

## 平成 19 年度顕在化ステージ 事後評価報告書

シーズ顕在化プロデューサー所属機関名:株式会社ニューロサイエンス

研究リーダー所属機関名 :早稲田大学

課題名:無拘束下の小動物遺伝子および ATP 発現モニター装置の開発

### 1. 顕在化ステージの目的

小動物の脳や末梢組織の遺伝子発現を経時的に測定する装置である。種々の遺伝子のプロモーターに luciferase 遺伝子を繋ぎ遺伝子発現を生物発光でモニターする系は、培養細胞等では広く普及した方法である。ところが、生きた動物でこれを行うことは非常に難しい。実際インビボイメージングがあるが、麻酔下のみで可能である。そこで、本提案した装置が完成し普及すれば、動物の行動や生理機能のモニターと同様に使える指標となる。また本装置の生化学反応では ATP を基質とすることから、細胞外の ATP をモニターすることが可能である。実際、炎症、虚血などが起こった場合には ATP の細胞外への流出が知られており、これをモニターする系としても使える。類似装置としてインビボマイクロダイアリスがあり、この装置と一体化して遺伝子発現と物質変化を同時にモニターすることもできる。

### 2. 成果の概要 ※研究実施者の完了報告書より抜粋

#### ○大学の研究成果

本研究の目的はマウスを用いて無拘束で遺伝子あるいは ATP の発現調節パターンを観察できる装置を開発することである。すなわち、セルラインやプライマリーの培養細胞を用いた研究ではなく、また、インビボイメージングのように麻酔下でもなく、生体の行動している状態での遺伝子発現調節を見ることである。本装置は、ルシフェリン-ルシフェラーゼによる生物発光を光ファイバーで計測するものである。この反応には ATP が必須であり、ATP の変動をリアルタイムに測定できる。脳圧増加防止と動物拘束防止のために、マイクロダイアリスの方法を改良して測定を試みたが、プローブの大きさ、感度、ファイバーの太さの3条件を満たす条件を見いだすことはできず、それぞれのパラメータを検討する必要がある。

#### ○企業の研究成果

まず、マイクロダイアリスに光ファイバーを接着させるシステムを考案して試したが、ルシフェリンのダイアリスがうまくいかず、発光を捉えることができなかった。そこで発想を転換させ、光ファイバーをマイクロダイアリスのプローブの中に閉じこめて、ルシフェリン、ルシフェラーゼは外に出さず、ATP がプローブ内に進入し、ATP を定量的に測定可能とする方法を考案した。この方法は画期的であると思われたが、時間不足のため、ファイバーの選択や効率のよい構造決定までに時間がかかり、インビボでの生物発光リズムの経時的測定が検証できなかった。生体から放出される光子を効率よく伝達する素材の選択で、十分に検討、検証を行い、ATP 測定センサー完成に持ち込みたい。一方、計測装置、データ収録ソフトは完成した。今一歩なので、今後、インビボに対応するセンサーを製作し、データの検証を行い、実際の実用に耐えうる装置に完成させたい。

### 3. 総合所見

当初の目標に対して期待したほどの成果は得られなかった。ファイバー性能等に関する目標の未達から、生体内の生物発光を計測することができなかったが、当初の発想を転換させ、プローブ内ですべてを処理できるよう検討を進めている。計測装置、データ収録ソフトは完成しているが、ファイバー性能等、根本から見直し、本顕在化ステージでの課題を抽出した上で、今後目標達成に向けて挑戦していただきたい。