

# QOL (Quality of Life: 生活の質) 向上を実現するための、超高感度で迅速な遺伝子診断装置の開発に関する研究

家政学部 環境教育学科 池田壽文・藤森文啓 / 家政学部 栄養学科 峯木眞知子

## 背景および目的

遺伝子を超高感度で迅速に診断できる機器の開発は、POCT 分野で QOL 向上が期待できることから、ヒトの生 (Life) の多様なステージを支える一手法として有効である。具体的には、i) 極微量の標的遺伝子 (ウィルスや miRNA など) の効果的な捕捉・濃縮技術、ii) 極微量の標的遺伝子を検出できる超高感度認識技術、iii) 上記 2 つの技術開発に資する機能性素材およびその技術基盤、の開発である。我々は、これらの技術開発を実施し、その集合体としての「PCR 増幅を必要としない動的遺伝子解析装置」の開発を目的として行う。

## 方法

昨年度は、当初予定していた年次計画は順調に進み、また、上記「極微量の標的遺伝子を検出できる超高感度認識技術」に関しては、予定より早く特許基礎出願を果たすに至った。しかし、技術開発が終了したわけではなく、あくまでも新規性のある技術開発ができたという段階であるので、特許公開までに更なる技術開発を実施して、特許内容の完成度を高めていく必要があった。

本年度は、共同研究先である (株) ヨコオと連携

強化して以下の課題について解決していった。すなわち、

- ① 感度認識技術 (前述 ii の技術) の開発: 人工機能核酸として選択した PNA (ペプチド核酸) を遺伝子診断装置のセンサー部に使用するための技術開発をまとめる (→すでに終了。文献 1)。また、1 年後の特許公開を見据えて、特許内容の充実を図る。
- ② 遺伝子を効果的に捕捉・濃縮可能な技術 (前述 i の技術) の開発: ①とともに、遺伝子を効果的に捕捉・濃縮可能な技術をまとめ、特許基礎出願を目指す。①のセンサー部に導入する試料はウィルスや miRNA などを想定しているが、それら標的遺伝子を抽出して試料とする必要がある。前半終了までに目途を立てたい。後半からは、1 年後の特許公開を見据えて、特許内容の充実を図る。
- ③ ①②に基づく技術基盤 (前述 iii の技術) の開発: センサーの基本設計が終わった後で、モデル遺伝子を用いた真贋判別の高感度化を実施する。アットモルレベルの検出感度を目標とする。

## 結果

- ① 感度認識技術 (前述 ii の技術) の開発: センサー

部として使用する検出用チップのスペック、試料の導入方法、検出に使用する計測方法及び計測機器の作製や、得られたデータを利用した解析方法、など、ノウハウに相当する部分も含めて開発がほぼ終了し、センサー部の作り込みができた。これにより、特許性が飛躍的に向上し、国際特許 PCT 出願に切り替えた (文献 1)。

- ② 遺伝子を効果的に捕捉・濃縮可能な技術 (前述 i の技術) の開発: 研究の過程で、効果的に試料を抽出・濃縮する技術は、標的遺伝子を包むキャプシドやエンドゾームといった外壁を取り除く工程と取り除いた後の内用液から標的遺伝子のみを捕捉する工程の 2 工程に分離する必要があることが判明した。そこで、本年度は、後者の内用液から標的遺伝子のみを捕捉する技術開発を優先して実施した。その結果、標的遺伝子以外の物質は捕捉することなく、標的物のみを効率よく捕捉する技術開発に成功し、特許基礎出願した (文献 2)。
- ③ ①②に基づく技術基盤 (前述 iii の技術) の開発: 主に①の技術を利用しながら検出感度の向上を実施した。その結果、モデル実験系においてアットモルレベルでの標的遺伝子の検出が可能となった。

## 考察

当初予定していた年次計画①～③はほぼ順調に進んだ。ただし、②の計画の中で 2 つ工程にする必要性がでてきたため、来年度以降にその開発をする必要が生じた。①の感度認識技術は基本的な開発要素がすべてクリアになった。このことは、目的に合わせたさまざまな装置開発が可能になったことを意味し、その時点で当初目的を達成したといえる。また、検出感度はアットモルレベルで安定的な検出が可能となった。現在上市されている最先端の遺伝子検出キットはアットモルレベルであり、それと比較しても全く遜色のない結果が得られたことになる。しかも、前出の遺伝子検出キットはほとんどが光応答性

技術を応用したものであり、そのために大掛かりな検出機器を設置しなければいけないことや専門知識を有する技術者のみを取り扱い可能なことなどの制約がある。我々は電気化学分野に基づいた非常に基礎的な技術で構成されているので、診断装置としても安価なコストで販売が可能となうえ、専門的な知識がなくても利用可能な操作を目指すことが可能である。その点で、すでに世界的に見て最先端の診断装置としてのポテンシャルの高さがあると断言できる。

## 今後の展望

しかしながら、最終的な目的は、これら開発した技術の集合体としての「PCR 増幅を必要としない動的遺伝子解析装置」の開発である。それを遂行するために、以下の開発が具体的に必要となってくる。

- ① アットモルレベルの感度からzeptoモルレベルの感度への向上を目指すこと: 標的遺伝子の多くはごく微量 (zeptoモルレベル) しか存在しないものが多い。今後、現在の約千倍の感度向上をしていく必要がある。
- ② 第三者による技術評価を求めること: 現在は、(株) ヨコオとの 2 者間であるが、遺伝子情報を保有している臨床医や製薬メーカーとの連携を模索していく必要がある。
- ③ 研究開発を促進させるための開発支援体制を整えること: 本計画を確実に遂行する上で、研究開発費や人的リソースを増やすことは重要である。今後は、技術に関する情報発信をしつつ、外部研究資金の獲得について検討していく必要がある。

文献 1: PCT/JP2019/40922 「極微小溶液による核酸のハイブリッド方法」、PCT/JP2019/45252 「電気化学測定に於けるハイブリッド作業環境」、Label-Free Detection of Zeptomol miRNA via Peptide Nucleic Acid Hybridization Using Novel Cyclic Voltammetry Method. Sensors 2020, 20, 836-852.

文献 2: 特願 2020-015458 「人工核酸に基づくアフィニティークロマトグラフィー」