

平成18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：システム・インストルメンツ株式会社

研究リーダー所属機関名：東京農工大学

課題名：光導波路測定装置を用いたレジオネラ簡便検出用DNA センシングシステムの開発

1. 顕在化ステージの目的

温水施設で発生し、肺炎等の重篤な疾病をもたらす Legionella を簡便・迅速に高感度検出するために、Zn finger 蛋白質と光導波路測定装置を用いて、Legionella 特異的な塩基配列を増幅したPCR産物を検出するシステムを開発する。通常PCR産物は、電気泳動でその増幅を確認するが、非特異的増幅との区別するのが難しい。その特異性確認には通常DNAプローブが用いられるが、二本鎖DNAであるPCR産物に効率よくDNAプローブをハイブリダイゼーションさせるのは難しい。そこで、二本鎖DNAの塩基配列を特異的に認識するZn finger 蛋白質を用いてPCR産物を検出する独創技術を開発する。

2. 成果の概要

大学の研究成果

光導波路測定装置によるDNAセンシングシステムの構築を目指し、Zn finger 蛋白質をPCR産物の塩基配列特異的分子認識素子として用いて研究を行った。その結果、Legionella を特異的に検出できるZn finger 蛋白質をクローニング、生産、精製し、これがLegionella 特異的なPCR産物に特異的に結合することを確認した。また、Zn finger 蛋白質を光導波路基板上に固定化し、光導波路測定装置の作製を可能にした。更に、Zn finger 蛋白質とコントロールDNAを組み合わせて、偽陰性を判別する手法を開発した。微生物検出において偽陰性の判別は必要不可欠であり、意義の大きい成果である。

企業の研究成果

プラズモン光導波路分光装置で、Znフィンガー蛋白を固定化した光導波路を使用することにより、レジオネラ菌の合成ds-DNAを、数百秒間でSPRの差として52nmで検出することに成功した。尚、測定原理・装置は、第3者の特許に抵触することはなかった。また、浴槽設置業者から少なくとも年間約79,500件の法的な測定ニーズがあることが解った。競合品としてはリアルタイムPCR装置があげられたが、Znフィンガー蛋白による方法は、ハイブリダイゼーションを必要としないので、正確性の面で顕著な優位性が期待できる。

3. 総合所見

挑戦的な課題であり、産と学の適正な役割分担、効率的な連携が図れており、質量ともレベルの高い検討がなされた。その結果、検出技術開発の原理確認に成功しており、従来の技術的課題をクリアーする新たな知見や技術を構築し、目標とする課題解決に至っている。