

プログラム名：豊かで安全な社会と
新しいバイオものづくりを実現する人工細胞リアクタ
PM 名：野地 博行
プロジェクト名：「はかる」人工細胞デバイス

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成果)

平成 2 9 年 度

研究開発課題名：

超高感度デジタル ELISA 計測システムの開発

研究開発機関名：

アボット ジャパン株式会社・総合研究所

研究開発責任者

吉村 徹

I 当該年度における計画と成果

1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

本課題では、現在、基礎研究レベルにある 1 分子単位で標的抗原分子を検出できるデジタル ELISA を臨床検査現場へ実装するため、実際に臨床現場で高感度化の要望の高いマーカー検出試薬の開発、汎用的検出試薬キットの開発、疾患と関係する血中微量分子検出試薬の開発を進める。また、開発する試薬の評価及び実装に向けて、簡便なデジタル ELISA デバイスの開発とシングル測定用デバイスの開発を並行で進める。本年度は、以下の項目を実施する。

目標: 臨床現場で高感度化の要望の高いマーカー検出試薬開発

臨床検体を用いた特異性: 臨床検査試薬として要求されるレベル

酵素反応ステップ時間: 臨床検査試薬として要求されるレベルの測定時間を満足できる

変異抗原を検出できる試薬の導入(変異抗原パネルで評価)

患者臨床検体を用いた PCR との比較検討を開始

汎用的検出試薬キットの開発

ターゲット分子: 2 種類

検出感度: 対照試薬(アボットが有する免疫測定法等、現在使用されている測定)の 10 倍

疾患と関係する血中微量分子検出試薬の開発

検出感度: 対照試薬(アボットが有する免疫測定法等、現在使用されている測定)の 10 倍

超高感度法でしか検出できない未知の診断マーカーを 1 種類以上選定

簡便なデジタル ELISA デバイスの開発

部材を決定

決定した部材でのフェムトリットルチャンバーの直径・深さ・間隔を決定

ビーズ封入率 50%以上

封入後 60 分までチャンバーからのリーク無

全てのステップを装置で可能

シングルデバイスの開発

デバイス基本デザイン候補の選定

ブレッドボード(プレプロトタイプ)装置を用いた試薬・システムの評価を開始

2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

2-1 進捗状況

臨床現場で高感度化の要望の高いマーカー検出試薬開発

構築したデジタル ELISA の評価を全自動装置で実施し、臨床検査試薬として要求されるレベルの特異性結果を得た。

全自動装置での検出感度は、臨床検査試薬として要求されるレベルの測定時間を満たす酵素反応ステップ時間で、現在臨床検査薬市場で一般的に使用されている免疫測定試薬の約 300 倍の

検出感度を達成した。しかしながら、臨床検査薬として求められるレベルのアッセイ再現性にはまだ到達しておらず、更なる改良が必要と考えられる。

変異抗原を検出できる試薬の開発を実施した。導入評価を予定している。

患者臨床検体を用いた PCR との比較検討を開始した。

汎用試薬キットの開発 及び 疾患と関係する血中微量分子検出試薬の開発

2 種類のターゲット分子についてデジタル ELISA を構築し、性能を確認した結果、1 つのターゲット分子 (Marker 1) については現行法の約 300 倍の検出感度を得られており、もう一つ (Marker 2) では約 100 倍の検出感度であった。しながら、Marker 2 は臨床検査試薬として要求される測定時間の倍以上の時間を要しており、更なる改良が必要である。

簡易なデジタル ELISA デバイスの開発 及び シングルデバイスの開発

簡易なデジタル ELISA デバイスの部材を決定し、決定した部材でのフェムトリットルチャンバーの直径・深さ・間隔を決定した。また、アッセイの全てのステップを装置で実施し、ビーズ封入率 50%以上、封入後 60 分までのチャンバーからのリーク無を確認した。

シングルデバイスについては、簡易なデジタル ELISA デバイスの結果を基にデバイス基本デザイン候補を選定し、ブレッドボード(プレプロトタイプ)装置を用いた試薬・システムの評価を実施している。

2-2 成果

課題と目標	成果
臨床現場で高感度化の要望の高いマーカー検出試薬開発 ・臨床検体を用いた特異性：臨床検査試薬として要求されるレベル ・酵素反応ステップ時間：臨床検査試薬として要求されるレベル ・変異抗原を検出できる試薬の導入(変異抗原パネルで評価) ・患者臨床検体を用いた PCR との比較検討を開始	・全自動装置で特異性及び酵素反応ステップ時間は要求されるレベルに到達 ・変異抗原を検出できる試薬導入予定 ・患者臨床検体を用いた PCR との比較検討開始
汎用的検出試薬キットの開発 ・ターゲット分子：2 種類 ・検出感度：対照試薬(アボットが有する免疫測定法等、現在使用されている測定)の 10 倍	・Marker 1 および 2 で実施 ・Marker 1 で約 300 倍。Marker 2 で約 100 倍の検出感度
疾患と関係する血中微量分子検出試薬の開発 ・検出感度：対照試薬 (アボットが有する免疫測定法等、現在使用されている測定) の 10 倍 ・超高感度法でしか検出できない未知の診断マーカーを 1 種類以上選定	・上記 Marker 2 参照。

簡便なデジタル ELISA デバイスの開発 ・部材を決定 ・決定した部材でのフェムトリットルチャンバーの直径・深さ・間隔を決定 ・ビーズ封入率 50%以上 ・封入後 60 分までチャンバーからのリーク無 ・全てのステップを装置で可能	・部材を決定 ・フェムトリットルチャンバーデザイン決定 ・ビーズ封入率 60～80% ・封入後 120 分以上リーク無 ・全自動装置で実施
シングルデバイスの開発 ・デバイス基本デザイン候補の選定 ・ブレットボード(プレプロトタイプ)装置を用いた試薬・システムの評価を開始	・基本デザイン候補決定 ・全自動装置で評価開始

2-3 新たな課題など

アッセイ再現性 (CV%) の改良。

酵素反応時間を含むアッセイ時間の短縮。

3. アウトリーチ活動報告

なし。