

報道機関・行政機関広報担当 各位

NEWS RELEASE

2020年3月13日配信【No.12】 <<配信枚数 3枚>>

いのちのそばに。ひととともに。 常翔学園

HiU 広島国際大学



岐阜医療科学大学
GIFU UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCE



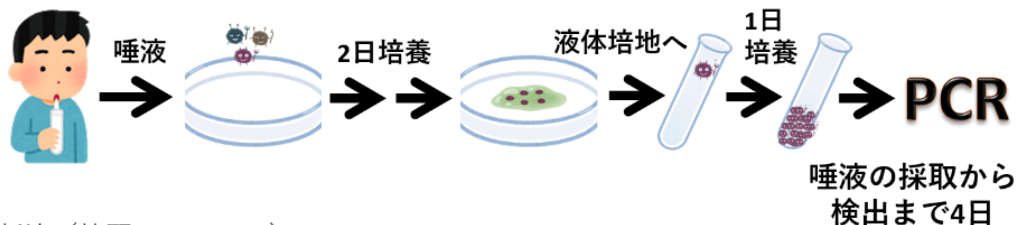
奈良県立医科大学
Nara Medical University

病原菌の遺伝子検査時間を劇的に短縮 新たな核酸分離法と遺伝子増幅法を組み合わせる技術を開発

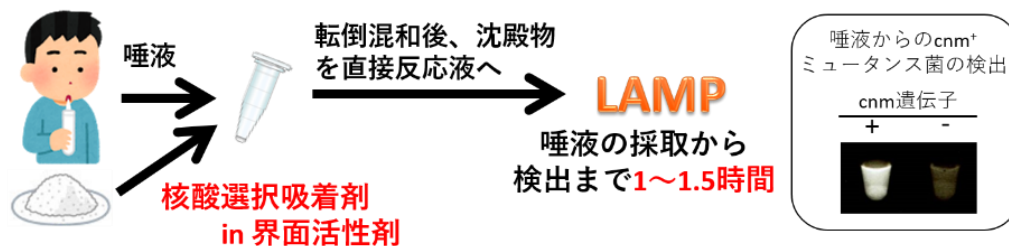
広島国際大学（学長：焼廣益秀）医療栄養学部の長嶺憲太郎教授、岐阜医療科学大学（学長：山岡一清）保健医療学研究科の中山章文教授、奈良県立医科大学（学長：細井裕司）整形外科の古川彰博士研究員の共同研究チームは、細胞の遺伝情報を担う核酸の分離・増幅を短時間に行える技術を開発しました。本技術は病院での検査や食品検査、環境水検査などに有効です。

本技術の一例として、虫歯の原因菌・ミュータンス菌の検出を挙げています（詳しくは下図および添付資料参照）。従来、病原菌を検出するためには、唾液から採取した細胞を数日間掛けて培養する方法を取ってきました。今回の方法ではまず、唾液に界面活性剤入りの核酸選択吸着剤を混ぜることで、細胞の細胞膜を破壊して核酸を分離させ、核酸と核酸選択吸着剤の複合体を形成します。その沈殿物を※LAMP 反応液（核酸増幅反応液）に加えることで、核酸の解離と増幅反応を同時に行うことができ、従来4日ほど掛かっていた検出を1時間～1時間半程度に短縮することができます。

従来法



新法（特願2020-33984）



この技術は、病原性ウイルスの簡易検出に利用できる可能性もあります。なお、新型コロナウイルスについては、未着手です。

※LAMP 反応液（核酸増幅反応液）

一定の温度（65℃付近）で核酸を増幅させるために、標的の遺伝子に特異的に結合するプライマー（核酸の断片）やDNA合成酵素などを溶け込ませた反応液のこと。

■取材の申し込みおよび内容に関するお問い合わせ先

学校法人常翔学園（広島国際大学） 広報室（坂井） TEL：0823-27-3102 携帯：090-3038-9927

岐阜医療科学大学 庶務課（丸山） TEL：0575-22-9401

奈良県立医科大学 研究推進課（岡本） TEL：0744-22-3051（内線 2552）

核酸の分離方法及び増幅方法の開発

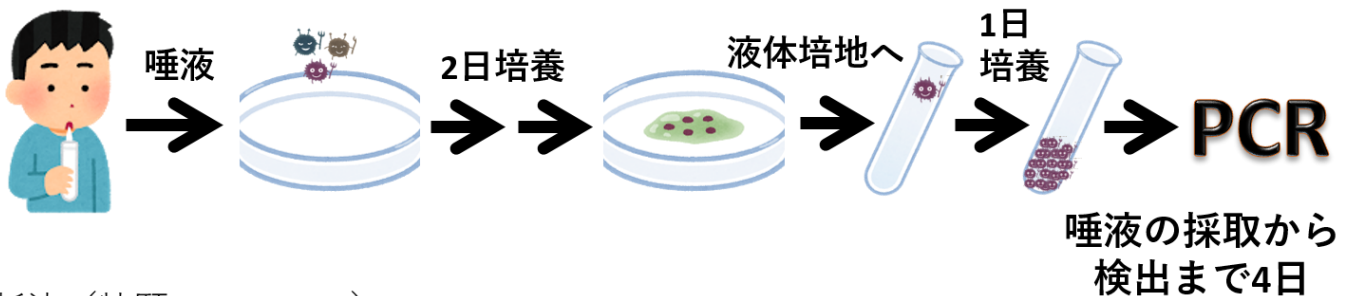
細胞から核酸を分離する方法として古くから、細胞を溶解した後、フェノール・クロロホルム処理によりタンパク質を除去し、エタノール添加により核酸を沈殿させる方法が広く用いられています。また、カオトロピック塩存在下でシリカ担体に核酸を吸着させ、次いで適当な溶離液を用いて核酸を溶出する方法（Boom 法）、磁性ビーズに吸着した核酸を溶出させる方法（SPRI 法）、電荷相互作用を利用した核酸成分の単離方法（Charge-Switch technology 法）が用いられており、これらの方法を利用した核酸分離法は製品化（キット化）されています。しかしながら、これらのキットを利用しても、核酸を分離するまでに多くの工程が必要となります。

今回、試料¹⁾から簡便に核酸を分離することができる方法、及び試料中の核酸を簡便に増幅することができる方法に関して、新たな知見を得ました。

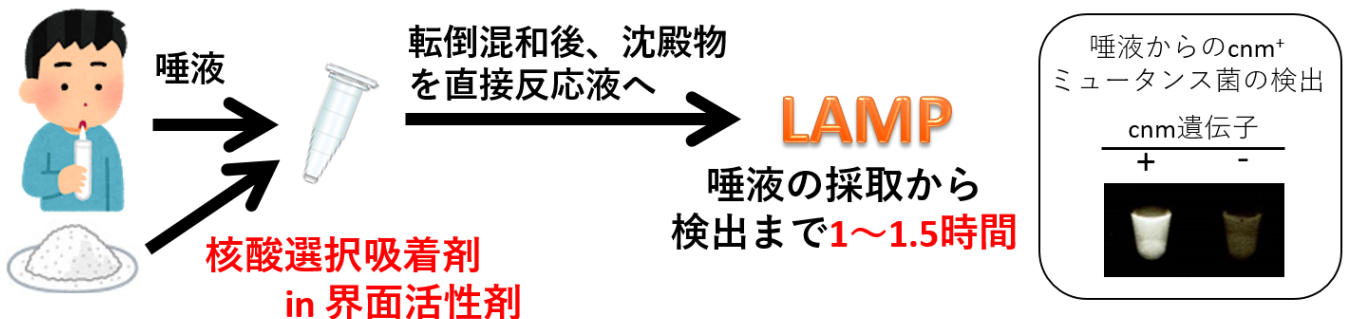
すなわち、唾液や喀痰などの生体試料を界面活性剤入りの核酸選択吸着剤²⁾と混ぜることで、細胞膜の破壊と核酸と核酸選択吸着剤の複合体形成を同時に行います。遠心分離等により沈殿物（核酸と核酸選択吸着剤の複合体）を回収し、直接 LAMP³⁾ 反応液に加えます。この核酸選択吸着剤は、室温では試料中の核酸と結合するけれども、LAMP 反応温度では核酸を解離する性質があります（図）。

本発明は、加熱することで核酸が核酸選択吸着剤から解離する新たな知見を活かし、核酸と核酸選択吸着剤の複合体を、そのまま核酸増幅反応液に添加して核酸増幅反応を開始すれば、核酸の解離と核酸増幅反応を同時に行えることを特徴としています。

従来法



新法（特願2020-33984）



（図） う蝕の原因菌であるミュータンス菌の検出（本発明の一例）

口腔内に存在するミュータンス菌の検出は、従来では4~5日掛かっていました。今回、核酸選択吸着剤を用いる核酸分離法と LAMP 法を組み合わせることによって、唾液の採取からミュータンス菌を検出するまでに要する時間が1時間~1時間半まで短縮できました（特願 2020-33984）。

本発明の核酸分離方法及び増幅方法は、極めて簡便で安価に行える、非常に有用な方法です。そのため、研究室で利用できる他、病院での検査、食品検査、環境水検査にも好適に使用することができ、需要は極めて大きくなることが考えられます。今後は、病原性ウィルスの簡易検査方法などへの展開を検討する予定です。

本発明は、広島国際大学 長嶺 憲太郎 教授、岐阜医療科学大学 中山 章文 教授、奈良県立医科大学 古川 彰 博士研究員との共同で開発されたものです。

¹⁾試料としては、細菌などの病原性微生物やウィルスなどが含まれる唾液、歯垢、口腔内粘膜、喀痰などが挙げられます。

²⁾本発明の「核酸選択吸着剤」は、中山章文教授と古川彰博士研究員らによる共同研究で見いだされた（特開 2017-35651 号）ストロンチウムアパタイト（SrHAP と略称）を意味します。タンパク質やその他様々な有機・無機化合物を含む生体試料から、核酸を選択的に吸着することが特徴です。この SrHAP を利用した核酸増幅方法（PCR 法）は“SrHAP-PCR 法”として喀痰中から結核菌 DNA を検出する目的で岐阜医療科学大学を中心に検討中です。

³⁾LAMP 法は、一定の温度（65℃付近）で核酸を増幅する方法です。増幅産物が多量にできるメリットを生かし、目視での検出も可能となることが特徴です。装置が簡単で、安価で素早く検査ができる特徴を生かし空港や港湾施設での入国管理などにも生かせることを期待しています。