

# どこでも いつでも、誰にでも簡単操作で “菌”の検出判定が可能に

～カクテルPCR+核酸クロマト法(CP-PAS)～

岐阜大学大学院・再生医科学・病原体制御分野  
岐阜大学医学部病原微生物遺伝子資源保存センター  
教授:江崎 孝行

## Profile

1982 岐阜大学大学院博士課程修了 医学博士  
1982 岐阜大学医学部助手  
1984 岐阜大学医学部講師  
1985 東京大学医科学研究所(流動研究員)  
1986 ケニア中央医学研究所(JICA医療専門家)  
1989 タイ国立研究所(JICA医療専門家)  
1990 岐阜大学医学部微生物学講座教授  
微生物の系統分類体系の構築、感染症の診断システムの開発



## 病原微生物株約2万株を保有

2002年から文部科学省の生物基盤整備事業(NBRP)の支援をうけて病原微生物株の系統保存と分譲サービスを行ってきた。約2万株のコレクションの背景には医学部の微生物学講座が開講された1950年から歴代の3代の教授が収集してきた菌株保存の歴史がある。

世界の病原細菌学の歴史を背負った株も沢山保有している。1990年に講座を引き受けたとき、これらの菌株をどのように有効利用するか長い間、知恵を絞った。系統保存と分類という地味な活動を積極的に研究と社会に役立スタイルに変える方法を模索してきた。このままでは貴重な菌株が

埋もれてしまうとの危機感から、病原体の検出同定法を簡易化し、専門家でなくても微生物をスクリーニングする手法を導入すれば、仕事の展開が広がり、社会貢献ができると考えた。

## 検査の迅速化と簡便化への取組

1990年代に米国で開発されたCapillary PCR機器は、国内第一号機を入手し、10分で目的のゲノムが増幅する迅速さに惚れ込み、その利用方法の開発に没頭した。この機器は25年たった今でも研究室の片隅に鎮座しており、現在でもこの機種が増幅スピードに到達した機種は市場には出てきていない。この機器の迅速性に着目した外科医が、回復手術した患者の腹水からがん細胞の遺伝子を検出し、その結果が出るまで待機し、癌の手術方法の判断を選択するという仕事に利用してくれたのは忘れられない。

感染症の診断が迅速化されることは医療の在り方を変える切り口になる。のどが痛い患者は外来でうがい液を受付で渡せば、30分後に診察室に入った時には医師の手元にはうがい液から検出された病原体名がすでに届いている。このことは適切な抗生剤の選択に直結し、医療費の削減にもつながる。

迅速性を求めるためには、機器の操作の簡便化が必要になる。大きな医療現場では高度な医療機器

が導入され、大量の検査材料を処理する必要がある、専門の検査技師がいる。この大病院の検査環境は個人病院や、訪問診療では不要である。簡単に誰にでもできる、いつでもできる微生物検査をキャッチフレーズに唱えながら、迅速化と簡便化を取り込んだ遺伝子検査を目指してきた。

約25年が経過し、この目標は研究室レベルではほぼ達成された。1.9kgまで軽量化した増幅機器を野外に持ち出し、水の分析であればそのまま水を5ul採取し、増幅器にかける。バッテリーは車のシガーライター電源、あるいはポータブルのリチウム電池を使う。目的の菌が5,000個/mlあれば、水の濃縮は不要であり、30分後には答えが出る。増幅した遺伝子を確認する方法も簡便性を上げるうえで重要な因子であった。蛍光検出系を使えば簡単に増幅産物をモニターできるが、特許に抵触する点や機器の価格が高騰することを考え、増幅機器に検出系を組み込まず、増幅終了後に確認する方法を採用した。

ろ紙の上にDNAプローブをインクジェットプリン

ターで印刷し、クロマトグラフィーを行う方法で増幅産物を識別する方法を開発した。このクロマト法を採用することで一度に複数の遺伝子産物を識別できるようになり、カクテルPCR-核酸クロマト法と呼び、複数の微生物をスクリーニングする手法として完成させることができた。



### 開発に成功した携帯型PCR機器 QuickMobile

【仕様】  
名称:「クイックモバイル」 適用チューブ:200μL、Low PCR Tube  
電源:ACアダプタ、シガーライター、Li-電池 重さ:1.9kg  
消費電力:DC12V/31W 外形寸法(mm):横210×高さ90×奥行165

## 食品流通の変革

この方法の応用分野として、食品の流通を変えることに取り組んでいる。食材の原料や加工食品の安全性を確定してから製品を出荷するという考え方である。食品に含まれる病原体の検査は国際的には25gに一個の微生物汚染を検出する感度が求められている。

この規定にしたがった検査を行うと、増菌培養、分離培養の工程が不可欠になるため検査の確定に数日を要する。遺伝子検査であれば増菌液に5,000個/mlまで菌が増えれば検出できる。このレベルまで菌が増殖するにはサルモネラや大腸菌では5-6時間であるので、増菌培養後に1時間

かけて遺伝子検査をおこなえば一日で検査は完了するので、製品を当日出荷できる。

迅速性、簡便性、網羅的という3つの要素を利用すれば、すでに確立した社会基盤を大きく変革する新しい分野がいくつも見えてくる。