

遠心 PCR による腸内細菌迅速計測の応用検討

Application of centrifugal thermal convection PCR technology to rapid detection of intestinal bacteria

阪大 OTRI¹, 株式会社ニッポンジーン² °齋藤 真人¹, Darcy Garza Miyazato¹, 山田 雪絵¹, 國谷亮太², 峯岸恭孝²

Osaka Univ.¹, NIPPON GENE CO., LTD.², °Masato Saito¹, Darcy Garza Miyazato¹, Yukie Yamada¹, Ryota Kokutani², Yasutaka Minegishi²

E-mail: masato.saito.eng@osaka-u.ac.jp

人の腸管には約 1,000 種類以上の 40 兆個にもなる腸内細菌が生息し、そのバランスが人の疾患や健康に深く関与していることが知られるようになってきた。現在も精力的な研究により日々新たな知見が得られてきており、今後、自身の腸内細菌の状態を知ることで食生活や生活習慣の改善を図ることで健康維持・増進が可能になるのではないかと考えられ、これにより QOL 向上や、労働生産性の向上、長期的には社会保障費の抑制、健康寿命の延伸による労働力確保や医療介護費抑制といった高齢化社会が抱える社会課題への貢献も期待される。一方、自身の腸内細菌の状態はどうなっているかを知らず、発酵食品を日々手探りで摂り入れているというのが実態であり、腸内環境の改善にヨーグルトが効いているという実感がない人は約 60%にのぼる (TCP マーケティングリサーチ 2016)。また、標準的で網羅的な計測手法である NGS 解析技術があるが、時間・コストともに一般の方々が容易に利用するには難しいのが実情である。そこで演者らは、独自技術である遠心熱対流 PCR 技術について、簡便迅速な腸内細菌計測が可能か適用性を検討した。遠心熱対流 PCR 技術については、PCR に必要な 95°C と 60°C の熱源に円環状マイクロ流路を配置し、温調回転同時制御によって流路内に熱対流生成とその流速を制御する手法で、例えば、ヒト糞便検体中の薬剤耐性遺伝子 (blaIMP-6) の迅速検出などを示している【Anal. Chem. 89, 12797, 2017、Sensors 21, 1225, 2021】。これまでに、内径 5mm 外形 6mm 幅 500 μ m 深さ 300 μ m の環状マイクロ流路を 12 個有するディスク状チップおよび温調回転と蛍光リアルタイム計測が可能な装置を開発している。今回、腸管に対する食物繊維、酪酸産生菌、酪酸および免疫との関係や、ビフィズス菌の腸内環境改善作用など生体との関係が比較的明確になっていることから、計測対象として、ビフィズス菌属、乳酸菌属、Faecalibacterium prausnitzii を選択し、これにバクテリア全体 (母数算出のため) の 16s rRNA をターゲットとした 4 種のプライマープローブを作製し、計測評価を行った。それぞれのターゲットについてあらかじめ検量特性を作成した。研究協力者より提供いただいた便検体に簡易な DNA 抽出処理を施した後、遠心 PCR 計測を行い、菌比率を算出した。計測結果について、NGS 結果と比較したところ、ビフィズス菌属では 0.918、Faecalibacterium prausnitzii では 0.796 の高い相関を得ることができた。よって、遠心 PCR デバイスによる腸内細菌計測が可能であることを確かめられたことから、今後は、食餌による菌比率改善への取り組みや、食や健康意識向上へのツールとなることを目指していく予定である。