

「先進的統合センシング技術」

平成 17 年度採択研究代表者

安田 二郎

(科学警察研究所 室長)

「全自動モバイル型生物剤センシングシステム」

1. 研究実施の概要

生物剤を使った犯罪・テロが発生した際には、使用された生物剤の迅速な同定が被害の最小化や蔓延防止と犯罪捜査に最も重要である。そこで我々は、テロ・犯罪に利用される可能性の高い約 20 種類の生物剤について現場レベルで迅速・安全・高感度かつ簡便に同時検知が可能なマイクロアレイ法をベースとした機器システムを開発する。本年度は 4 種類の生物剤について遺伝子増幅法と DNA チップを開発し、高感度に特異的検出が可能であることを確認した。研究計画終了年度までに 20 種類の生物剤について特異検出を可能にするとともに、全自動化に関わる各要素機能ユニットの開発及び一元化システムとしての統合を行い、全自動モバイル型生物剤検知システムを完成させる。

2. 研究実施内容

<目的>

生物剤を使った犯罪・テロが発生した際には、使用された生物剤の迅速な同定が被害の最小化や蔓延防止と犯罪捜査に最も重要である。しかしながら、バイオテロ・犯罪に利用可能な生物剤は多種多様であり、個々の生物剤について一対一の検出法を行っていたのでは時間がかかりすぎる。また、検出法の確立されていない対象生物剤もあり、更には、感染症発生が本邦において報告されていない生物剤については対応が遅れるケースも想定される。そこで、これらの事案に対応するために本研究では米国疾病予防管理センター (CDC) がテロ・犯罪に利用される可能性の高い生物剤として Category A に分類した炭疽菌、ペスト菌、天然痘ウイルス、出血熱ウイルスや Category B に分類したコレラ菌、ブルセラ菌など約二十種類について同時検知が可能なマイクロアレイ法をベースとした機器システムを開発する。現場レベルで迅速・安全・高感度かつ簡便に生物剤の同定が可能なように、気密性に配慮した機器内で被疑サンプルからの核酸抽出・検出・解析の過程を全自動で行えるものとし、また、生物剤、感染症・病原微生物データベースを活用した情報検索および情報通信が可能なシステムも搭載し、最高レベルの機動性を備えた小型軽量のモバイル型生物剤自動検知システムを構築する。

<方法>

対象生物剤について遺伝子データベースに登録されている全株のゲノム塩基配列を検索し、各微生物種内で特異的に保存されている領域をターゲット候補として複数選定した。更に、これらのターゲット遺伝子領域を増幅するためのプライマーセットを複数準備し、実際に生物剤遺伝子を用いて反応の特異性、増幅効率を調べた。特に効率良く短時間に特異的増幅が認められたプライマーセットを最終候補として選定し、それらのターゲット領域の遺伝子配列情報をベースに DNA チップ検出用プローブ候補を設計した。複数のプローブ候補をのせた電流検出型 DNA チップと専用の検査装置（試作品）を用いて各プローブ候補の特性評価と絞込みを実施した。また、絞り込まれたプローブ候補を最終的に 1 枚の DNA チップ上にのせ、4 種類の生物剤を同時検出可能な DNA チップとして機能検証を行った。

<結果>

4 種類の生物剤に対して 25 種類のプライマーセットを準備して検討した結果、最終的に 1 生物剤当たり 3-4 組のプライマーセットを選定した。全てのプライマーセットは対象となる各生物剤遺伝子を 20-30 分で増幅することができた。増幅可能な生物剤遺伝子のコピー数の下限は 20-278 コピーであった。これらのプライマーセットの増幅領域に対し、113 種類のプローブ候補を設計し、特性の評価を行った。最終的には 14 種類のプローブを選択し、1 枚の電流検出型 DNA チップ上に搭載することが可能となった。また、遺伝子増幅産物を使って DNA チップの特性評価を行い、4 種類全ての生物剤について、特異的検出が可能であることを確認した。

また、国内の関連機関からのヒヤリング結果並びに海外で実用化されているバイオテロ対策装備などを参考に、3 研究グループ共同で生物剤検知用全自動検査システムの運用形態、操作環境などの検討を行い、本システムの仕様を明確にした。また、システム実現に必要とされる要素機能を洗い出し、機能検証のための設計・試作を開始した。

<全体研究計画に対する研究進捗状況>

当初の本年度研究計画では、5 種類の生物剤検出を目標に掲げていたが、生物剤に対応した研究環境の整備等に時間を要したことから、4 種類への対応に止まった。目標には届かなかったが、残る 1 種の生物剤については、既に増幅法の検証、プローブ設計および DNA チップの試作が完了しており、あとは検証を行うのみとなっている。また、次年度の目標として、新たに 10 種類の生物剤を対象として追加する計画であるが、既に 3 種類についてはプライマーセットの検証に入っているため、全体としては、ほぼ予定通り研究が進んでいる。

また、本年度は生物剤検知用全自動検査システムの仕様を明確にし、その実現に向けた要素機能の検討、およびシステムで用いる DNA チップカセットの設計・試作に着手できたことから、当初の目標を概ね達成できたものと考えられる。次年度は、更なる要素機能

の検証を進めるとともに、DNA チップカセットと装置を含めたプロトタイプ機の各要素ユニットの試作に取り組み、平成 19 年度末の完成を目指す。

3. 研究実施体制

「安田研究代表」グループ

- ① 研究分担グループ長：安田 二郎（科学警察研究所、室長）
- ② 研究項目：
 - 様々な形状の生物剤から効率よく核酸を抽出する方法の検討
 - 各種反応条件の検討
 - 生物剤特異結合プローブの探索
 - 生物剤を使ったシステムの検証

「牧野細菌感染」グループ

- ① 研究分担グループ長：牧野 壮一（帯広畜産大学、教授）
- ② 研究項目：
 - 危険細菌性感染症のプローブの作成
 - 各種反応条件の検討
 - 生物剤を使ったシステムの検証

「橋本デバイス開発」グループ

- ① 研究分担グループ長：橋本 幸二（東芝研究開発センター、グループ長）
- ② 研究項目：
 - 生物剤検知用 DNA チップの開発
 - モバイル型生物剤自動検知システムの開発

4. 主な研究成果の発表

（1）論文（原著論文）発表

- Urata, S., Noda, T., Kawaoka, Y., Yokosawa, H., and Yasuda, J.: Cellular factors required for Lassa virus budding. *Journal of Virology*, 80, 4191-4195, 2006.