

令和 6 年 4 月 22 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H04645

研究課題名（和文）デジタル検出技術を基盤としたウイルスの新規感染診断法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel diagnostic method for viral infections based on digital bioanalysis

研究代表者

渡邊 力也（Watanabe, Rikiya）

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員

研究者番号：30540108

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 32,500,000円

研究成果の概要（和文）：昨今、新型コロナウイルスの世界的な流行を経験し、汎用的な感染症検査法の確立が急務とされている。本課題では、病原体由来の遺伝子を1分子単位で識別して、世界最速で検出できる非増幅遺伝子検査法「SATORI法」を開発した。また、検体から病原体の遺伝子を直接検出できる「Direct-SATORI法」や小型検査装置の開発にも成功しており、臨床現場即時検査に対応した技術基盤が確立しつつあると言える。これらの成果は、基礎研究としての先進性・革新性だけでなく、非増幅遺伝子検査法の実用化への足掛かりになるものであり、学術的・社会的な意義は極めて高いと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題が注目する感染症遺伝子検査であるが、現在の主流である遺伝子増幅検査は、SARS-CoV-2などの感染症の確定診断に資する一方、検査結果が患者に届くまでに数時間から数日を要することで、感染拡大や経済活動の制約などの問題を内包している。本課題で開発されたSATORI法は世界最速の遺伝子検査法であり、超高感度・多項目・迅速診断に基づいた感染予防・経済活動の円滑化への貢献とともに、次世代の感染症診断に資する遺伝子検査法となることが強く期待され、その学術的・社会的な意義は極めて高いと言える。

研究成果の概要（英文）：With the recent experience of the COVID-19 pandemic, there is an urgent need to establish a versatile testing platform for infectious diseases. In this study, we developed an amplification-free genetic test called 'SATORI' that can identify and detect pathogen-derived genes at the single-molecule level with unprecedented speed. Furthermore, we have expanded the capabilities of SATORI with innovations such as Direct-SATORI, which enables the direct detection of pathogen genes from samples. We also developed a compact testing device for SATORI, facilitating point-of-care testing in clinical settings. These achievements not only advance basic research, but also lay the groundwork for the practical application of SATORI, representing significant scientific and societal progress.

研究分野：バイオナノサイエンス

キーワード：CRISPR-Cas bioMEMS デジタルリキッドバイオプシー 非増幅遺伝子検査

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

COVID-19の世界的な流行が発生し、汎用的な感染症検査法の確立が急務とされていた。当時の感染診断では、病原体由来の遺伝子をPCRなどで増幅し検出する方法と併せて、タンパク質抗原を抗体反応により検出する方法が主流であったが、それらは一般的に、感度・精度・計測時間の何れかにおいて技術的な欠点を内在しており、大量の検体を高効率・高感度・高精度に解析し、感染診断につなげることが極めて困難な状況にあった。この現状を打破すべく、ウイルス検出のための種々の分析技術が世界中で開発・報告されてきたが、その大半が既存技術の改良・改善に留まっており、新しい検出原理に基づいた革新的な分析技術の開発が強く期待されていた。

2. 研究の目的

本課題では、増幅や精製過程などの煩雑な前処理工程を省略しつつも、病原体由来の遺伝子を1分子単位で高感度・高精度・短時間に解析できる革新的な遺伝子検査法の開発を目的とした。また、新規検査法を実装した検査装置を開発し、様々な病原体の遺伝子を並列して検出できる技術基盤の構築を目指した。

3. 研究の方法

本課題では、理工医の異分野融合連携により、非増幅遺伝子検査法の開発から自動/小型検査装置の開発、臨床検体を用いた性能評価に至るまで一気通貫で研究活動を実施した。

4. 研究成果

・ 非増幅遺伝子検査法(SATORI法)の開発

本課題では、ウイルス由来のRNA遺伝子(ウイルスRNA)を1分子レベルで識別して9分以内に検出する新技術を開発し、その手法を「SATORI法」と名付けた。SATORI法は、マイクロチップを利用した酵素反応の1分子定量法とRNA誘導型核酸切断酵素(CRISPR-Cas13a)による核酸検出法を融合させた新しい遺伝子検査法である。検出原理は、i) 特定のRNA配列を認識するCas13aと蛍光レポーターの混合液をセンサーとして利用し、ウイルスRNAとともにマイクロチップ上の微小試験管へ封入する。ii) 1分子でもウイルスRNAが存在する場合、活性化したCas13aにより蛍光レポーターは切断され、微小試験管は数十秒以内に蛍光シグナルを発する。iii) 蛍光シグナルを発する試験管の個数を数えることで、標的ウイルスRNAのコピー数を迅速かつ高感度に定量することが可能となった(図1)。

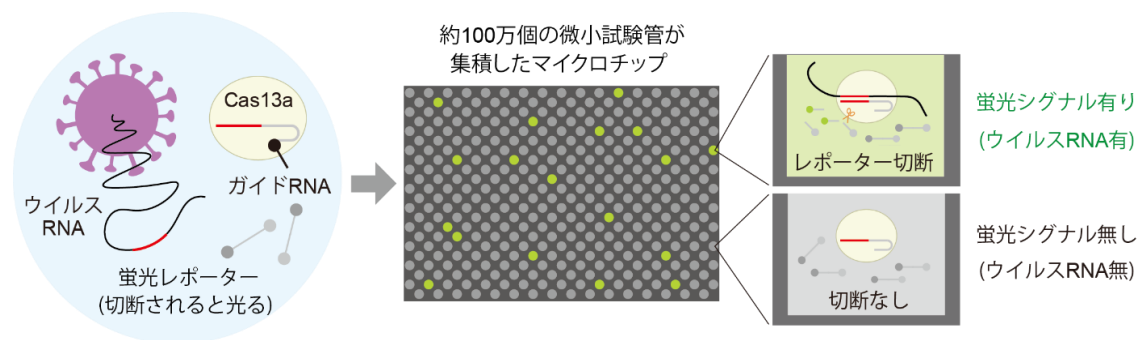


図1 SATORI法によるウイルスRNAの非増幅・1分子検出原理

・ SATORI法による感染症の全自動遺伝子検査装置 / ポータブル装置の開発

本課題では、大病院や検査センター等での使用を想定し、SATORI法による全自動遺伝子検査装置(opn-SATORI)を開発した。当該装置は、溶液を操作するための自動分注ロボット、蛍光観察のための顕微鏡、および、CD型マイクロチップの3つから構成される(図2)。個々の構成要素の連携は、自動化プログラムにより最適化されており、検査の全ての工程(サンプルの調製、蛍光顕微鏡測定、ウイルスの個数定量、および、陽性判定)を一貫して自動処理することが可能である。また、Direct-SATORI法と組み合わせることで、検体からの直接的な遺伝子検出が可能となり、最大8種類の病原体遺伝子を同時検出することが可能となった。一方、市中のクリニック等での臨床現場即時検査(POCT)に対応すべく、SATORI法のポータブル検査装置(COWFISH)を開発した(図2)。COWFISHは民生品の組み合わせと電子制御基板の自主開発により、最新版(COWFISH2)では、重量は4kg程度と軽量、かつ、コストは約80万円程度と安価な構成となった。そのため、国内外の医療機関への装置の導入を容易にし、急性呼吸器感染症について臨床現場即時検査の実証実験に成功した。



図2 SATORI法を実装した検査装置

• 臨床検体を用いた SATORI 法の性能評価

opn-SATORI は、ウイルスの遺伝子を 1 分子単位で識別して世界最速検出できる全自動遺伝子検査装置である。臨床検体を用いた実証実験の結果、従来の遺伝子増幅検査法や抗原検査法を凌駕する超高感度・世界最速検出に基づいた高精度な陽性判定と変異株判定（正解率 98%以上）を実現していることが判明した（図 3）。加えて、ポータブル検査装置である COWFISH2 を開発し、国内外の医療機関への搬送・導入、および、臨床現場即時検査を実施することが可能となった。実証実験として、COVID-19 の遺伝子検査を実施したところ、陽性判定について opn-SATORI と同等の性能を実現したことから、COWFISH2 による臨床現場即時検査への道筋が拓かれたものと考えている。

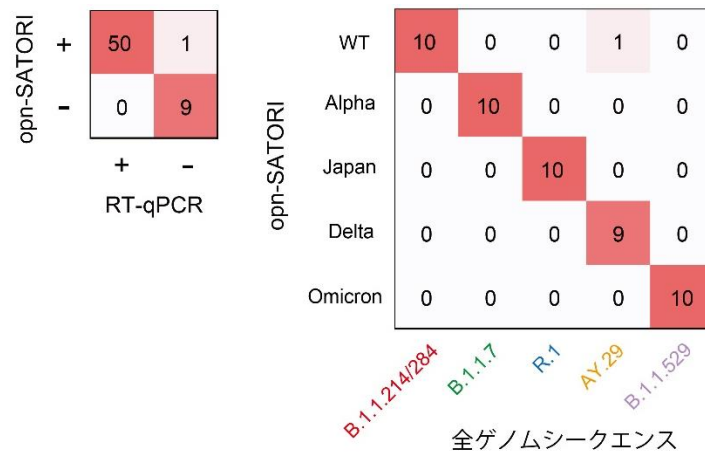


図3 opn-SATORIによる急性呼吸器感染症の迅速遺伝子検査
 (左) COVID-19の陽性判定結果、(右) 変異株判定結果（正解率ともに98%以上）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Iida, T., Ando, J., Shinoda, H., Makino, A., Yoshimura, M., Murai, K., Mori, M., Takaeuchi, H., Noda, T., Nishimasu, H., & *Watanabe, R.	4. 巻 23
2. 論文標題 Compact wide-field femtoliter-chamber imaging system for high-speed and accurate digital bioanalysis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 684-691
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D2LC00741J	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shinoda, H., Iida, T., Makino, A., Yoshimura, M., Ishikawa, J., Ando, J., Murai, K., Sugiyama, K., Muramoto, Y., Nakano, M., Kiga, K., Cui, L., Nureki, O., Takaeuchi, H., Noda, T., *Nishimasu, H., & *Watanabe, R.,	4. 巻 5
2. 論文標題 Automated amplification-free digital RNA detection platform for rapid and sensitive SARS-CoV-2 diagnosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 473
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-022-03433-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Shinoda, H., Taguchi, Y., Nakagawa, R., Makino, A., Okazaki, S., Nakano, M., Muramoto, Y., Takahashi, C., Takahashi, I., Ando, J., Noda, T., Nureki, O., Nishimasu, H., & Watanabe, R.	4. 巻 N/D
2. 論文標題 Amplification-free RNA detection with CRISPR-Cas13	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 N/D
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-02001-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件（うち招待講演 24件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 1分子定量法に基づいたウイルス遺伝子の全自動迅速検出装置の開発
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会 CIPセッション「感染症を診断・予防するヘルスケアテクノロジー」（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 1分子定量法に基づいたウイルス遺伝子の全自動迅速検出装置の開発
3. 学会等名 理研シンポジウム 第10回「光量子工学研究」(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 1分子定量法に基づいた新型コロナウイルス感染症の全自動迅速診断装置の開発
3. 学会等名 AMED タンパク質研究シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 工学技術を用いた1分子生物物理学研究とその応用
3. 学会等名 大阪大学蛋白質研究所フロンティアセミナー(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 1分子定量法に基づいたウイルス遺伝子の全自動迅速検出装置の開発
3. 学会等名 日本細胞外小胞学会第9回学術集会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rikiya Watanabe
2. 発表標題 Automated amplification-free digital RNA detection platform for SARS-CoV-2 diagnosis
3. 学会等名 The 8th RIKEN-KI-SciLifeLab Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 1分子定量法に基づいたウイルス遺伝子の全自動迅速検出装置の開発
3. 学会等名 細胞を創る研究会15.0 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 新型コロナウイルスの全自動迅速検出装置の開発
3. 学会等名 JST CREST/さきがけ横断シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rikiya Watanabe
2. 発表標題 Single-molecule analysis of bio-molecules and its applications
3. 学会等名 日本生物物理学会第58回年会 シンポジウム「マルチファセット・プロテインズへの生物物理アプローチ」(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 1分子定量法に基づいたウイルス感染症の全自動迅速診断装置の開発
3. 学会等名 4大学ナノ・マイクロファブリケーションコンソーシアム・シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 1分子定量法に基づいたウイルス感染症の全自動迅速診断装置の開発
3. 学会等名 量子イメージング研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 新型コロナウイルスの新規デジタル検出法
3. 学会等名 第15回スフィンゴセラピ研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 マイクロチップを利用したデジタルバイオ分析技術
3. 学会等名 第12回スクリーニング研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 マイクロチップを利用した新型コロナウイルスの非増幅迅速検出技術
3. 学会等名 学振R031委員会 第3回研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rikiya Watanabe
2. 発表標題 Single-molecule analysis of bio-molecules and its application
3. 学会等名 3rd KFU-RIKEN Symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 新型コロナウイルスの超高感度・世界最速検出技術とリキッドバイオプシーへの展開
3. 学会等名 バイオインダストリー協会"未来へのバイオ技術"勉強会「リキッドバイオプシーの展望」（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 新型コロナウイルスの世界最速デジタル検出技術の開発
3. 学会等名 学振R165委員会 第103回研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 バイオDXを指向したデジタルバイオ分析と疾患診断への展開
3. 学会等名 BioJapan (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 新型コロナウイルスの新規デジタル検出法
3. 学会等名 環境バイオテクノロジー学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 新型コロナウイルスの新規デジタル検出法
3. 学会等名 電気学会E部門総合研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rikiya Watanabe
2. 発表標題 Single-molecule analysis of bio-molecules and its application
3. 学会等名 東京大学先端科学技術研究センター LSBM Monday Seminar Series (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 酵素反応を指標としたウイルスのデジタル検出技術の開発
3. 学会等名 第21回蛋白質科学会年会シンポジウム「蛋白質科学が社会へ与えるインパクト」(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊力也
2. 発表標題 新型コロナウイルスの新規デジタル検出法
3. 学会等名 第47回生体分子科学討論会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rikiya Watanabe
2. 発表標題 Single-molecule analysis of bio-molecules and its application
3. 学会等名 IEEE NEMS, (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野田 岳志 (Noda Takeshi) (00422410)	京都大学・医生物学研究所・教授 (14301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	西増 弘志 (Nishimasu Hiroshi) (00467044)	東京大学・先端科学技術研究センター・教授 (12601)	
研究分担者	武内 寛明 (Takeuchi Hiroaki) (20451867)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授 (12602)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関