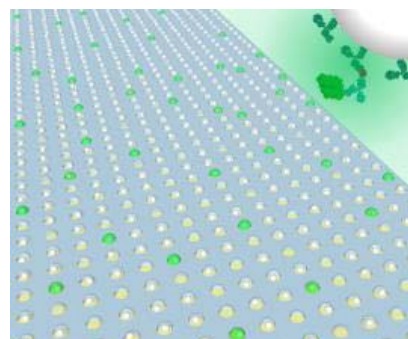


バイオアッセイにデジタル化の波が押し寄せている。ここでいうデジタル化とは、計測にコンピューターを用いるということではない。定量計測において、分子からの信号を 2 値化し、「1」の信号が得られる頻度から対象分子の数や濃度を決定する手法である。述べるまでもなく、デジタル化が可能となる理由は分子の数が本質的に離散的であることに由来する。そのため分析手法の感度向上に伴う信号のデジタル化は必然的な流れと言える。

1 分子計測にもとづき生体分子や細胞の作動メカニズムを明らかにする 1 分子生物学が 1990 年前後に勃興し、その後今に至るまで様々な 1 分子計測技術が開発されている(1,2)。昨年のノーベル化学賞の対象となった超解像顕微鏡技術の 1 つである Localization microscopy も、その成果に基づくものである。蛍光色素が 1 分子であることを前提としたその解析方法は、以下で解説するデジタル計数法と通じるところが多い。その他の代表的 1 分子計測技術としてはパッチクランプ、原子間力顕微鏡、蛍光相関分光法などがあり、その一部は既に市販化されている。しかし、高価な装置を必要とする上に、測定の対象や条件そして測定レンジに強い制約がある場合が多く、一般的な分析手法となるには至っていない。近年、極めて微小な溶液チャンバーが多数並んだアレイを用いた 1 分子計測技術が開発され、その実用化が期待されている(3)。本発表では、超微小溶液チャンバーを用いた 1 分子計測技術にもとづく ELISA 技術を中心に、その応用技術について紹介したい。

超微小溶液チャンバーを用いた 1 分子計測の原理は極めて単純で、「酵素の反応空間を微小化することで反応生成物を濃縮する」だけである。例えば、1 秒間に 10 分子の生成物を産出する酵素を一辺が $1\ \mu\text{m}$ で体積が 1fL (フェムトリットル= 10^{-15}L) のチャンバー内に閉じ込めると、1 分で反応生成物の濃度は $0.1\ \mu\text{M}$ に達する。生成物が蛍光性であれば通常の蛍光顕微鏡で簡単に検出することができる。酵素分子の濃度が十分に低いとき (酵素分子/チャンバー < 0.1)、同時に二個の酵素分子が閉じ込められる確率は殆ど無視でき、チャンバーの蛍光

強度は実質的に「0」と「1」の二値化 (デジタル化) する。このとき「1」のチャンバーの数を数えて酵素分子の濃度を決定する方法を「デジタル計数法」と呼ぶ。



この酵素のデジタル計数法を ELISA 法に応用したのがデジタル ELISA である。サンドイッチ法 ELISA における標識用抗体に酵素

(β ガラクトシダーゼもしくはアルカリフォスファターゼ) を接続させるだけ実施できる。我々の原著論文では、前立腺腫瘍マーカーである PSA を 1 分子単位で定量計測する 1 分子デジタル ELISA 法を確立し、通常の ELISA 法と比較して 100 万倍の高感度化に成功した(4)。現在、他のターゲット分子に対する 1 分子デジタル ELISA 法も検討しているが、高感度化には通常の ELISA 法と同様に標識抗体の非特異的結合の低減が重要であることが分かってきた。また、この手法をより実用的にするためには、ハイスループット化が必要である。そこで、市販の 96 穴プレートを変改したデバイスと自動分注装置を用いたハイスループットな多検体計測法にも取り組んでいる。また、上述の研究開発と平行して CMOS イメージングセンサーを統合化した持ち運び可能な 1 分子計測システムの開発にも取り組んでいる。計測に時間がかかるが、既に 1 分子検出できるシステムのプロトタイプ開発に成功した。本発表では、これらの成果と、これらの技術が生み出すイノベーションの可能性について議論したい。

1. 野地博行. (2014) 「1 分子ナノバイオ計測」(化学フロンティアシリーズ) , 化学同人
2. 野地博行. (2015) 1 分子生物学の 30 年. *パリティ* **30**, 3-5
3. 野地博行. (2015) デジタルバイオ. *生物物理* 印刷中
4. Kim, S. H., Iwai, S., Araki, S., Sakakihara, S., Iino, R., and Noji, H. (2012) Large-scale femtoliter droplet array for digital counting of single biomolecules. *Lab on a chip* **12**, 4986-4991