

# 血流感染症向け迅速遺伝子検査デバイスの開発

20p-P10-6

HITACHI  
Inspire the Next

清水沙彩、柳川善光、今井亮、坂井友幸  
株式会社日立製作所 研究開発グループ ヘルスケアイノベーションセンタ

## 研究背景

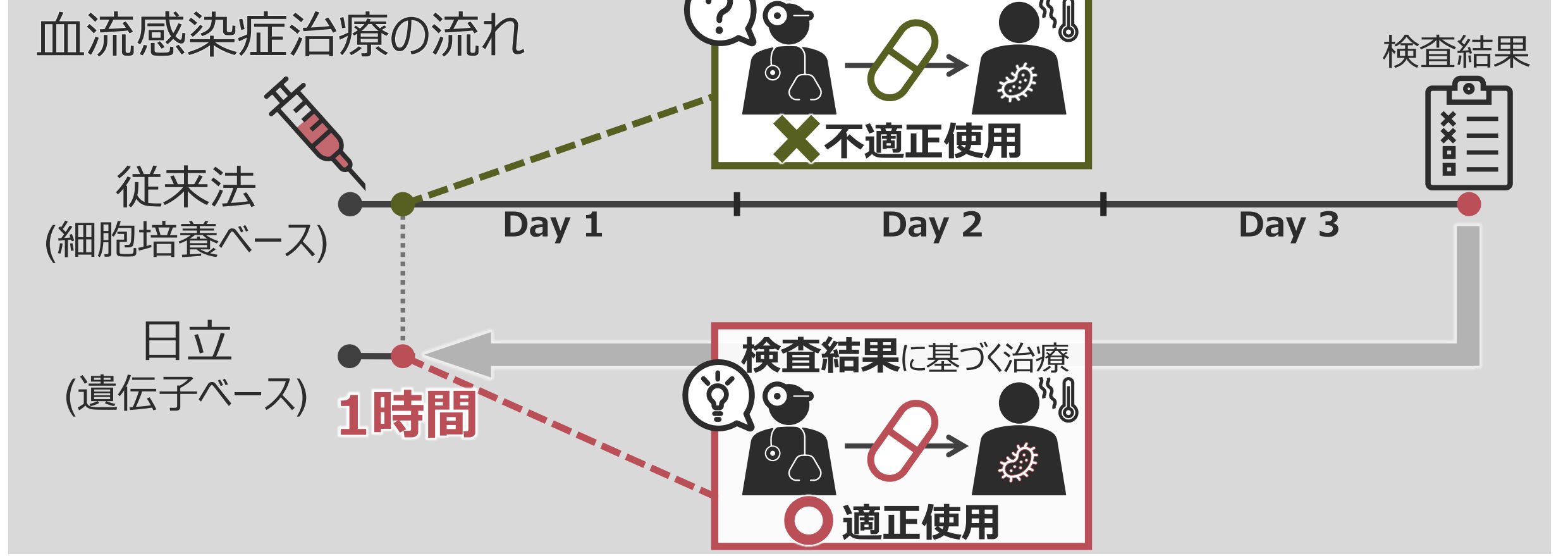
薬剤耐性菌（遺伝子変異により従来の抗菌薬が効かない細菌）による感染症が世界的な問題となっている



薬剤耐性菌まん延の主な原因  
 > 抗菌薬の不適正使用 (使いすぎ、強すぎ、合わない)  
 > WHO対策アクションプラン 抗菌薬の適正使用推進

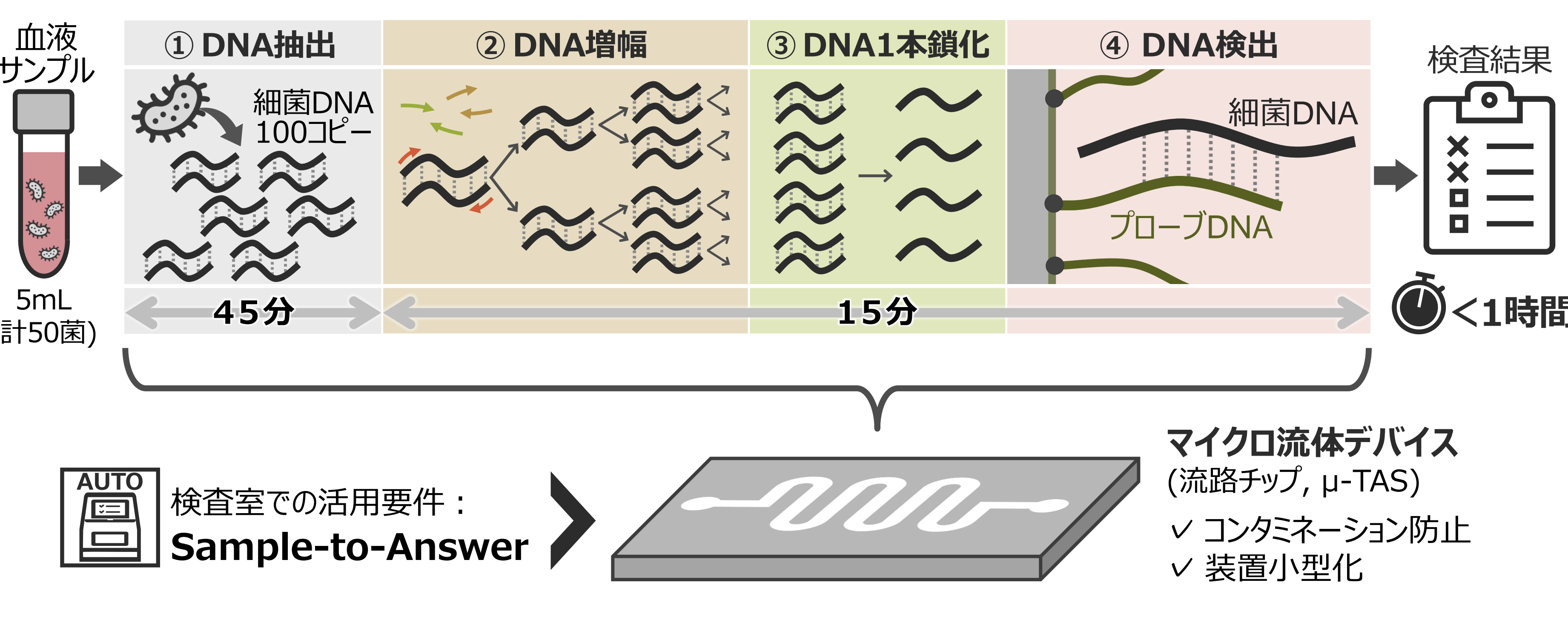
抗菌薬の適正使用推進は、血流感染症の治療で特に重要である

血流感染症とは  
 ● 死亡率30%の重篤な感染症  
 ● 発症から1時間以内の投薬が必要  
 ● 血液に僅か(10菌/mL)に含まれる細菌を検査する必要がある



研究目的 1時間以内の迅速検査により抗菌薬適正使用を支援し、薬剤耐性菌まん延防止に貢献

## 迅速検査のコンセプト



## 本発表の目的、実験方法

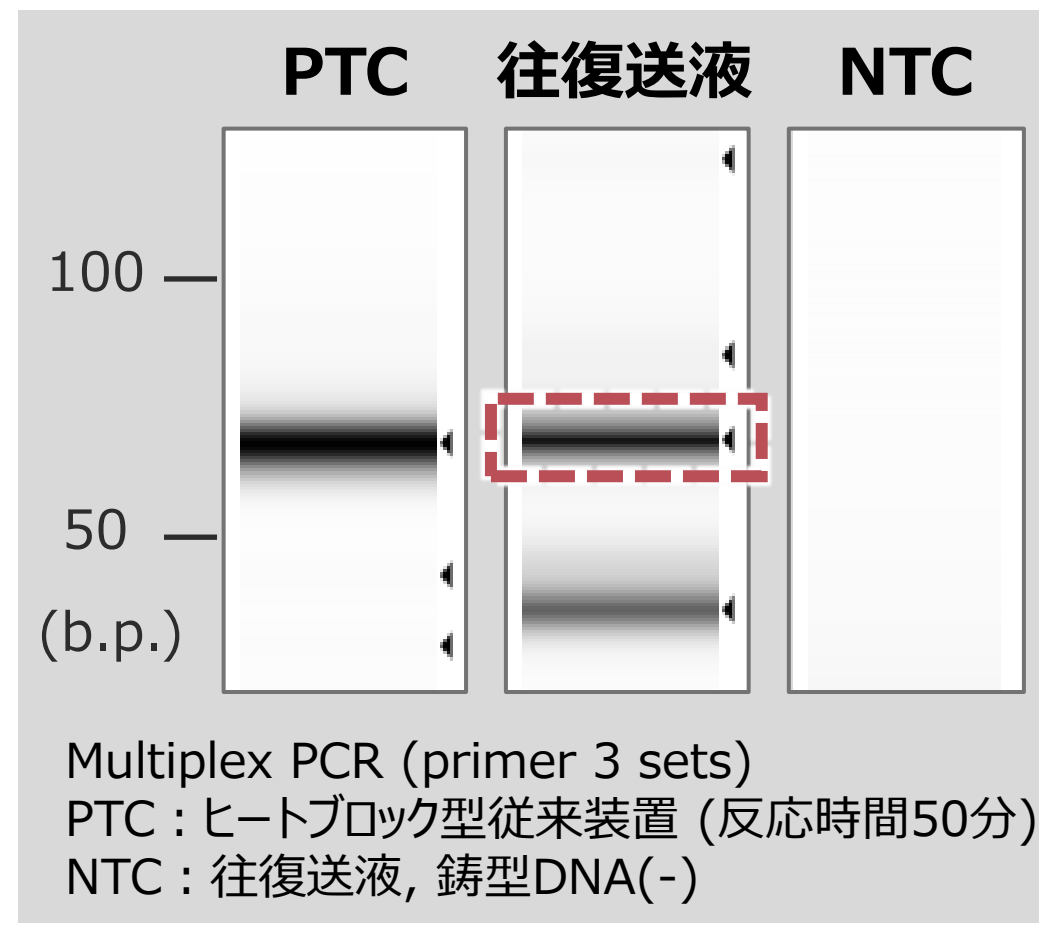
目的 ②DNA増幅~④DNA検出をマイクロ流体デバイスに統合  
 目標 ①DNA抽出の処理時間および収率を考慮し、  
 ● 100コピーの細菌DNAの検出  
 ● 合計15分以内  
 実験方法  
 ● 実験の流れ 1.各ステップの方式選定 2.統合化マイクロ流体デバイスの開発と性能評価  
 ● 実験条件  
 <使用配列>  
 標的DNA: 大腸菌/uid A gene (増幅産物70bp)  
 非標的DNA-1: 黄色ブドウ球菌/16S rRNA  
 非標的DNA-2: ヘリコバクター・シネディ/16S rRNA  
 <マイクロ流体デバイス>  
 材質: COP (シクロオレフィンポリマー)  
 流路形成方法: 切削加工

## 実験結果

### ■ DNA増幅手法の選定

手法	静置	一方向送液	往復送液
図			
反応時間 (目標8分)	× (数十分)	○	○
流路表面積 (吸着しやすさ)	150 mm <sup>2</sup>	3000 mm <sup>2</sup> [2]	300 mm <sup>2</sup>

往復送液で細菌DNA100コピーを増幅



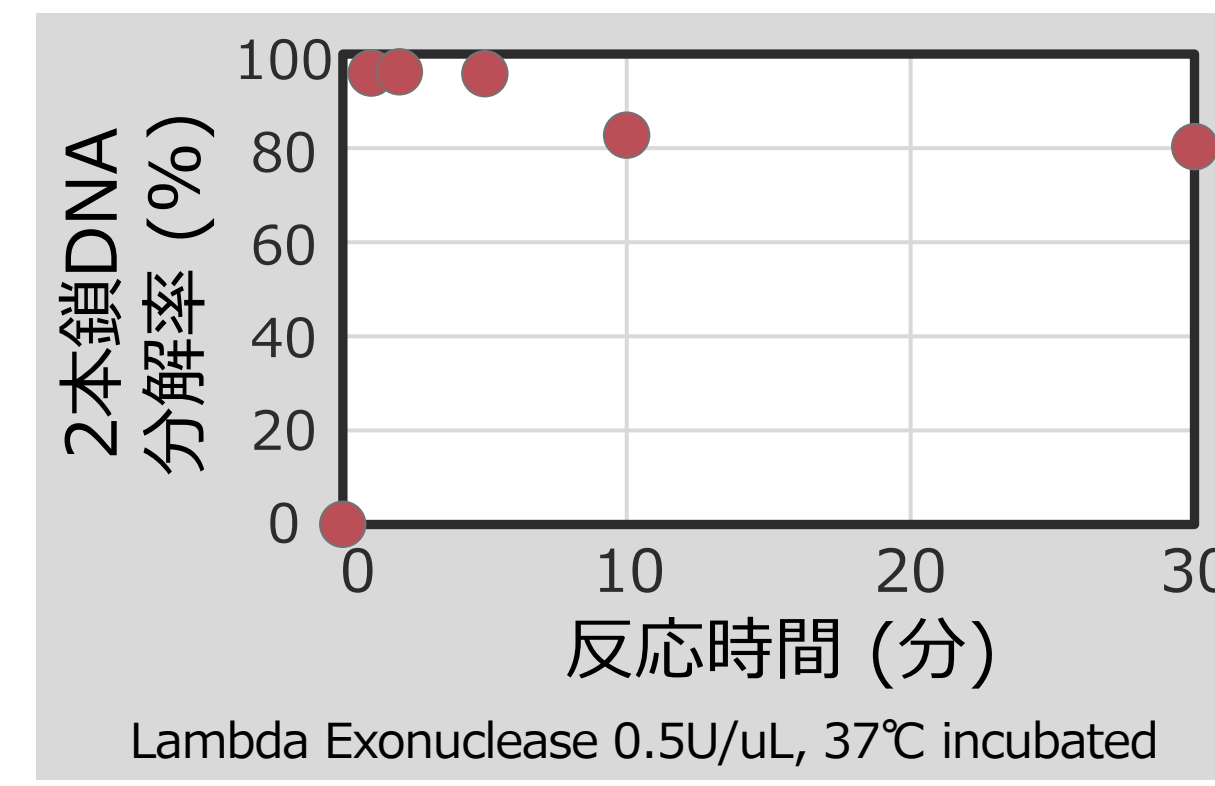
	反応時間	DNA収量
目標	< 8分	> 10 <sup>9</sup> コピー
結果	7.5分	10 <sup>11</sup> ~10 <sup>12</sup> コピー

✓ 往復送液によるDNA増幅を選定し、反応時間・収量の目標を達成

### ■ DNA1本鎖化手法の選定

手法	熱変性	固相分離	酵素分解
図			
反応時間 (目標2分)	○	× (>1時間)	○ (1分, 下図)
1本鎖化の効率 (目標>50%)	× (6~25% [3])	○	○
中和, 精製の要否	不要	要	不要

酵素分解によるDNA1本鎖化

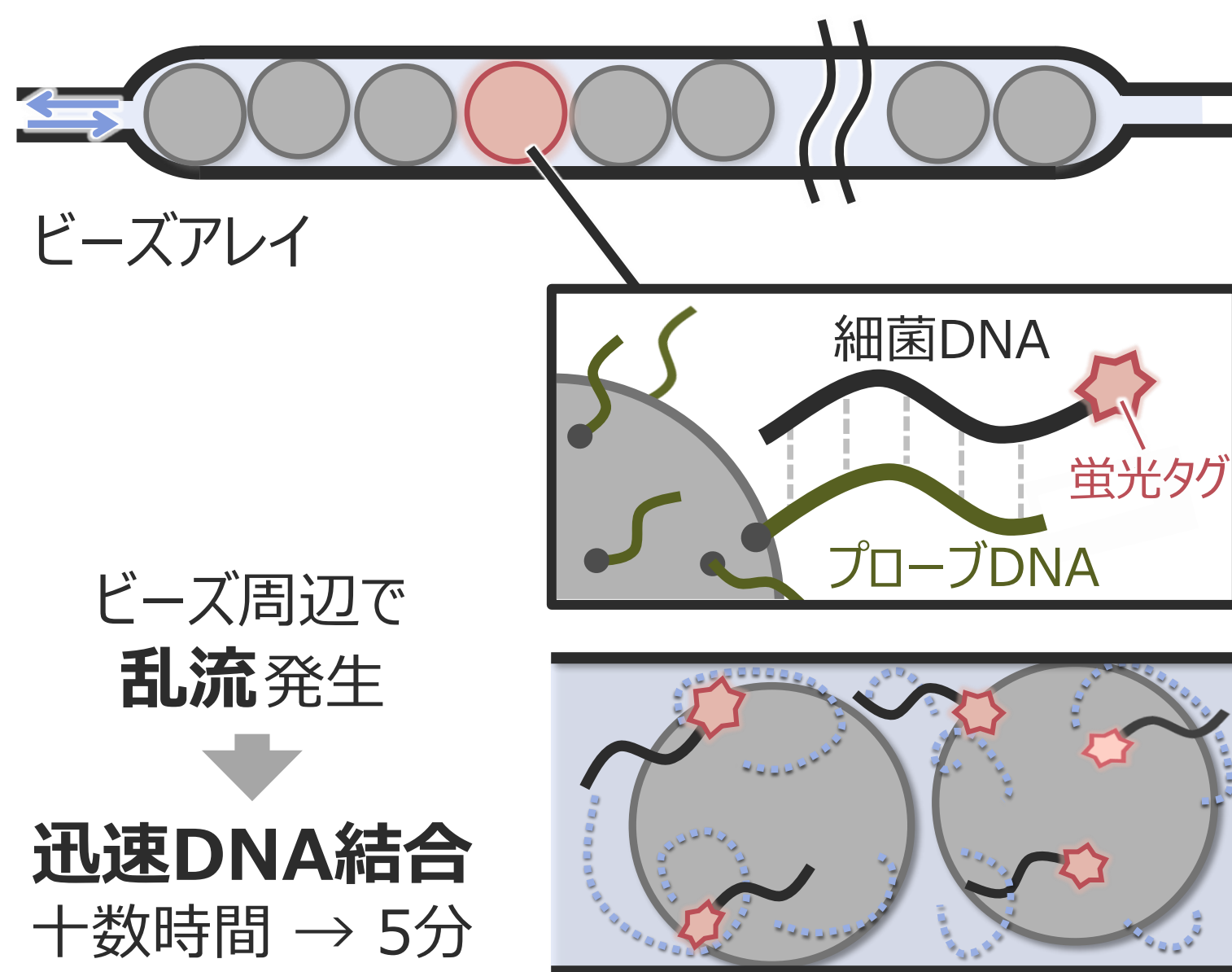


流体デバイス内で酵素分解を検討  
 わずか1分での反応飽和を新規確認

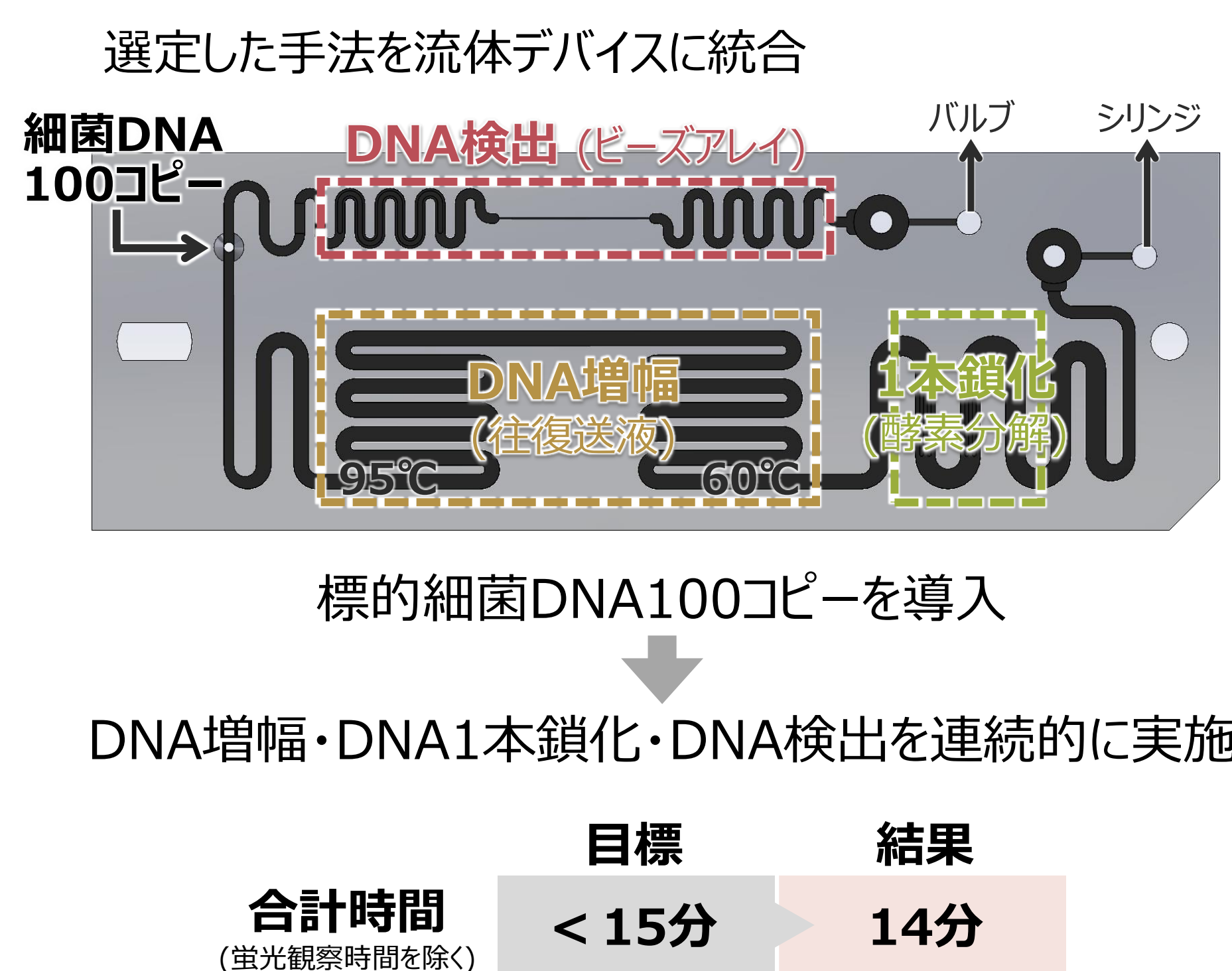
✓ 酵素分解によるDNA1本鎖化を選定し、反応時間・効率の目標を達成

### ■ DNA検出手法の選定

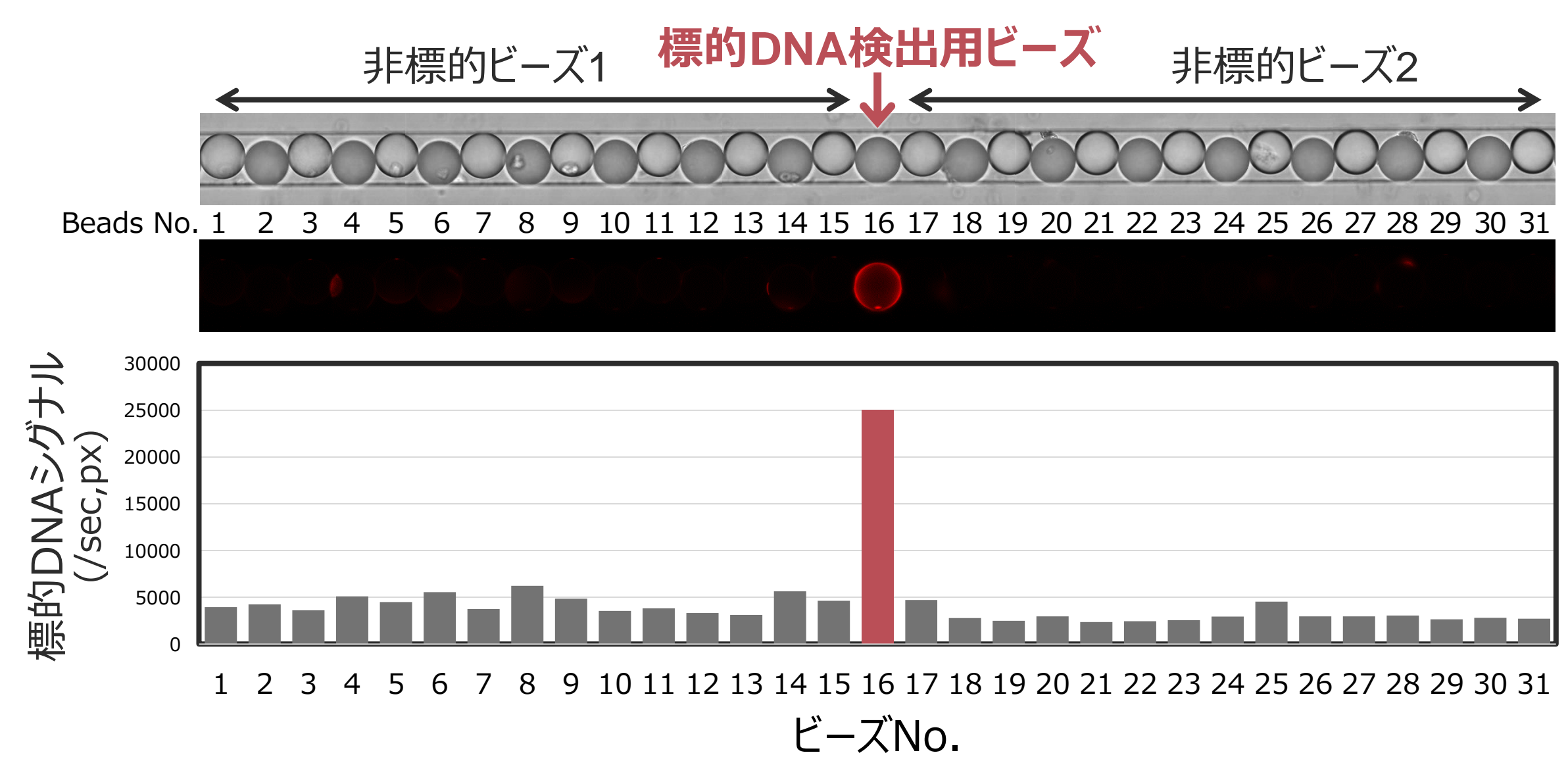
流体デバイス ビーズアレイ を用いた DNA検出を検討済み [4]



### ■ 統合化マイクロ流体デバイスの開発と性能評価



統合化マイクロ流体デバイスの性能評価



✓ 開発した統合化マイクロ流体デバイスにより、DNA100コピーの検出を15分以内に達成

## 結論、今後の展望

- DNA増幅・DNA1本鎖化・DNA検出をマイクロ流体デバイスで実施するための方式を選定した。
- 3ステップを統合した流体デバイスを開発し、細菌DNA100コピーを目標時間内の14分で検出した。
- 今後はDNA抽出の検討および流体デバイスへの統合を進める。

## 参考文献

- [1] JIMO' NEILL et al., Tackling Drug-resistant Infections Globally (2016)
- [2] Ragsdale. V et al., Biomed. Microdevices, 18, 62 (2016)
- [3] Boissinot. K et al., Clin. Chem., 53, 11, 2020-2023 (2007)
- [4] 清水沙彩, 柳川善光, 今井亮, 坂井友幸「血流感染症向け迅速多項目遺伝子検出技術の開発」第83応用物理学会秋季学術講演会, 20a-P06-10 (2022)