

日本医療研究開発機構 官民による若手研究者発掘支援事業
事後評価報告書



I 基本情報

補助事業課題名: (日本語) 1 分子定量法に基づいたデジタルリキッドバイオプシー装置の開発
(プログラム名) (英語) Development of “digital liquid-biopsy system” based on the single molecule quantification method

実施期間: 令和 4 年 6 月 1 日 ~ 令和 6 年 3 月 31 日(予定)

補助事業担当者 氏名: (日本語) 渡邊 力也
(英語) Rikiya Watanabe

補助事業担当者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員
(英語) Chief Scientist, CPR, RIKEN

II 補助事業の概要

1、研究開発の背景

リキッドバイオプシーは、低侵襲性と繰り返し計測可能性などの利点により、従来の生検や画像診断に代わる次世代の疾患診断法として期待が集まっている。現在、各種モダリティに基づく診断技術の開発が盛んにおこなわれているが、主として、液性検体中に存在する多様な生体分子を一緒くたに解析する手法が用いられるため、構成分子の情報が量・質ともに平均化されてしまう。そのため、既存のリキッドバイオプシーでは、疾患に起因する各種生体分子のわずかな量・質の変化を識別・検出することは難しく、医療現場において発展・深化する上で大きな障害となってきた。この背景をうけ、研究代表者は、種々の生体分子を1分子単位で識別して、それらの量や質(機能)を定量できる「1分子定量法」の開発を継続的に行ってきた。代表的なものとして、「核酸 (Commun. Biol. 2021)」、「酵素 (Sci. Adv. 2020, Nat. Commun. 2015, 2014b, Nat. Chem. Biol. 2012, 2010)」、「膜タンパク質 (PNAS 2018a, b, Nat. Commun. 2014a, 2013)」などを標的とした独自技術を開発しており、これらは感度・精度・効率ともに世界を先導していることから、申請者は、世界最高峰の1分子定量法のポートフォリオを有しているといえる。そこで、本研究では、上述の世界最高峰の先端技術ポートフォリオを深化させ、液性検体中に存在する生体分子を1分子単位でデジタル識別して、迅速かつ高精度に解析できる「デジタルリキッドバイオプシー装置」を世界に先駆けて実現する(図1)。更に、理工医に跨る異分野連携を推進することで、迅速感染症診断等の昨今の医療ニーズに即した、汎用的な装置へと昇華させるとともに、1分子レベルの量と質の解析に基づいた新規疾患診断法の社会実装を目指した。

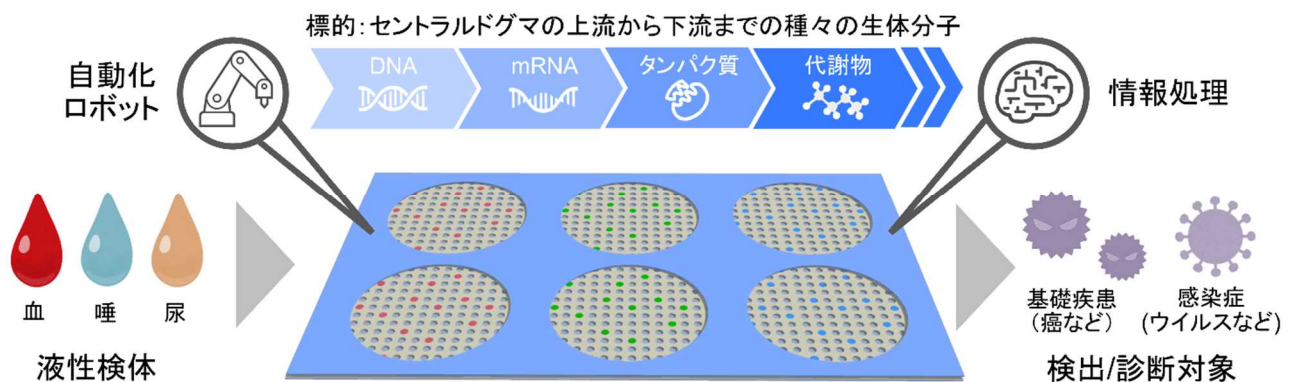


図1 本研究のコンセプト

生体分子を1分子単位で識別して迅速診断へとつなげるデジタルリキッドバイオプシー装置の実現

2、研究開発の成果

本研究の中核は、研究代表者の先端技術ポートフォリオを深化させることによる「次世代のデジタルリキッドバイオプシー装置」の開発である。当該装置は、原理的には、感染症から基礎疾患に至るまで幅広い医療ニーズに適応可能であるが、本研究では喫緊の社会問題であるウイルス感染症に焦点を絞り、臨床現場のニーズに基づいた研究開発を行った。

研究項目 ウイルス感染症を標的とした多角的1分子定量法の開発

臨床現場をヒアリングすると、複数種類のウイルスの同時検出のニーズは極めて高い。そこで、本研究では、SATORI法を発展させるべく、複数種類のウイルス遺伝子を多角的かつ迅速に検出できる非増幅遺伝子検出技術の開発を試みた。具体的には、呼吸器感染ウイルスに焦点を絞り、CRISPR-Casの識別能を左右するガイドRNAの配列について、SARS-CoV-2だけではなく、インフルエンザA/B(FluA/B)に最適化したものを設計・スクリーニングした。現在までのところ、SARS-CoV-2、FluA、FluBの検出限界値(LoD)はPCR法とほぼ同等まで達してい

る。加えて、微小試験管のアレイを4つ実装した新規マイクロチップを開発することで、同時に最大4種類のウイルス遺伝子を検出できるようになり、当初の数値目標を全て達成した(図2)。

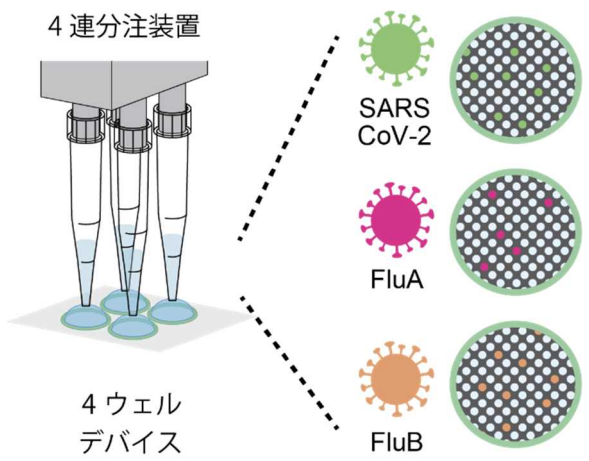


図2 SATORI法の多項目化

研究項目 臨床現場への実装を指向した小型装置の開発

新型コロナウイルス感染症を経験し、感染症対策においては、臨床現場即時検査による早期診断と感染者の迅速な隔離が有効であることが改めて示されている。本研究では、光学系/検出系等を再設計することで、顕微鏡を必要としないデスクトップ型の小型自動装置 (50 cm x 50 cm 程度)の開発を試みた。具体的には、市販品であるテレセントリックレンズとCMOSセンサーを組み合わせることで、SATORI法のための安価かつ小型な蛍光イメージング装置(COWFISH)を開発した(図3)。また、臨床検体を用いた実証実験により、COWFISHにより90%以上の感度・特異度をもって、COVID-19の遺伝子検査を実施することができることが分かった。

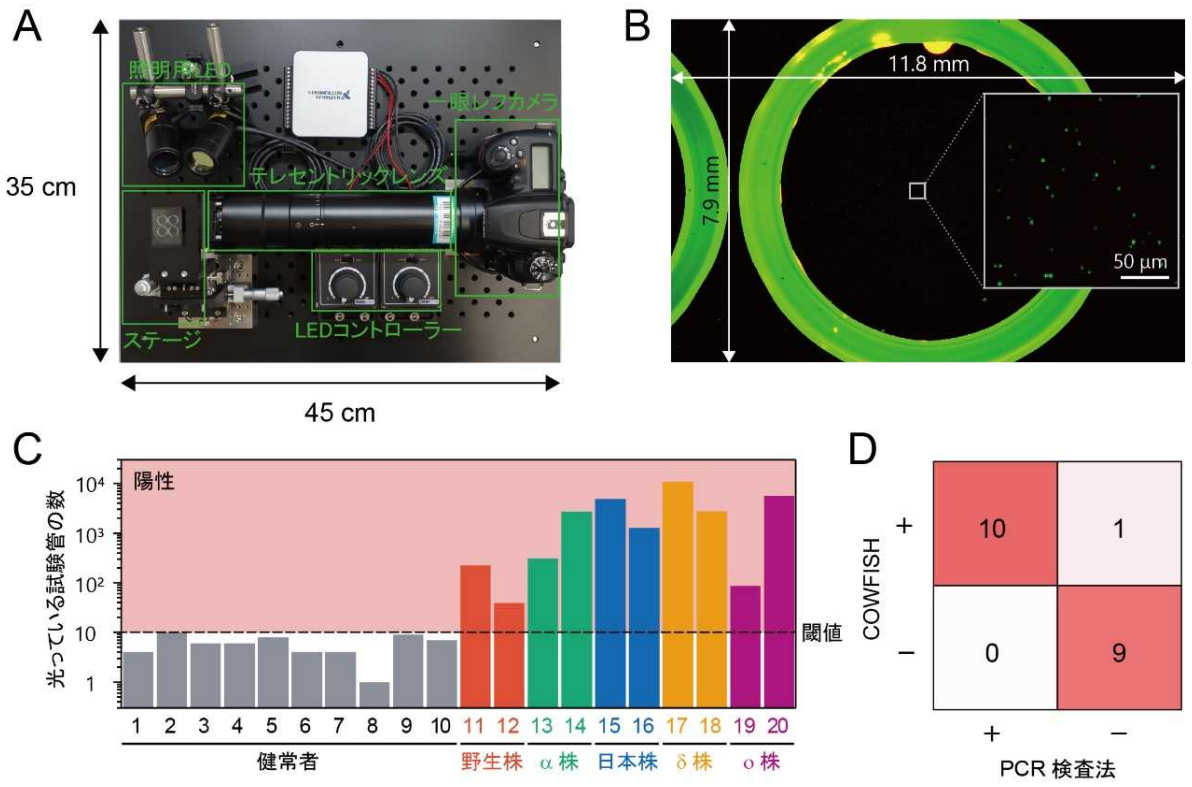


図3 COWFISHによるCOVID-19感染診断

(A) COWFISHの写真、(B)1回撮像される蛍光画像、(C, D)臨床検体を用いた実証実験結果

3、今後の展開

本研究によりデジタルリキッドバイオプシーのための小型装置の開発に成功した。また、ウイルス感染症を例として、多元的感染症検査法の確立にも成功しており、今後は感染症だけでなく、基礎疾患などの広範囲のリキッドバイオプシーへの応用展開が強く期待される。

(英文)

Liquid biopsy is expected to replace conventional biopsy and imaging methods as the next-generation diagnostics due to its advantages of minimally invasive and repeatable measurement. Currently, diagnostic techniques based on various modalities are being actively developed, but they mainly use a method to analyze various biomolecules present in liquid specimens together, which results in averaging the information of the constituent molecules in terms of both quantity and quality. Therefore, it is difficult for conventional liquid biopsy to identify and detect small changes in the quantity and quality of various biomolecules caused by diseases, which has been a major obstacle to the advancement in the medical field. In this study, we upgraded the applicant's world-leading technology portfolio to realize the "digital liquid biopsy system" that can identify biomolecules in liquid specimens at a single-molecule level and analyze them rapidly and precisely. Furthermore, by promoting interdisciplinary collaboration among science, engineering, and medicine, we implemented the "digital liquid biopsy system" as a versatile diagnosis platform, i.e., COWFISH, that can meet recent medical needs, such as diagnosis of viral infections. The "digital liquid biopsy system" developed in this study will open up a new paradigm of disease diagnosis based on single molecule analysis of biomolecules.