

二国間交流事業 共同研究報告書

令和5年4月5日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]
九州大学・システム情報科学研究所
[職・氏名]
准教授・中野道彦
[課題番号]
JPJSBP 120209201

1. 事業名 相手国: タイ (振興会対応機関: NRCT) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) 誘電泳動と電界破壊を用いたマラリア原虫の電気的検出法

(英文) Electrical detection of malaria parasite utilizing dielectrophoresis and electrical disruption

3. 共同研究実施期間 2020年4月1日～2023年3月31日 (3 年 0 ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Chulalongkorn University, Professor, Boonchai Tacha-amnart

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		4,750,000 円
内訳	1年度目執行経費	2,375,000 円
	2年度目執行経費	2,375,000 円
	3年度目執行経費	- 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	6 名
相手国側参加者等	2 名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目			0
2年度目			0
3年度目	2		2(2)

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣: 委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入: 相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

本研究は、両国参加者のそれぞれが有する技術を融合して、これまでに無い簡便・安価・高感度なマラリア症の検出手法を実現することを目的とした。その手法は、[1]感染赤血球の分離・捕集、[2]捕集赤血球を破壊しマラリア原虫を抽出、[3]抽出マラリア原虫の検出、[4]マラリア原虫から DNA 抽出、[5]抽出 DNA の高感度検出、の 5 つの要素技術からなっており、本研究期間でこれらを確立することを目標とした。

当初計画において、2020 年度および 2021 年度に互いに相手国に渡航する予定であったが、新型コロナウイルス感染症の流行により、それを断念せざる得なかった。渡航ができなかった期間は、おおむね 2〜3 ヶ月おきにオンラインによる研究打ち合わせを行なった。

オンラインによる研究打ち合わせを十分に行なっていたが、実際の実験装置等を用いながらの研究打ち合わせや共同実験が必要であると判断し、研究期間を 1 年間延長した。そして、次に示す渡航を行なった。

1. 日本側研究者(中野、中林) → タイ側研究者(チュラロンコン大学)

期間:2022 年 11 月 5 日〜2022 年 11 月 11 日

実施内容:研究打ち合わせ。共同実験を行い、実験方法の改善を行なった。訪問大学の学生、研究者向けにセミナーを行なった。タイ側研究者の研究室の学生に対して、研究指導を行なった。

2. タイ側研究者(Boonchai Tacha-amnart、Nitipong Panklang) → 日本側研究者(九州大学)

期間:2023 年 1 月 15 日〜2023 年 1 月 21 日

実施内容:研究打ち合わせ。共同実験を行い、実験方法の改善を行なった。訪問大学の学生、研究者向けにセミナーを行なった。日本側研究者の研究室の学生に対して、研究指導を行なった。

本研究によって得られた成果については、次項目以降に示す。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

簡便・安価・高感度なマラリア症の検出手法の実現を目的に、次の要素技術について検討した。

[1]感染赤血球の分離・捕集

実験には、マラリア感染血液を用いた。この血液試料はタイ側研究者でのみ利用可能であったので、以下の実験はタイ側研究者が主として行なった。誘電泳動を用いた感染赤血球の分離・捕集技術を試みた。そのために、マラリア原虫に感染した赤血球と非感染赤血球の誘電泳動特性について、調べた。その結果、その二つの赤血球の間に誘電泳動特性(クロスオーバー周波数)に違いがあることが示された。次に、その違いを利用して感染・非感染赤血球の誘電泳動による分離・濃縮を試みた。日本側研究者とタイ側研究者で共同して考案し、日本側研究者が作製した微細電極を用いて、タイ側研究者が感染／非感染赤血球の分離を試みたところ、1:1,000,000 の比率であったものを 3,000 倍以上に濃縮できることが示された。

[2]捕集赤血球を破壊しマラリア原虫を抽出

上記の実験により、感染赤血球を選択的に微細電極に捕集できることが示された。その捕集された感染赤血球に対して矩形波電圧を印加することで、マラリア原虫が感染赤血球から放出されることが示された。

[3]抽出マラリア原虫の検出

感染赤血球を捕集した電極のさらに下流に別の電極を設置することで、感染赤血球から放出され

たマラリア原虫を誘電泳動捕集できることが示された。現在、この捕集を日本側研究者の技術である DEPIM (誘電泳動インピーダンス計測法) で検出することを試みている。

[4]マラリア原虫から DNA 抽出

感染赤血球と同様に、誘電泳動捕集したマラリア原虫に対して、矩形波電圧を印加したところ、マラリア原虫が破壊される様子が観察された。現在、その破壊後の溶液にマラリア原虫の DNA が含まれているかどうかを検討中である。

[5]抽出 DNA の高感度検出

日本側研究者の技術である微粒子誘電泳動 DNA 検出法を用いて、マラリア原虫 DNA が検出可能かどうかを試みた。検出試料にマラリア原虫遺伝子を組み込んだ組換えプラスミド DNA を用いた。PCR (polymerase chain reaction) あるいは RPA (recombinase polymerase amplification) を用いて DNA を増幅したのち、その増幅 DNA を微粒子誘電泳動 DNA 検出法で検出した。その結果、1,000 コピーの DNA を 45 分で検出できることが示された。また、[4]にて抽出した DNA を簡便に増幅・検出するための簡易検出装置のプロトタイプを作製した。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

日本側、タイ側研究者共に誘電泳動現象を専門とするが、日本側研究者は DEPIM および DNA 検出を得意とし、タイ側研究者は誘電泳動捕集した細菌の破壊現象を得意とする。前項の[1]～[5]を実施するためには、両者の協力が必要で、特に、[1]～[4]には互いの協力がなくても成果を挙げることができなかった。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

相手国であるタイを含めて、世界ではマラリア感染症はいまだに脅威である。2021 年の感染は 2 億 4700 万件で、2020 年が 2 億 4500 万件で 2019 年が 2 億 3200 万件であり、高い水準のまま維持されている。マラリア感染に対するワクチンは未だに一般に普及するレベルで実用化しておらず、感染後に迅速に対処することが感染拡大の防止及び有効な治療のためには必要である。マラリアの検出には、顕微鏡観察による方法と PCR による核酸増幅検査とがある。核酸増幅検査は高感度かつ正確な検査法であるが、専門知識を持った人材や特別な装置が必要である。本研究は、このような状況を改善するために、日本側研究者が有する核酸増幅検査を簡便かつ安価に実施する方法と、タイ側研究者が有する細胞破壊技術を用いて、安価かつ簡便なマラリア検査法を開発することを目的に行なった。本共同研究期間では、その方法を実現するための要素技術の確立を目的に共同研究を行なった。未達成の項目がいくつかあるが、見通しは立っており、本法の実現可能性は高いと考える。

相手国および世界的なマラリア感染症に対して新たな検出法を実現するための土台となる部分は構築できたと考える。今後さらに共同研究を進めることで、この手法を実現させる。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

日本側は 40 歳以下の大学教員が 1 名、大学院生が 4 名参加した。タイ側は若手研究者が 1 名参加した。オ

ンラインによる研究打ち合わせに参加するなど国際共同研究の経験を得ることができた。日本側からは、研究代表者と大学院生が相手国に渡航した。その際は、大学院生は自らの研究について英語で発表し、ディスカッションを行なった。また、研究代表者と大学院生は、相手国の研究者とその指導学生と研究ディスカッションおよび実験を行なった。お互いに英語を母語としないが、両国の大学院生にとって大きな経験と今後の研究への刺激となったようである。また、相手国研究者が日本に渡航したときには、本研究に参加していない大学院生とも研究ディスカッションを行った。また、研究室を限定しないセミナーも実施した。英語によるディスカッションや直接指導されることは、日本側学生にとっても大きな経験となった。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

相手国共同研究者と密な関係を構築できた。本研究の最終的な目標であるマラリア検査法の実現に向けて、今後も共同研究を続ける予定である。また、研究代表者が相手国に渡航した際にセミナー(研究紹介)を行なったが、それに参加した多くの研究者から様々な打診があった。それらの研究者からは、さらにディスカッションをして、共同研究を立ち上げるべく準備を進める予定である。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞など