サブテーマ名: 3 生理的病理的に重要な蛋白質の解析と創出

小テーマ名:3-1b 生体高分子相互作用解析のためのバイオセンサの開発(フェーズIのみ)

サブテーマリーダー:新潟大学、教授、橘 正芳

(○:小テーマ代表者)

研究従事者:埼玉大学、教授、〇坂井 貴文

(財) 埼玉県中小企業振興公社、雇用研究員、武居 修

(株) NTTアドバンステクノロジ、主幹担当部長、田部井久男、主査、飛田 達也

担当部長、澤田 雅弘、薮本 周邦

研究の概要、新規性及び目標

①研究の概要

本小テーマでは各種現場で求められている検出対象物質を策定し、SPRセンサを用いた標的物質の定量法を開発することを目標とする。検出対象物質として、高速分子進化プロジェクトにおいてリアルタイムモニタする必要がある分子や、現在医療分野で求められているウィルスに着目し、これらを迅速に検出することが可能なSPRセンサを開発する。同時に高速分子進化技術により生産されたタンパク質等を利用することで、新たな高感度センサの開発も検討する。

②研究の独自性・新規性

多様な現場での測定を念頭に置きハンディSPR測定装置の新たなアプリケーション開発を目指す。特に、臨床現場で求められている、疾病や感染症に対し、安価、簡便、迅速かつ正確な診断が可能な測定系の構築を重点目標とする。このような現場に即した小型のハンディSPRセンサは未だ開発されていない。また、多様な測定環境、サンプルに対応するための新規測定方法の確立を目指すとともに、高速分子進化技術を用いて生産された新規タンパク質等(新規抗体、新規アプタマー等)を利用した、新たなセンサアプリケーション開発も検討する。

③研究の目標(各フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に)

フェーズIにおいては、初めにタンパク質間相互作用解析機器に対する評価として、抗原抗体反応の高感度検出を試み、機器評価とその改善を行う。フェーズIに於けるタンパク等の検出感度は数百ng/ml程度を目標とする。同時にウィルスや特定マーカータンパク質の検出等による医療診断機器としての需要を調査し、標的物質の策定を行う。また、標的物質検出機器としての開発を行い現行の測定系との比較を行う。

研究の進め方及び進捗状況(目標と対比して)

フェーズI については、計画を推進し下記の成果を得た。、平成16年度成果として、300 ng/ml の抗ウィルス抗体濃度算出に成功するも、未だその応答が低く、更なる高感度化が必要と判断された。フェーズIIへの移行に伴い、埼玉バイオ全体構想の中での位置づけを見直し、サブテーマ 3-1-bは平成16年度までで推進を取りやめることとした。

進捗状況については平成16年度までの記述とする。

- ・ハンディSPR高感度化のために、測定ソフト、セル、基板、タンパク固定化方法の改善を行った。
- ・測定基板上に牛血清アルブミン(BSA)抗体を固定化し、数百ng/mlのBSA濃度測定に成功した。
- ・新しい医療診断機器として、眼科分野におけるウイルス測定機器とする需要を見出した。
- ・医療診断用ウイルス測定機器としての応用を目標とし、緩衝溶液中における検出に成功した。
- ・実用段階におけるサンプルに含まれる夾雑物質による非特異応答を考慮した、新規補正方法を考案した(特許出願済み)。

主な成果

表面プラズモン共鳴(SPR)センサは温度や試料中における夾雑物質など、測定環境の影響を受ける。それらの測定環境等がデータに及ぼす影響を補正する手法を考案し特許として出願した。

特許件数:1件 論文数:0件 口頭発表件数:0件

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

国内外において開発されているSPRセンサの多くは高価、大型のものであり、実験室においての使用を前提としている。また、一部海外で開発されている小型SPRセンサは取り扱いの難しさや、消耗品が高価であるという問題を有しており、医療診断機器として実用化段階にあるSPRセンサはほとんど開発されていない。よって、本テーマは高いオリジナリティーを有した研究である。

2 実用化に向けた波及効果

本テーマで開発中の医療診断用SPRセンサの開発により、これまでの呈色反応を目視で判断する微妙な診断(主観的診断)を強いることなく、数値化されたデータを用いた迅速、正確な診断(客観的診断)、リアルタイムモニタリング等が可能となり、医療分野に大きく貢献できるものと期待される。また、考案された新規測定値補正方法は他の測定にも応用できると考えられ、それを利用した測定装置の開発も期待される。さらに、高速分子進化技術により新しく生産されたアプタマー等を用いることで、種々の医療診断、環境測定、工業への適用等、各種分野に貢献できると考えられる。

残された課題と対応方針について

平成16年度(最終年度)までの進捗ではさらなる高感度化にむけて以下の課題が考えられた。 ①抗体を固定化する基板作製方法の確立、②小容量マイクロフローセルの開発、③血液や唾液などの様々な夾雑物質を含むサンプル測定のための非特異応答を排除した基板開発、④非特異応答を考慮した補正方法の開発が必要であり、これらを現場での実地計測を通して特性アプリケーションに向けた特化ソフトウェアの製作後、最終的な評価、検討を行う必要がある。

	JST負担分(千円)							地域負担分(千円)							
	Н	Н	Н	Н	Н	Н	小計	Н	Н	Н	Н	Н	Н	小計	合 計
	14	15	16	17	18	19	√1,旦1	14	15	16	17	18	19	\1,b	
人件費		4,843	6,419				11,262	486	7,735	5,835				14,056	25,318
設備費		945					945							0	945
その他研究費															
(消耗品費、	768	2,324	5,174				8,266	200	6,500	6,500				13,200	21,466
材料費等)															
旅費		64	52				116							0	116
その他		317	518				835	12,169	291	291				12,751	13,586
小 計	768	8,493	12,163	0	0	0	21,424	12,855	14,526	12,626	0	0	0	40,007	61,431

代表的な設備名と仕様 [既存(事業開始前)の設備含む]

JST負担による設備: Hanndy-SPR

地域負担による設備:

※複数の研究課題に共通した経費については按分する。