C-3

禁転載

検査・診断応用を目指した新規分子認識プローブの開発

バイオセンシング研究グループ・重藤　元

研究のねらい

- 細胞、組織に存在するわずかな遺伝子変異やペプチドホルモンなどを簡易、迅速、高精度に多因子同時検出する新しい検査・診断システムの創出。
- 効率的な診断のための癌組織・血液試料中の抗癌剤耐性遺伝子変異細胞・変異遺伝子の検出法開発。
- ELISA等の従来法では検出が困難な、詳細な糖尿病診断のための血糖値制御ホルモン（グルカゴン）検出法の開発。

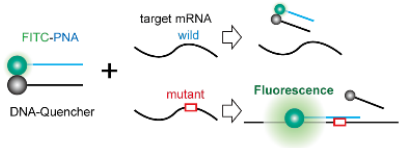
新規技術の概要と特長

抗癌剤耐性癌細胞診断のための遺伝子変異検出プローブの開発

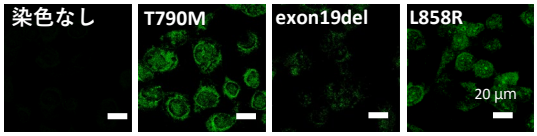
癌細胞はその発生過程において様々な遺伝子変異を獲得する。特にEpidermal Growth Factor Receptor (EGFR)におけるexon19 E746-A750の欠損やT790M、L858R の非同義置換変異を獲得することは癌細胞の増殖促進、抗癌剤耐性能の獲得をもたらす。本研究では癌組織中に含まれる抗癌剤耐性癌細胞や血中の癌細胞由来変異遺伝子の新たな検出方法の開発を目的とし、EGFR mRNA 中の3 つの遺伝子変異をそれぞれ検出するペプチド核酸(Peptide Nucleic Acid, PNA)を使用した核酸プローブを開発した。

作製した複数のPNAプローブを用いることで、EGFRに変異を持つ遺伝子や肺癌細胞がイメージングにより検出可能である。今後検出感度、特異性などを高めることで、癌組織中の抗癌剤耐性癌細胞を検出する診断への応用を行う。

PNAプローブの標的変異遺伝子検出方法の概要



3種PNAプローブを用いたFISH解析による遺伝子変異抗癌剤耐性癌細胞の検出
(肺癌細胞H1975株; - exon19del, +T790M, +L858R)

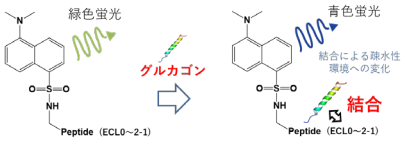


糖尿病、生活習慣病診断のための新規グルカゴン検出プローブの開発

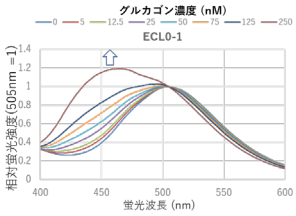
グルカゴンはインスリンと拮抗することで血糖値を上昇させる作用を持つペプチドホルモンである。近年、血糖値の制御はインスリンよりもグルカゴンが多くの役割を担っているとするグルカゴン中心説が提唱されるなどその重要性は増している。しかし既存の抗体を用いた検出方法では、血中にグルカゴン類似ペプチドが多数存在することによる偽陽性が問題となる。

本研究ではグルカゴン結合ペプチドの探索し、ペプチド複合体の形成に伴い蛍光波長変化するシアノピラニル基などの有機蛍光物質を連結した検出プローブの開発を行った。開発したグルカゴン検出プローブを用いることで、既存の手法と比較し特異性の高いグルカゴン検出が可能となる。

グルカゴン結合性ペプチドを用いたグルカゴン検出法の概要



グルカゴン検出プローブの測定例



期待される連携・応用分野

- 抗癌剤耐性細胞検出ための体外診断薬キットや研究用試薬等への応用
- 血中多因子ホルモンの迅速スクリーニングによる検査キットや健康診断への応用
- 診断機器用検出プローブ、試薬の開発

関連特許および文献

- Shigeto H., Yamamura S., *et. al.*, *Analyst,* 144, 4613-4621 (2019)
- Shigeto H., Yamamura S., *Sens. Mater.*, 31, 71-78 (2018)
- 重藤 元、鈴木 祥夫、山村 昌平「グルカゴン認識ペプチド並びにグルカゴン検出法」, 特願2019-189244