

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和2年6月24日現在

機関番号：  
研究種目：奨励研究  
研究期間：2019  
課題番号：19H00343  
研究課題名：RNAを指標とする生物毒リシン検出法の開発

研究代表者  
居郷 哲央 (IGOH, Akihisa)  
岡山県警察科学捜査研究所・研究員

交付決定額（研究期間全体）（直接経費）：540,000円

## 研究成果の概要：

リシンはトウゴマの種子から容易に精製可能なタンパク質性の毒素であり、バイオテロに用いられる可能性が最も高い毒素と言われている。リシンを合成するメッセンジャーRNA (mRNA) を指標とする逆転写リアルタイムPCR法によりリシンを識別する方法を開発するために、1)PCRプライマーの設計、2)RNA抽出・精製法の検討、3)増幅産物及び反応特異性の確認を行った。その結果、リシンRNAを識別するために適したRNA抽出・精製法を明らかにすることができ、設計したプライマーを用いることで、リシンmRNAを識別することが可能と考えられた。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義：

バイオテロ等のリシンが関係している事件・事故が発生した場合、捜査機関や医療機関では迅速な組織的対応・治療方針の決定が求められることから、早期に物質を同定する必要がある。

主なリシン検出法としては、抗体キットや毒素検出チップを用いる方法等が報告されているが、抗体キットは有効保証期限が短いことから多くの検査機関は常備しておらず、毒素検出チップやその検出器も保有していない。今回検討を行った逆転写リアルタイムPCR法によるリシンmRNA検出法は、設計したプライマーを合成すれば、その他の試薬や装置は多くの検査機関が通常の業務で使用しているものを利用可能であることから、持続的に運用可能な検査法と考えられる。

研究分野：法生物学

キーワード：リシン、トウゴマ、メッセンジャーRNA、逆転写リアルタイムPCR

## 1. 研究の目的

リシンはトウゴマの種子から容易に精製可能なタンパク質性毒素であり、最も毒性の高い生物毒の一つである。日本国内においても容易に種子を入手することができ、生物化学兵器やバイオテロに使用される可能性が最も高い毒素と言われている。

現在までに報告されている代表的なリシン検出法として、抗原抗体法を利用する検査キットや毒素検出チップなどが報告されているが、有効保証期限が短いことからほとんどの検査機関は検査キットを常備しておらず、毒素検出チップやその検出器も保有していない。その為、各検査機関で持続的に検査可能な手法を開発する必要があり、テロ事件への迅速な組織的対処や被害者の治療方針を決定する上で、早期に物質を同定することが極めて重要である。

リシンは、DNAの遺伝情報が転写された mRNA が翻訳されることで、種子内に合成される。その為、リシン mRNA を検出することができれば、間接的にリシンを識別することが可能であり、多くの検査機関においても持続的に識別が可能になると考えられる。

## 2. 研究成果

まず、リシン mRNA を検出するためのプライマーペア候補を設計した。トウゴマからリシン RNA を抽出する最適な方法を明らかとするために、複数の RNA 抽出キットや精製試薬について検討した。その結果、Agilent Plant RNA Isolation kit と High Salt Solution for Precipitation による多糖類除去を組み合わせることにより、RNA 溶液に残存する DNA を少なくすることができ、また DNase による残存 DNA の消化を促進できることがわかった。アガロースゲル電気泳動及びシーケンス解析により、逆転写リアルタイム PCR による増幅産物のサイズ及び塩基配列の一部を確認することができた。

また、リシン mRNA と配列相同性が高い Agglutinin mRNA がトウゴマ種子内には存在しているが、設計したプライマーは、それらに由来する非特異的な増幅は生じないことを確認できた。

トウアズキ、トリカブト、キダチチョウセンアサガオ、イヌサフラン及びギョウジャニンニクといった他の植物の種子、並びにトウゴマと同じトウダイグサ科であるアカメガシワの種子から RNA を抽出し、逆転写リアルタイム PCR を行ったところ、目的とする増幅は確認されなかった。一方では、レッドキャスターピーンやホワイトキャスターピーンといった品種が異なるトウゴマの種子からは、いずれもリシン mRNA を増幅可能であった。

このように逆転写リアルタイム PCR 法により、リシン mRNA を識別できる可能性が示唆されたが、法科学的な応用を想定し、陳旧サンプルや模擬ケースワークサンプルを用いた検証を検討中である。

## 3. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1 件)

居郷哲央、逆転写リアルタイム PCR によるリシン mRNA の検出、第 104 次日本法医学会学術全国集会、京都

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。