

世界最速のSNP検出装置:個別化医療の実現に向けて廉価、迅速、正確なSNP検出を実現

チームリーダー 長倉 誠 (バイオテック株式会社・代表取締役社長)

Keyword 個別化医療、ポイントオブケア、一塩基多型(SNP)、SmartAmp、薬物代謝酵素、副作用

タイプ プロトタイプ実証・実用化タイプ

開発課題名 世界最速SNP診断装置の開発

■ 参画機関: (独) 理化学研究所、(株) ダナフォーム

■ 開発期間: 平成21~22年度

課題概要

「個の医療」を実現する上で、安価で正確、迅速なSNP診断方法とその装置開発は必要不可欠である。30分以内で遺伝子多型診断するSmartAmp法を技術基盤として世界最速SNP診断装置を開発し、薬物トランスポーターや薬物代謝酵素等の遺伝子多型診断を実現することを目指す。本開発において、国産技術の粋を集積したSNP診断装置プロトタイプの性能を検証し更なる性能アップを目指す。

得られた開発成果の概要

安価で正確、迅速なSNP診断方法とその装置開発は、「個の医療」を実現する上で必要不可欠である。しかしながら、従来のPCR法、Invader法、DNAチップ法等は海外企業によって開発されたものであり、遺伝子診断のたびに海外企業に特許使用料を払わなければならず、わが国の医療制度にとって不利である。したがって、「個別化医療」を広く普及させるためには、わが国が独自の技術に基づくSNP検出装置を開発し、それを実用化することが不可欠である。

当該JSTプロジェクトにおいて、我々はわが国独自の技術で世界最速のSNP検出装置を開発する。

理化学研究所とダナフォーム社が開発したSmartAmp法によるSNP検出反応を現在開発中の装置の中で行い、光学的にSNP検出する。

プロト機による性能検証および改良を行い、既存装置と比較して同等の結果が得られた。性能検証項目; 検出感度、反応量、温度精度

量産試作機の開発

- 量産試作機の新規蛍光試薬が測定可能な装置
- 各ユニットの小型化に向けた設計
- ソフトの開発
- 評価テスト



図1 量産試作機

腋臭症に關与するABCC11 遺伝子のSNPを検出する試験を実施して、良好な結果を得た。

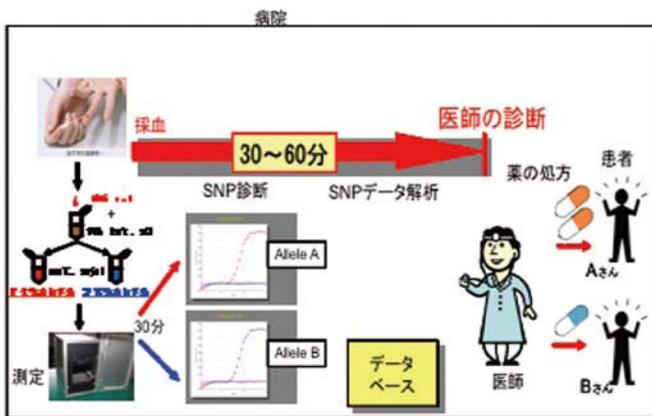


図2 個別化医療における

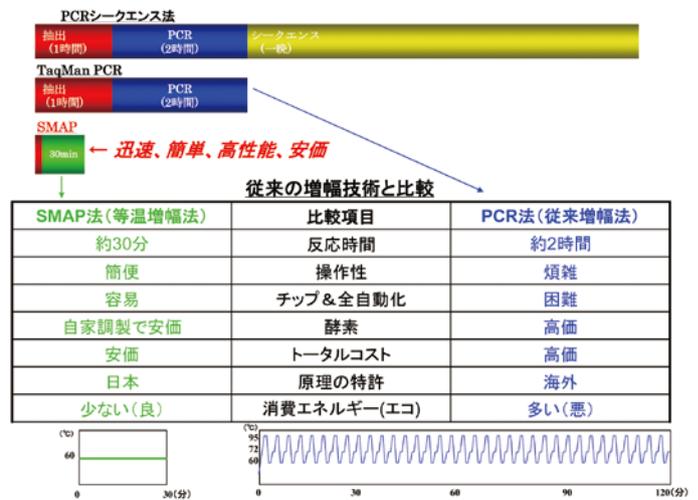


図3 従来のSNP診断技術と比較

新たな遺伝子診断によりオーダーメイド医療の実現が可能に

個別化医療の市場が望むSNP診断装置のニーズは、安価、迅速性、正確性である。具体的には、1検体あたり、数千円以下、診断時間30分以内、100%の正確さが求められる。またさらに、ユーザーが望む機能としては、1検体でも100を超える多検体でも、同様に簡便迅速に診断できる手法ならびに製品が望まれる。

SNP検出装置には一定の温度に保温する加熱装置、および微弱蛍光を検出するための励起光源・検出器を収める必要がある。そこで加熱・励起光・検出それぞれのユニットの小型化、およびコストダウンの検討を行っている。また96wellを同時に且つ均一に測定する方法、および2波長の蛍光色素が測定可能な光学系の開発を行っている。加熱装置に関しては、温度の均一性および温度制御(温度上昇時間の短縮、オーバーシュート)が課題であるが、その解決には目処がたった。

■特許的優位性：ユニークな反応

SmartAmp法は、血液をアルカリ熱変性させた後、中等度好熱好酸菌 *Alicyclobacillus acidocaldarius*

(Aac) 由来の鎖置換活性を有するAac DNAポリメラーゼを用いて等温(60°C)で30分間DNA増幅させることにより遺伝子型(野生型ホモ、ヘテロ、または変異型ホモ)を判定する方法である。さらに、指数関数的に上昇するバックグラウンドを抑えるために2つの新技術が用いられている。1つは、高度好熱性細菌 *Thermus aquaticus* (Taq) 由来ミスマッチ結合タンパク質 Taq MutSで、MutSがミスマッチ部位に結合することでバックグラウンドを抑えることができる。もう1つは、非対称プライマーを用いたことである。

■国際市場における優位性の確立

遺伝子多型診断に基づく個別化医療を実現するには、薬物動態に關与する薬物代謝酵素とトランスポーターに限定して、その遺伝子多型を検査する装置とプライマーを製作して販売する。そして将来、総合病院ばかりでなく地域の診療所でも使用できるように、その結果をICチップに掲載し、その情報を読み取ると最適な医薬品と最適処方量の情報を得られるようなトータルシステムを開発する。

上記成果の科学技術的根拠

【発表論文等】

- Mitani Y. *et al.* Rapid SNP diagnostics using asymmetric isothermal amplification and a new mismatch-suppression technology. *Nature Methods* 4(3), 257-262 (2007)
- Mitani Y., Lezhava A., Sakurai A., Horikawa A., Nagakura M., Hayashizaki Y., and Ishikawa T. A rapid and cost-effective SNP detection method: Application of SmartAmp2 to pharmacogenomics research. *Pharmacogenomics* 10(7), 1187-1197 (2009)
- Ishikawa T., Sakurai A., Hirano H., Lezhava A., Sakurai M., and Hayashizaki Y. Emerging new technologies in pharmacogenomics: Rapid SNP detection, molecular dynamic simulation, and QSAR analysis methods to validate clinically important genetic variants of human ABC Transporter ABCB1 (P-gp/MDR1). *Pharmacol. Ther.* 126, 69-81 (2010)