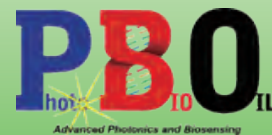


国立研究開発法人 産業技術総合研究所  
先端フォトニクス・バイオセンシングオープンイノベーションラボラトリ



# PhotoBIO ニュース

2019年 4月11日  
第2号



## Contents

- オープンイノベーションと産学官連携3.0 -産総研・阪大OIL、協議会の誕生秘話 -
- 戦略課題2 フォトニクスバイオセンサー班  
・プラズモニックバイオセンサーの開発  
・高速DNAシーケンス技術の開発状況
- 学会報告
- 第6回フォトバイオ協議会ワークショップ開催報告

## オープンイノベーションと産学官連携 3.0

### - 産総研・阪大 OIL、協議会の誕生秘話 -

産総研、阪大招へい教授  
副ラボ長 脇田 慎一



#### オープンイノベーションアリーナの拠点整備

経済産業省は、大学と産総研が近接・連携する新たなオープンイノベーションの拠点(オープンイノベーションアリーナ:産学官連携 3.0 を実践する場)を形成するために、2016 年度は 20 億円を優先課題推進枠として、産総研予算に手当した。この新政策により、現在までに、産総研・阪大オープンイノベーションラボラトリー(OIL)を含め 8 拠点が大学敷地内に誕生した。

#### イノベーション・サイクル・システムの構築

オープンイノベーションアリーナの目標は、技術シーズの橋渡しを受けた企業が事業化を通じてグローバル企業に成長し、その収益が研究資金へ還元され、更なる技術シーズの創出につながる好循環の仕組み(イノベーション・サイクル)の構築である。

#### 産総研・阪大先端フォトニクス・バイオセンシング OIL

世界最先端の阪大・産総研を核にした協奏連携組織として、2017 年 1 月に産総研・阪大 OIL が近畿圏で初めて、阪大吹田キャンパスに設立された。産総研と阪大との間で数回のクロズドのワークショップにて、入念に組織設計された。OIL 設立時のプレスレクに用いた図 1 には、近接連携により融合する組織設計の考え方と実行する 3 つの戦略課題が示されている。

#### フォトバイオ協議会

産総研・阪大 OIL では、民谷ラボ長の強いリーダーシップにより、開所式で、図 2 のスライドを用いて、協奏連携によるオープンイノベーションを実施する PhotoBIO-OIL 協議会(仮称)を設立すると明確な意思表示を行った。

若いスター研究者を育てる「ご機嫌な」研究環境を整備すると共に、企業関係者には上手く活用して「儲けて」いただきたいと小生からお話をした事を良く覚えている。



図 1 産総研・阪大 OIL の組織設計と戦略課題



図 2 フォトバイオ協議会の組織設計

#### フォトバイオ協議会の運営

第 1 回は、協議会メンバーを募ることを目的に、産学官連携の方針や阪大 OIL での研究内容を公開で行い、フォトバイオ協議会設立後は、協議会関係者のみのクロズドなワークショップと研究交流会を計 5 回行った。会員企業様のご協力をいただき、各社の技術シーズやニーズを紹介いただきました。厚くお礼申し上げます。

今後は会員企業の希望を踏まえたテーマ設定ワークショップや個別企業打合せを進めて行く所存です。皆さまの温かいご支援とお力添えをよろしくお願い致します。

## プラズモニックバイオセンサーの開発

大阪大学大学院工学研究科/産総研 客員研究員 齋藤 真人

近年の急激な高齢化や社会への不安感などに対処するため、つまり医療、食品安全、テロ対策など広範な分野において、標的物質を迅速高感度に検出するバイオセンシングデバイスの開発が求められる。とくに、酵素や蛍光色素など標識剤を必要とせずに、標的物質の結合により直接的に生じる信号変化を捉えることが可能なプラズモン(LSPR)が興味深い。また、バイオセンシングの実用性からセンサチップは使い捨てが求められることから、基板作製プロセスの簡略化に有用なナノインプリント技術の利用を、さらに多項目網羅解析を目指したハイパースペクトルイメージングによる計測への試みを紹介する。

### ナノインプリントによる LSPR バイオセンサー [1]

金型にポーラスアルミナを、転写素材に低吸湿性・低自家蛍光・高光透過性で熱可塑性のよいシクロオレフィンポリマー(COP)を用いた。熱ナノインプリント後、COP 表面のナノピラー構造に Au スパッタを施し、Au ナノピラー-LSPR センサー基板を作製した。Au ナノピラー表面に 10-carboxyl-1-decanethiol SAM 層を形成し、NHS/WSC により NHS 基を付加、次いでヤギ由来抗ヒト IgG 抗体を固定化した。未反応基や露出金表面への非特異吸着の防止は極めて重要で、0.1%ウシ血清アルブミン(BSA)によりブロッキング処理を施した。抗原(IgG)サンプル溶液を加え、吸収スペクトルのピーク波長を指標に計測したところ、検出限界は 1.0 ng/mL と高感度に計測可能であった。CRP には応答せず特異性もあり、バイオセンサとしての基本性能を有することを確かめた。

### 常温ナノインプリント LSPR センサーチップ開発 [2]

熱ナノインプリントのほかに光ナノインプリントもよく知られている。しかし、いずれの手法も、温度、圧力、光照射などの精密制御を要し、装置も大型高価となる。これに対し常温ナノインプリントという選択肢もある。これは PDMS のような溶媒吸収力を持つ素材をモールドとして用いて、基板上のレジスト材料に加圧接触することで溶媒を吸収すると同時にレジストが硬化成型される。そのため、圧力制御のみの簡易な装置でナノインプリントが可能である。著者

は圧力制御も不要なより簡易にナノピラー構造の転写成型を可能にする試みを行った。図 1 のようにナノ細孔を有し、さらにレジスト基材へ接触しやすいよう柔軟なフィルム状(180 $\mu$ m)とした PDMS モールドを作製した。スピコート塗布した HSQ レジスト膜上に PDMS フィルムモールドをのせるだけでナノ構造転写成型に成功している。金スパッタにより金ナノ構造化させて LSPR センサー基板とし、免疫グロブリン IgA の検出も可能であることを確かめ、LSPR バイオセンサーとして機能することも示すことができています。

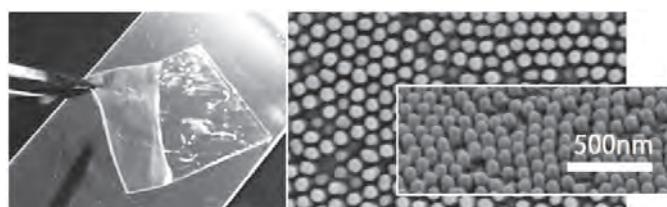


図 1. 常温ナノインプリントにより作製した LSPR ナノ構造。

(a) 表面にナノ細孔を持つ PDMS フィルムモールドと HSQ レジスト基板の接触、(b) 作製した Au ナノ構造。

### 面分光 LSPR イメージングによるバイオセンシング [3]

1 枚のセンサーチップで多種の標的分子を同時に計測できれば、センサーとしての付加価値を高めることになる。LSPR センサーチップをマルチスポット化し、計測における操作性・迅速性のためにハイパースペクトルイメージングを利用した LSPR 計測に取り組んでいる。可変フィルターによって単一波長順に光を透過させ、同時にその強度を CCD カメラにて記録していくことで、各波長の 2 次元分光画像を取得できる。これにより、面内にある各センサスポットを同時に計測することができる。上述のナノインプリント LSPR チップをマルチスポット化(抗 IgA 抗体、抗 CRP 抗体、抗 TF 抗体)し、抗原サンプル添加前後のスペクトル計測したところ、各抗原サンプル特異的に吸収ピークシフトが計測できた。チップデザインにより集積数や、より網羅的な多検体検出も可能であり、現在、網羅計測化の検討を行っているところである。

**参考文献:** [1] M. Saito, et al, *Anal. Chem.*, **84**, 5494 (2012). [2] S. Jiang, M. Saito, et al, *Sensor. Actuat. B-Chem.*, **242**, 47 (2017). [3] H. Yoshikawa, M. Saito, et al, *Anal. Methods*, **7**, 5157 (2015).

## 高速 DNA シーケンス技術の開発状況

産総研バイオメディカル GL/PhotoBIO-OIL 永井 秀典

近年、抗菌薬の不適切な使用による薬剤耐性菌の増加が世界的に問題となっており、薬剤耐性 (AMR) 対策として抗菌薬の適正使用を目指した世界的な取り組みが進められている。特に、従来型の経験的治療 (Empiric therapy) における広域薬の漫然とした使用がその温床にあり、正確な原因菌の特定と、その標的に対する第一選択薬を用いた標的治療 (Definitive therapy) を実現する迅速な確定診断技術の開発が期待されている。

産業技術総合研究所では、これまでにリアルタイム Polymerase Chain Reaction (PCR) 法の高速化による各種細菌やウイルスの迅速検査技術の開発に成功しており、特定の微生物に狙いを定め、その存在を高感度に判定できた事例について、先日の第 30 回日本臨床微生物学会総会にて発表を行った。「ショーケース！30 分の壁を破る革新的次世代診断法」と銘打たれたシンポジウム枠が設けられ、海外企業を含め競合する技術とともに高速 PCR 技術を紹介したところ、感染症対策に取り組む現場の医師や臨床検査技師の方々から大変大きな反響を頂き、迅速検査技術のニーズの高さを改めて認識した。

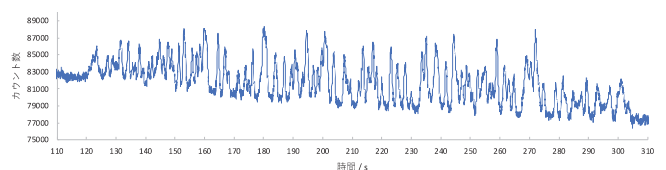
さらに、同総会では、リアルタイム PCR の様に「特定」の微生物のみを決め打ちで検査するのではなく、次世代シーケンサ (NGS) や質量分析装置 (MS) を用いて「不特定」の細菌を標的に菌種を同定する技術についてもトレンドとして関心を集めていた。特に、ナノポアを用いた MinION は PCR の要らないダイレクト DNA シーケンスを謳っており、高速な DNA シーケンサとして高い注目を集めているが、現状では配列解読の正確性は 8~9 割程度と不十分であり、既存の NGS と組み合わせることで、数日でバクテリアの全ゲノム解析が可能となっている。ただし、MinION も MS の何れも、あらかじめ長時間かけ、培養により増殖・濃縮された検体からであれば、前者はシーケンスに 30 min と解析を含め 1 hr、後者は 1 min で菌種を同定できることが示されていた。

長時間かかる培養に比べ短時間の間に *in vitro* で DNA を増幅できる点で、ここまで PCR 法が広く活用されてきた訳であるが、DNA シーケンサにおいても、高速 PCR との組み合わせは、検査の高速化に寄与できると期待できる。ただし

診断への利用を想定した場合、何より正確性が求められるため、MinION ではなく、最もスタンダードで正確なサンガー法との組み合わせについて検討を行っている。

これまでに、サンガー法の要素技術である DNA 増幅の PCR と、DNA をサイズ分けし蛍光標識化するサイクルシーケンスを、高速 PCR 技術を用いることでそれぞれ 15 分まで短縮できることを確認しており、今年度は、マイクロチップ電気泳動との組み合わせにより、10 分以内に約 800 bp の DNA 断片を一塩基レベルで再現性良く分離できることを確認した (下図)。第十七改正日本薬局方「遺伝子解析による微生物の迅速同定法」において、1 対のプライマーセットを用いて 16S rRNA 遺伝子上の約 800 bp のターゲット領域を増幅し、DNA シーケンサにより塩基配列を調べることにより、細菌を同定する手法が示されており、これまでの成果を組み合わせれば、約 40 分で細菌同定を実現できる可能性が見いだされた。

現状では、マイクロチップ電気泳動の検出系には、光学除震台の上に、顕微鏡と大がかりな光学系の組合せたバラックにより行っているため、今後は、アデニン、グアニン、チミン、シトシンの 4 種類の塩基に合わせた 4 色の蛍光を高感度に同時検出可能な小型蛍光検出器を開発し、トータルシステムとしての小型化を、フォトバイオ協議会に参画する企業と連携しながら進められればと考えている。



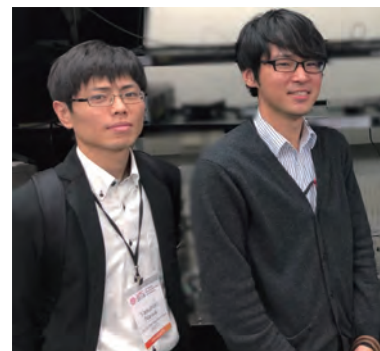
マイクロチップ電気泳動による 800 bp の DNA 断片の高速分離 (分離長 35 mm におけるグアニン末端の検出例)

## 学会報告

### 10th Asian Photochemistry Conference (APC 2018)

産総研/PhotoBIO-OIL 名和 靖矩

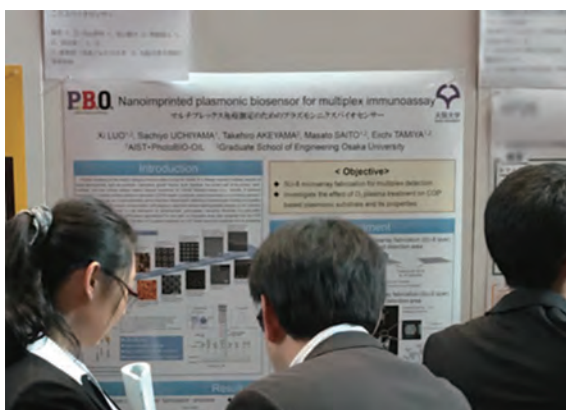
国際学会 APC 2018 に参加し、超解像バイオイメージングに関する研究成果の口頭発表を行った。学会は、台湾の国立研究機関 Academia Sinica と国立大学 National Taiwan University の共催で、台北にて 2018 年 12 月 16～20 日の期間で開催された。本年(2018 年)は、両研究機関が創立 90 周年を迎える年であり、学会は大いに盛り上がった。300 人を超える研究者・技術者が、複数の国から参加した。学会では、光物理、光化学、光生物学を中心に多岐にわたる研究発表があった。議論を通して、多くの刺激を受けただけでなく、実験データの質と安定性を向上させるために有益な、技術的な情報もラボへ持ち帰ることができた。



台湾に留学中の西田君(右)と

### 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 38 回研究会

産総研/PhotoBIO-OIL 羅 希



2018 年 10 月 31 日～11 月 1 日、札幌市民交流プラザ(北海道、札幌)で開催された化学とマイクロ・ナノシステム学会第 38 回研究会に参加した。三つのマイクロ・ナノ技術関連のシンポジウムと同時開催され、口頭発表とポスター発表を併せて 580 件であった。筆者は、タンパク質免疫測定のための LSPR チップに関する発表を行った。詳細なプラズモンニクスチップの作製方法について多くの参加者から質問を受けた。また、蛍光、電気化学、ELISA など従来の手法を用いてのデバイス開発に関する情報交換や、抗原抗体反応についてのディスカッションすることができる、非常に有意義な経験となった。

### ECUST-OU Applied Physics Symposium 2018

大阪大学/産総研クロスアポ 植村 隆文

11 月 16～18 日にかけて、中国・上海の華東理工大学(ECUST)において開催された「1st International Symposium on Applied Physics and Bio-Medical Applications」に参加した。日本からは、民谷栄一教授を筆頭に民谷研究室、OIL から複数名が参加し、ECUST 側からは Xiaoming Dou 教授と山口佳則 教授を筆頭に複数名の研究者が参加した。大阪大学・ECUST の合同シンポジウムであり、第 1 回目となる今回はバイオセンシングのための光技術、デバイス技術などに関連した議論が行われた。OIL・RA 修士学生も初の国際学会・口頭発表を立派に行い、非常に良い経験になったと思う。



## 第6回フォトバイオ協議会ワークショップ開催報告

産総研バイオメディカル/PhotoBIO-OIL 古谷 俊介

平成31年1月17日に大阪大学フォトニクスセンターにて、第6回フォトバイオ協議会ワークショップが開催されました。当該ワークショップは今回で6回目の開催となり、11社の企業、合計31名と多くの方にご参加いただくことができました。



ワークショップの前半では、初めに、国立循環器病研究センターの湯元昇特任部長から、「健都における医療クラスターの形成とオープンイノベーションによる革新的技術開発」として、オープンイノベーションの成功事例や循環器病の予防の重要性、国循での共同研究例などに関してご講演いただきました。

次に、大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科の劉莉特任准教授から、「iPS細胞培養基材及び心筋移植デバイスの開発」として、ナノファイバー技術を用いたiPS細胞培養基材及び心筋移植デバイスに関する研究内容についてご講演いただきました。

ワークショップの後半では、話題提供として、参画企業3社よりご講演いただきました。ニプロ株式会社の末竹寿紀氏より、同社の紹介とオープンイノベーションへの期待についてご説明いただきました。杏林製薬株式会社の恒川暁朗氏より、同社の感染症関連事業の紹介とフォトバイオ協議会への期待についてご説明いただきました。塩野義製薬株式会社の田中嘉一氏、森田敦氏より、同社の研究紹介とフォトバイオ協議会への期待についてご説明いただきました。

全体討議として、発表資料を参画企業内で共有する事の必要性やワークショップでアカデミアの研究内容も取り上げて欲しい等、今後の運営の仕方についても活発に意見交換が行われました。ワークショップ後には、フォトニクスセンター4階のコモンラウンジにて、恒例の交流会が行われ、組織をこえて交流を深める良い機会になりました。

