像処理

フィードバック

フィードバック

フィードバック

フィードバック

フィードバック

二国間の技術を融合した新たな検査法の提案

Genotグループ (仏国)

南グループ (日本国)

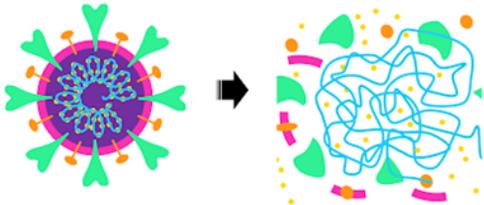
核酸抽出・固定化技術
および
粒子分散技術の開発

紙基板型アレイと
機械学習を駆使した
画像解析システム
の確立

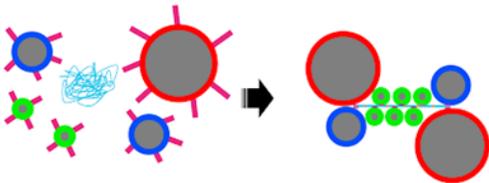
二国間の技術の集結



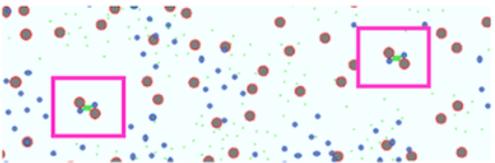
WP1: Sample Processing



WP2: Bead clustering
on viral RNA

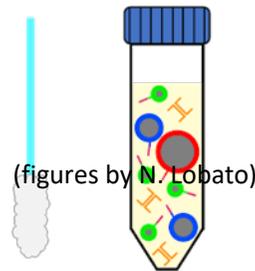


WP3: Clustering detection



FindCov

WP4: Full
Packaged-assay



WP5: Clinical Validation



Simplicity



- Common equipment
- Ship by post
(no enzymes)

High Speed



96 tests in 1h

Low cost

1 test < 1€