

普遍的結核診断法を樹立する研究—G P ロボットの開発と展開

西垣 功一 (理工学研究科・教授)

1 背景

人類を苛んでいる感染症に結核 (HIV に次ぐ死亡者数; 年間 200 万人) がある。世界保健機構 (WHO) が力を入れて取り組んでいるが、いまだに容易な早期発見法がなく、SSM (痰の顕微観察) が標準となっている。1つ1つの感染の現場でも使えるし、大規模な処理を必要とする保健センターにおいても共通して使えるような技術がこれまで存在しなかった。結核菌などの特定の微生物を同定・診断するには、夾雑する種々な生物・無生物から、対象とする生物 (ここでは最終的に結核菌を具体的ターゲットにしてプロジェクトを進めつつある) だけを特異的に認識する必要がある。対象は1つの種といえども絶えず突然変異に曝されてゲノムすら部分的に変容している。したがって、有効な診断法は、日々変容する表現型・遺伝子型をも同定・診断できるものである必要があり、特定の固定された対象だけに通用するものでは、普遍性がないのみならず、有効性に欠けると考えられる。換言すれば、そのためにはあらゆる生物を識別する技術が要請される。

“あらゆる生物”を同定分類する技術の必要性には、異なる2つのベクトルがある。1つ目は、全ての生物に共通して使えるデータベースを構築したいという要請であり、時間と空間を異にして存在する生物 (分散汎生物) 間の比較である。もう一つは、膨大な生物種から構成されている微生物集団 (マイクロバイーム) を解析したいという要請であり、同一時刻に同一空間を占める生物群 (集中汎生物) は、個々の生物を知るという以上に、微生物集団の構造と機能を知るために有効なアプローチである。この2つの異なる要請の両方に応える潜在能力をGP (ゲノムプロファイリング) 法は秘めており、とりわけ、後者の可能性を発展させることは、結核菌診断などの難題に取り組むことになる。

2 研究成果

今年度の研究開発として、器具・装置開発を行なう傍ら、重要な実用化・実践化 (方法や装置が開発されても使用する現場のニーズに応えたものでなければ意味がないし、本学では扱うことのできない微生物を扱うことができる研究機関との連携なしには一歩も先に進まない) を目指した活動を行った。

まず、中心課題であるGPロボットの開発については、多くの資金と専門的技術の提供が必要である。本テーマのGP法で目指している「迅速並列多段階処理能」を有する装置は、進化学 (膨大な数の分子を特定の機能で個別にスクリーニングする必要がある) の目指すところと多くの点で共通するものである。基本的には図1に示すような装置の開発を補足促進することを行った。従って、開発ロボットの試料吸引・吐出部分の検討に経費を充当し、サブマイクロリットルスケールの試料 (細胞や溶液) を扱う可能性が試された。これらの検討を踏まえながら、**新型マイクロアレイMMV** (1インチ角に1000穴が設けられており、各々が反応容器として働き、基本的にピペット操作なしにその穴で多段階の反応を実現するもの) の形状・材質・操作性を種々試した。これらの成果に基づいて、2009年度JST先端計測分析・機器開発事業に応募し、装置開発をさらに進めることにした (2009年度8月時点で採択通知)。

一方、医療分野での実用化・実践化のために、まずGP法の普及と利用者のネットワーク作りに力を入れる必要があった。そもそもGP法を普及させるための効果的手段は、その有効性を分かりやすく示すことである。このために、一見遠回りに見えるが、一般に興味と関心の高い昆虫の分類同定を対象にして、これまで取り組んできたやや表面的研究を一層掘り下げたものとした。すなわち、GP法で得られた分類

同定結果（既に表現型で得られている分類を基本的に支持）を、18SrDNA法でどれだけ追認できるかの実験を行った(主として、別の研究支援「埼玉大学地域イノベーション支援研究費」により)。この時点での研究結果として、少なくともGP法は18SrDNA法以上(もしくは相当)に古典的な分類との対応性が良いという結果を得た(2008年度形の科学会(京都)報告)。

3. 今後の展望

人類の大きな挑戦である“結核撲滅”に向けて、この研究の主題である「結核菌診断」がまずクリアすべき重要課題となっている。医学関係者だけでは困難な新しい方法論開発が求められる。極めて難しい診断を解決するのは、今や、微生物の有する豊富な情報源「ゲノム」をターゲットにするのが最上であろうことは、多くの研究者が想定するところである。ゲノムをターゲットとした方法論開発において、考慮すべき2点がある。1点は、病原菌は途上国から先進国まで世界中到るところに潜伏しているという事実であり、もう1点は、感染の疑いのある人がいてもその感染を実証するのが容易ではないということである。従って、今後、広く感染を確認するシステムの開発と、検出困難な対象から確実かつ迅速に菌の存在を知る技術の開発が必要である。共に、大きなテーマであるが、ここでわれわれが開発を進めているGPロボットが完成すれば痰などに存在する極微量の微生物細胞を新型マイクロアレイMMVを応用したシステムで検出することが可能になるはずで、大きな進歩となる。従って、当面、GPロボット本体の開発を進めるとともに、並列性の高い μ TGGE(温度勾配ゲル電気泳動法)を開発していくことが重要と認識している。さらに、国内外の広範なGP応用研究は、予め実効性を確かめることができない対象(病原菌)の模擬的実証実験として重要であると考えられる。同時に、国際的な協力関係ネットワークが欠かせないと考えられる。

従って、真に有効な技術とするために機器開発の初期の段階から利用する側のニーズを取り込んだものとしていく必要性を認識して活動したい。

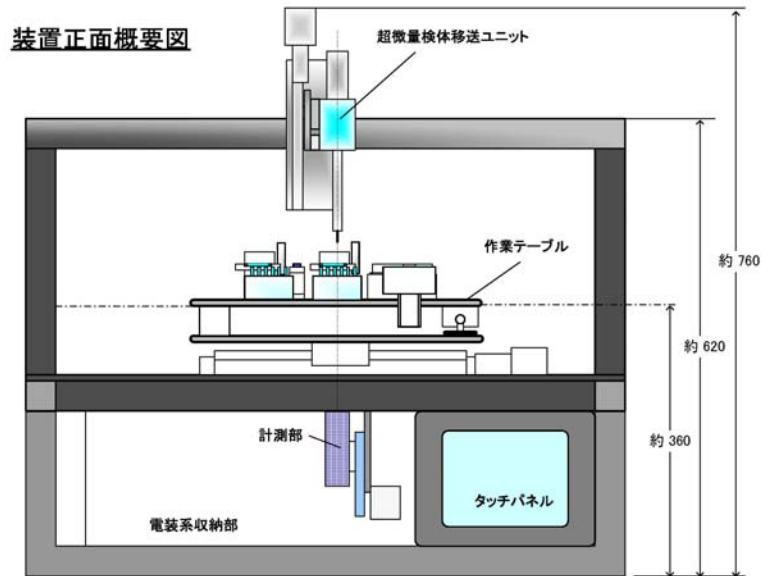


図1. GPの自動化に必要な微量試料(サブマイクロリットル)移送を実現するロボット部分。

中央の作業テーブルに2つのマイクロアレイMMV(multi-micro-vessels)が並べられており、その上部に移送ユニットが位置している。XYZ方向において数10マイクロメートルの位置精度が要求されるし、数100ナノリットルを吸引・吐出するメカニズムが要請される。今回、図の機構を組み上げ、動作可能とした。精度や速度を上げるための検討を行っている。(作成:共同研究ライフテック社)