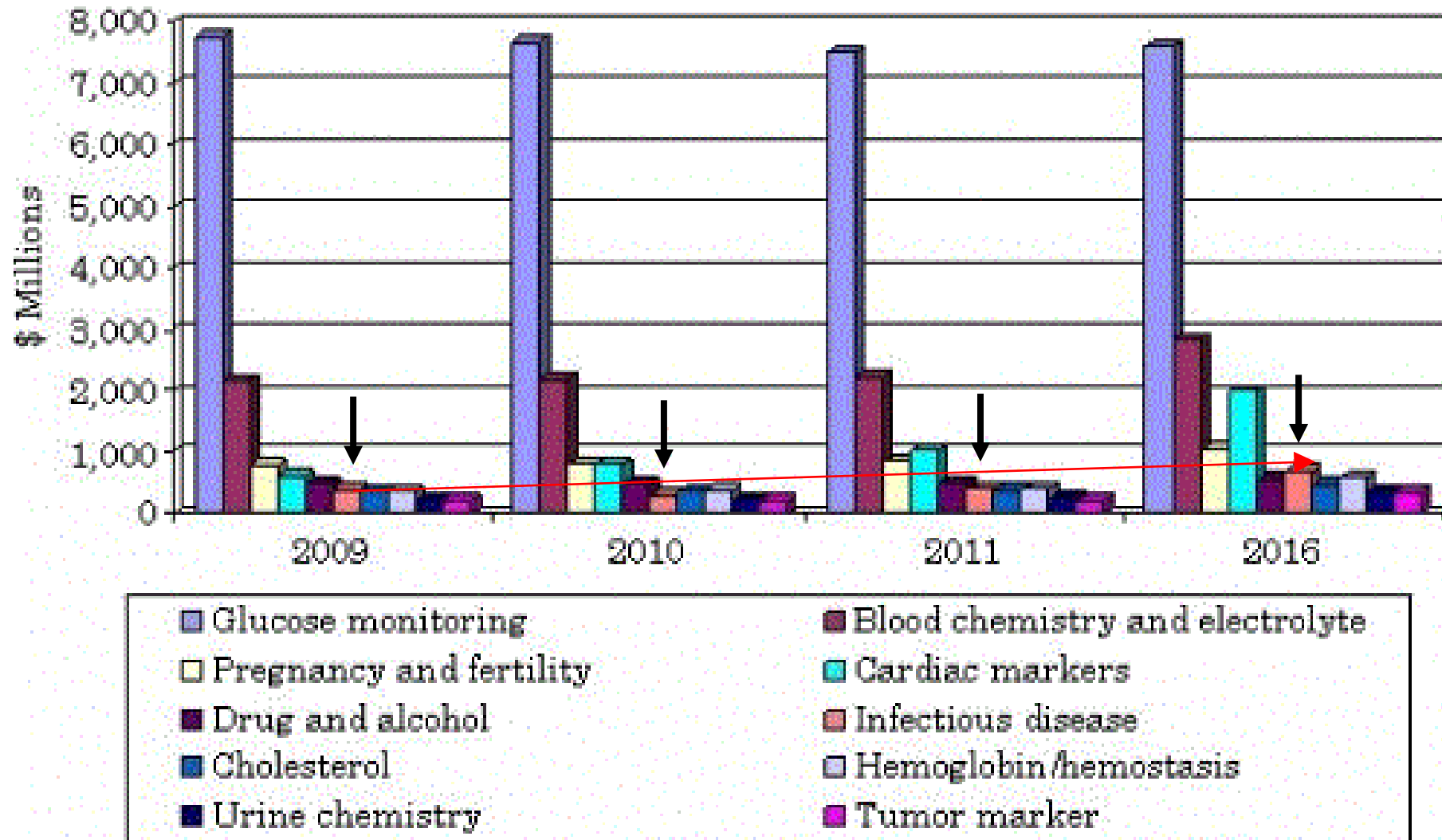


# バクテリオファージ尾部タンパク質 を利用した細菌検出方法

高知大学教育研究部医療学系

内山淳平、内山伊代、大畑雅典、松崎茂展

# ポイント・オブ・ケア (POC) 診断市場



# 迅速細菌検査技術の現状況（1）

## 現状況

PCR, qPCR

MALDI-TOF/MS

次世代シーケンサー

初期投資が必要（高額）

POC診断  
キット

細菌感染症の  
早期の予防実現

抗体抗原反応を利用した  
簡易検査キット

# 迅速細菌検査技術の現状況（2）

## 抗体抗原反応を利用した簡易検査キットの利点

高額な初期投資の必要なし

利便性が高い

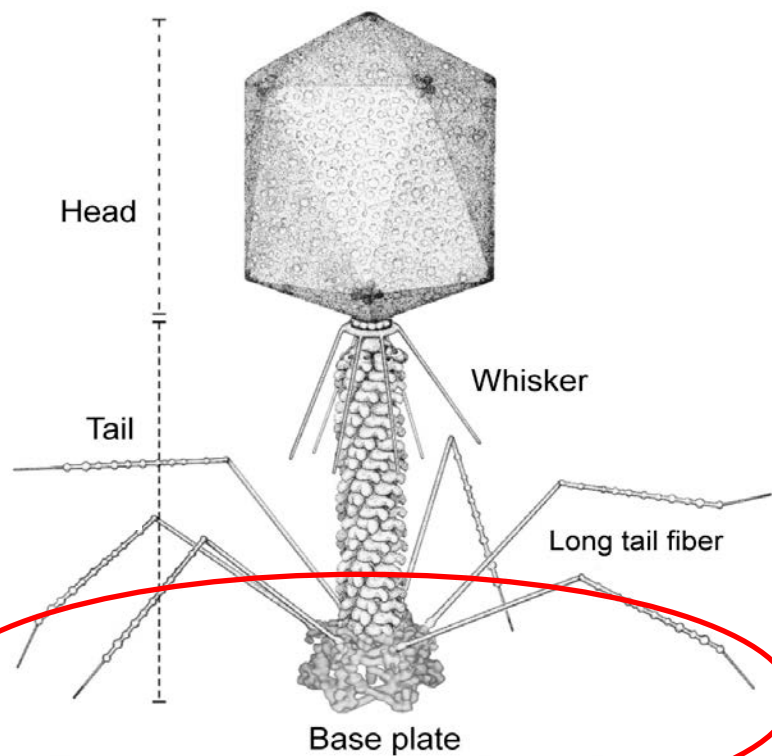
→ POC診断キット

## 市場の拡大には...

感度・精度の改良が必要である。

# バクテリオファージ(ファージ)とは？

## 尾部保有ファージの構造



(Eiserling, 1983)

細菌特異的に感染する  
ウイルスの総称

## ファージの特徴

- 分離される約96%が尾部保有ファージ
  - 細菌種特異的に感染する
- 例 大腸菌ファージは大腸菌に感染可能

細菌種特異的に認識・  
吸着するタンパク質  
(吸着分子)が存在

# 新技術の特徴：競合技術との比較（1）

競合技術：簡易細菌検査キットで使用するポリクローナル抗体

## 本技術の優位性

### 1. 特異的吸着能力

数分子のファージ吸着分子により、ファージ自体（約80-300 nm）を細菌表層に保持する強力な吸着力を有する。また、ファージ吸着分子には、極めて高い菌種特異的吸着性を有する。

### 2. 安定供給・品質管理

ポリクローナル抗体作製では、動物の個体差により作製される抗体の優劣が生じるため、抗体のロット間差が生じることが多い。一方、ファージ吸着タンパク質では、細菌を使用した大量合成システムが使用できるため安定供給・品質管理が容易である。

# 新技術の特徴：競合技術との比較(2)

## 本技術の優位性(つづき...)

### 3. 反応性が悪い細菌が出現した場合の対応

新たにポリクローナル抗体を作製するには数ヶ月を要すること、また、常に良い抗体ができるとは限らない。一方、ファージ尾部吸着分子では、ファージ自体を実験室で進化させ、吸着効率が改善した吸着分子の分離が数週間で可能である。

### 4. 施設・倫理の問題

ポリクローナル抗体作製では、動物を使用するため、動物実験施設や動物倫理の問題がある。一方、ファージ尾部吸着分子合成では、そのような問題を考慮する必要はない。

# ファージ吸着分子 を使用した細菌検査技術

昔から研究がされているファージを利用し、細菌検出技術の応用がなされた(先行技術)。



ファージPOC  
診断キット  
はない。

## VIDAS(バイダス):その特徴



▶miniVIDAS(ミニバイダス)(自動免疫蛍光測定装置)

●12検体同時測定



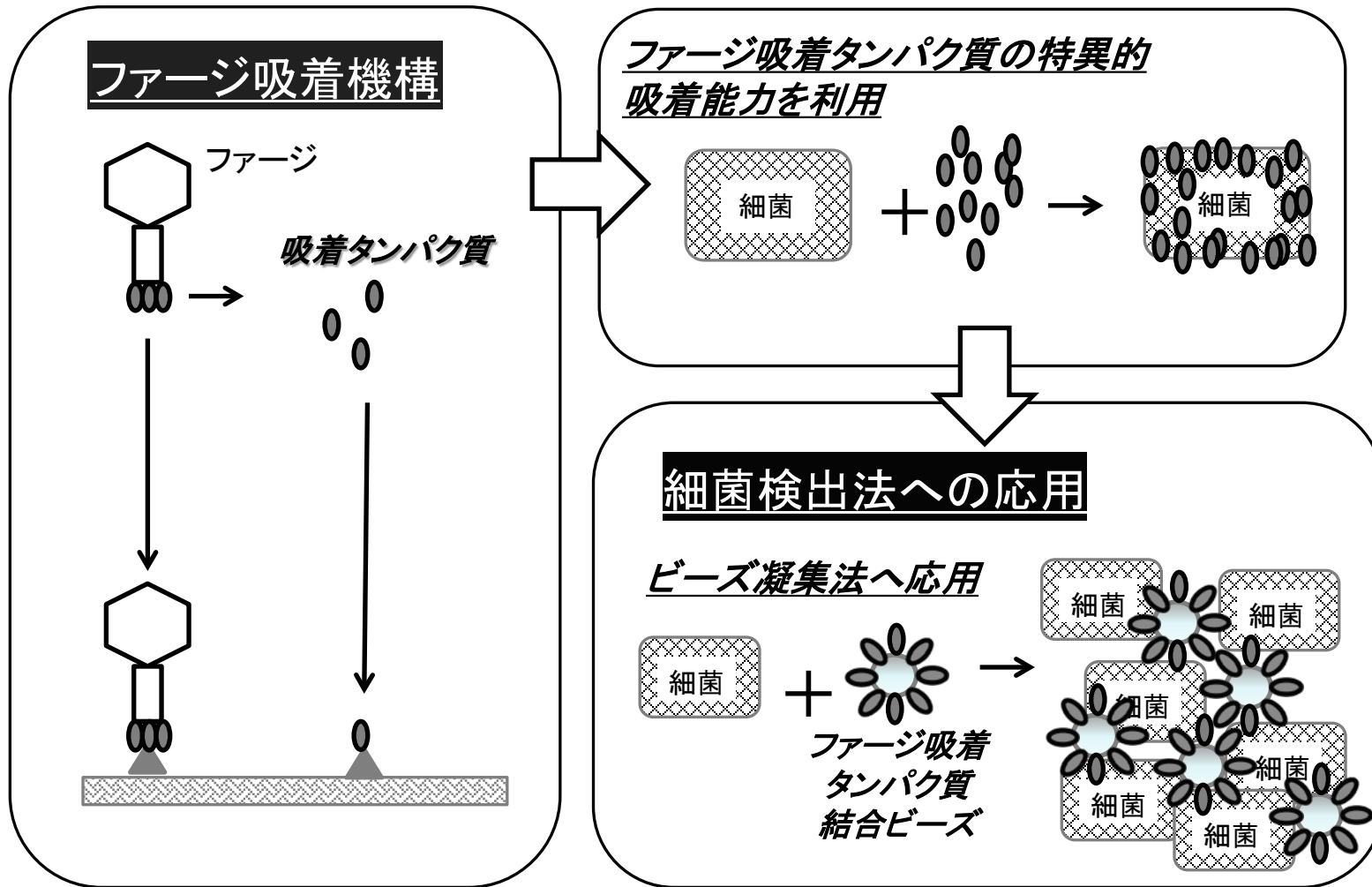
項目コード	バイダス専用試薬
LMO2	VIDAS LMO-2 (リステリアモノサイトゲネスの検出)
LIS	VIDAS LIS (リステリア属の検出)
ECPT	VIDAS ECPT (E.coli O157の検出) <ファージタンパク>
ICE	VIDAS ICE (E.cili O157の集菌)
SLM	VIDAS SLM (サルモネラ属の検出)
ICS	VIDAS ICS (サルモネラ属の集菌)
SPT	VIDAS SPT (サルモネラ属の検出) <ファージタンパク>
CAM	VIDAS CAM (カンピロバクター属の検出)
SET2	VIDAS SET-2 (ブドウ球菌由来エンテロトキシンの検出)

▶ シンプル・間違いのない作業性





# 本技術概要



**黄色ブドウ球菌検出**  
感度:  $10^5-10^6$  CFU  
迅速性: ~5分

**ファージ吸着タンパク質を凝集法へ応用**

# 本技術のポイント

ビーズ凝集法を使用し、POCキットへの技術移転の可能性を証明した。

## 本研究の特徴

1. ゲノム解析によるファージ吸着分子をコードする遺伝子の予測法の確立
2. ファージ吸着分子の同定・分離
3. ファージ吸着分子の細菌検出への応用

# 実用化に向けた課題

課題: 実用的簡易キット(イムノクロマト法など)への応用性の検討

## タンパク質自体における課題

- ファージタンパク質を利用した商品開発が少ない  
(i.e., 経験不足)。

例 ファージタンパク質を固相化する条件検討が必要など

## 検出系における課題

- 現在、既存POCキットより高感度・高精度な検出系の構築が必要。

例 金コロイド粒子への静電的結合は可能であるが、結合分子の方向性が不均一である。そのため、改良が必要と考えられる。

# 我々が目指すファージ吸着分子 を利用した細菌検出キットへ向けて

- 他の細菌種に対するファージ吸着分子の分離
- イムノクロマト法への応用
- 金コロイドへ結合分子方向が揃った状態で結合可能な技術の導入
- 金コロイド粒子の比色性(プラズモン効果)を利用した検出技術の開発

# 企業への期待

現在、高感度・高精度な検出系の開発を行なっている。

## 共同研究を希望する企業

- 検出器作製の技術を有する企業
- 独創的・新規的技術に興味を有する企業

## 本技術の導入が有効と思われる企業

- 迅速細菌検出キットを開発を行なっている企業
- 検査分野への展開を考えている企業

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称: 黄色ブドウ球菌に結合するタンパク質及びそのタンパク質を利用した黄色ブドウ球菌の測定方法
- 出願番号 : 特願2012-160613
- 出願人: 国立大学法人高知大学
- 発明者: 内山淳平、竹村伊代、松崎茂展、大畑雅典

# お問い合わせ先(必須)

株式会社テクノネットワーク四国  
技術移転部 安田 崇

TEL : 087-811-5039(代表)

FAX : 087-811-5040

e-mail : [yasuda@s-tlo.co.jp](mailto:yasuda@s-tlo.co.jp)

国立大学法人高知大学  
国際・地域連携センター  
研究協力部 地域連携課

TEL : 088-844-8418

FAX : 088-844-8556

FAX : [kt05@kochi-u.ac.jp](mailto:kt05@kochi-u.ac.jp)