

遺伝子関連装置技術

—平成16年度特許出願技術動向 調査報告書より—

特許審査第三部審査調査室

1. はじめに

30億もの塩基対を有するヒトゲノムの全配列を解読するという壮大なプロジェクトは、これが提唱された80年代初期には数十年もの期間と莫大な労力・資金を必要とすると認識されていた。しかし、アメリカ、イギリス、日本、フランス、ドイツ、中国の6カ国の研究者達が中心となって国際的な協力体制を調えゲノム配列の解読に本格的に取り組むことにより、2003年4月14日に解読完了の宣言を迎えることができた。このように当初の予想を遥かに上回る速度で解読を完了させることができたのは、全自動DNAシーケンサーをはじめとする高性能な構造解析装置の寄与するところが大きい。

他方、ヒトゲノムの解読を完了したといっても、これを真に産業に資する成果とするためには、遺伝子の機能を解明して医薬・医療・健康・食品・農業・環境などの応用に有用な遺伝子を特定することが必要である。そして、そのために発現解析・SNPs解析・機能解析などの研究が精力的に進められている。

このような先端的研究の中で、遺伝子関連装置は主に遺伝子の機能を解明し、有用な遺伝子を特定し産業に有効に活用するための研究支援ツールとして存在する。ゲノム解析や遺伝子応用研究の発展に伴い、遺伝子関連装置の分野においても活発な研究開発競争が行われている。

本調査においては、このような遺伝子関連装置技術に注目し、その中から遺伝子抽出技術、遺伝子増幅技術、遺伝子構造解析技術、遺伝子機能解析技術、共通基盤技術の各技術を対象として特許出願を中心に技術動向調査を実施した。

2. 遺伝子関連装置技術の概要

(1) 試料調製・分離・抽出装置

遺伝子解析を行う際に、培地、ゲル、組織等から解析するために試料を切り出す工程と、試料からDNA、RNAのみを抽出し、共存成分から分離・精製する工程に係る技術である。具体的には、コロニーピッカー、マイクロダイセクションなどにより目的試料を取り出す工程、細胞、組織、血液等を破碎する工程、DNA、RNAを結合している蛋白質から分離する工程、変性剤による可溶性、プロテアーゼ処理、浮遊物の除去、DNA、RNAを沈殿等により回収する工程等を挙げることができる。

取扱い時のコンタミネーションや、破碎時のDNA、RNAの断片化、RNase (RNA分解酵素) によるRNAの分解など注意すべき事項が多い。有機溶媒の使用など安全衛生面での問題もある。

(2) 増幅装置 (技術)

DNA、RNAの特定部分を、酵素活性を利用して複製する工程に係る技術である。増幅技術としては、1986年にシータス社のK. Mullisらにより開発されノーベル賞受賞理由となったPolymerase Chain Reaction法 (PCR法) が一般的である。

PCR法は、複製対象たるDNA、当該DNAの相補的核酸断片 (プライマー)、DNAの構成単位である4種のデオキシヌクレオチド三リン酸 (dNTP)、個々のdNTPを結合させてDNAとする酵素であるDNAポリメラーゼの混合物

に対し、加熱と冷却を繰り返すことにより、二本鎖の解離、解離した一本鎖へのプライマーの付着（ハイブリダイゼーション）、ハイブリダイズしたプライマーの伸長による二本鎖の復元、という一連の工程を繰り返すことで、目的のDNA配列を指数関数的に増幅させる技術である。

従来のPCR法では増幅量を制御することは容易でなかったが、現在では、mRNAの発現量から遺伝子の機能を

解析して疾患関連遺伝子を同定するなど、機能解析等への応用のために遺伝子の量的情報が重要とされているため、定量性を重視したリアルタイムPCR法が注目されている。

また、PCR法とは原理が異なる遺伝子増幅技術も開発されており、このような技術には一定温度で反応が進行する等、特異性、簡便性、操作性の向上を目指したものが多い。

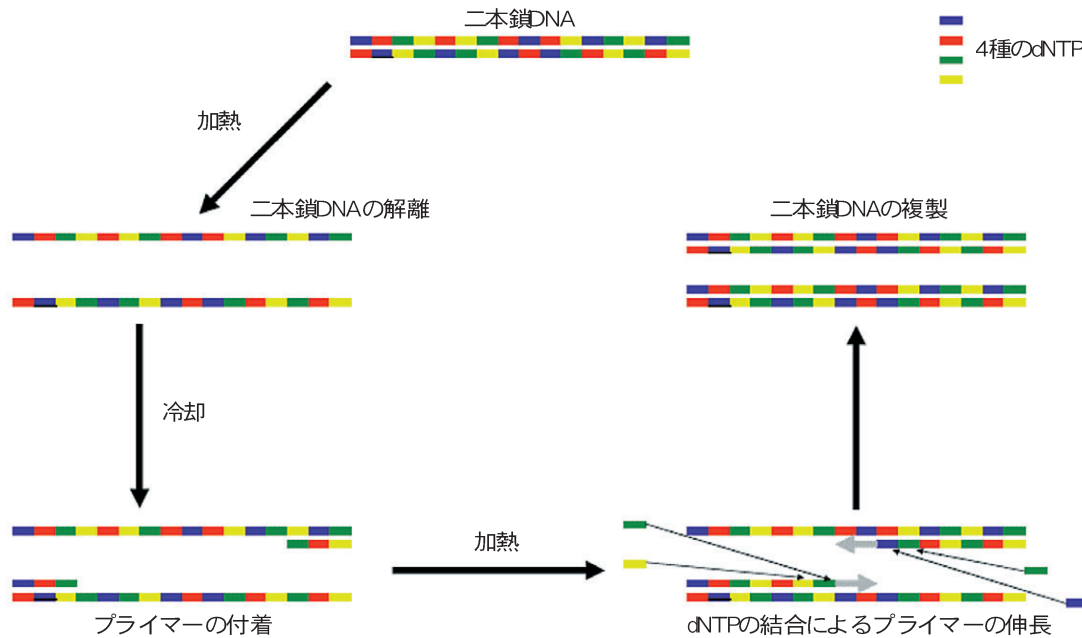


図1 PCR法の原理

(3) 構造解析装置

DNA、RNAの塩基配列を決定する工程であり、種々のシーケンサーが開発、利用されている。現在のシーケンサーのほとんどは、Sanger法を応用したものである。

Sanger法は、二本鎖の解離、解離した一本鎖へのプライマーのハイブリダイゼーション、ハイブリダイズしたプライマーの伸長による二本鎖の合成という反応において、プライマーの伸長の材料として通常の4種のデオキシヌクレオチド三リン酸（dNTP）のほかに少量のジデオキシヌクレオチド三リン酸（ddNTP）を添加する点に特徴がある。プライマー伸長の際にdNTPではなくddNTPが結合するとそこでプライマーの伸長が停止するため、少量のddNTPを添加した場合には様々な長さのDNA断片が合成される。これを1構成単位の差をも分離

可能な分解能を有する電気泳動装置にかけて分離し、ddNTPに対応するdNTPの配列を特定する。これを4種のddNTPについて行い、DNA配列を明らかにする。

ほとんどのシーケンサーがSanger法を応用したものであるのが、これはSanger法が自動化に適した手法であることによる。電気泳動から塩基配列決定までを自動に行うDNAシーケンサーとして、4種の異なる蛍光色素で標識したDNAをプライマーとしてSanger法で長さの異なるジデオキシ鎖を合成し、電気泳動パターンをレーザーで検出するものなどもある。

(4) 発現解析・SNPs解析・機能解析装置

生物が持つ遺伝子の構造が明らかにされてきた現在、その成果を利用し、生命現象を解明し産業に結びつける

ことがこれからの課題である。そして、それには遺伝子の機能を解析することが必須であり、そのためには細胞内での遺伝子の発現量を解析することや、多型 (SNPs) を解析することが必要となる。

これらの解析は、例えば、正常組織と病変組織の比較、疾患関連遺伝子等のバイオマーカーの探索、毒性試験、薬剤投与前後の遺伝子発現の変化による有効性評価等に応用することができる。

従来、発現解析の手法としては、ノーザンブロット法、ATAC-PCR法等が採用されていたが、細胞内のすべての遺伝子を一度にモニターするためにはDNAマイクロアレイが非常に有用であり、近年DNAマイクロアレイの開発が活発に行われている。

DNAマイクロアレイとは、ガラスやシリコン製の小基盤上に核酸を高密度に配置したものである。ターゲットをこの核酸にハイブリダイゼーションさせることにより、ハイブリッド形成の強度を指標にして基盤上の核酸と相補的な遺伝子の転写量を測定することができる。アフィメトリクス社の研究者が開発した、フォトリソグラフィ技術を応用した高密度コンビナトリアル・オリゴヌクレオチド合成技術によるDNAマイクロアレイと、スタンフォード大学の研究者が開発した、ガラス等の基板にcDNAをスポットするDNAマイクロアレイが代表的な例であり、これらの技術が登場して高密度化、小型化が達成された。

また、ガラス基板上に数十～数百 μm の微細な流路を形成し、その流路内で混合、反応、分離、検出などを行うことを可能にしたLab-On-a-Chip (Micro Total Analysis Systemとも呼ばれる。) に関して、ライフサイエンス分野をもターゲットにした研究開発が行われている。これにより極微量の試料を用いた小型・高速解析システムが実現した。

さらに、レーザー走査共焦点顕微鏡、蛍光相関分光法等の光学技術を用いて遺伝子の細胞内におけるダイナミクスをリアルタイムに観察するという技術も開発され、1分子計測技術として脚光を浴びている。これは我が国の国家プロジェクトにも取り上げられている注目分野である。また、近年注目されているRNAi (RNA干渉) は、機能解析の手段としての解析ツールの役割だけでなく、遺伝子治療や遺伝子医薬品としての可能性を有する手法である。

(5) 共通基盤機器

種々の工程で用いられる共通基盤機器として、「ロボット」、「合成・製造装置」、「検出装置」に焦点をあてた。

ロボットに関しては、高速スクリーニングに対応するために種々の工程に適合した装置が開発されている。例えばオートサンプラー、コロニーピッカー、サンプリングから反応、検出までの個別の装置を組み合わせることで多段の工程を自動に行うワークステーション等がある。現在のバイオ研究はロボット技術なしでは対応できない状況にある。

合成・製造装置は、DNAマイクロアレイや遺伝子診断、PCR等において用いられるプローブやプライマーの提供を行う装置であり、DNA合成やRNA合成といった化学合成技術に支えられている。また、DNAマイクロアレイも高密度化が進展し、専用のスポッター、アレイヤーと言われる製造装置が必要である。

検出装置は、目的遺伝子を検出するために用いられる標識 (主として蛍光色素) を検出するものであり、レーザーキャニング検出装置等の画像読み取り装置及びその莫大なデータを解析するデータ解析装置から構成される。

3. 遺伝子関連装置技術の国内市場概況

構造解析に関しては米国が圧倒的に優位である。特にDNAシーケンサーでは、アプライド・バイオシステムズ社のシェアは著しく高い。背景には、セレーラ・ジェノミクス社がアプライド・バイオシステムズ社の装置を大量に導入し、ヒトゲノムの高速解析を行い脚光を浴びたことによるブランドイメージの定着がある。

DNAマイクロアレイについても、現状ではコストよりも機能重視の傾向にあり、合成法を採用するアフィメトリクス社の評価が高く、大きなシェアを確保している。DNA抽出装置は日本企業が健闘しており、輸出にも実績がある。

特定部品では、例えば、検出装置に欠かせない光電子増倍管は、浜松ホトニクス社が国内でほぼ10割、世界でも6割のシェアを確保しており、温度・圧力・pH・濃度などの各種モニタリング用のセンサーでは、キーエンス、ローム、村田製作所、京セラなどが参入している。

4. 遺伝子関連装置技術の研究開発動向

1990年～2003年の論文発表状況を、5技術分野について著者所属機関の国籍別に解析した。構造解析装置では

欧州が38%で首位であるが、他の4分野では米国が首位である。遺伝子増幅装置・技術では2000年以降、2002年を除き、欧州が米国を抜いている。

日本は構造解析装置が13%、発現解析・SNPs解析・機能解析装置が10%で5分野とも欧米に比較して低いシェアである。

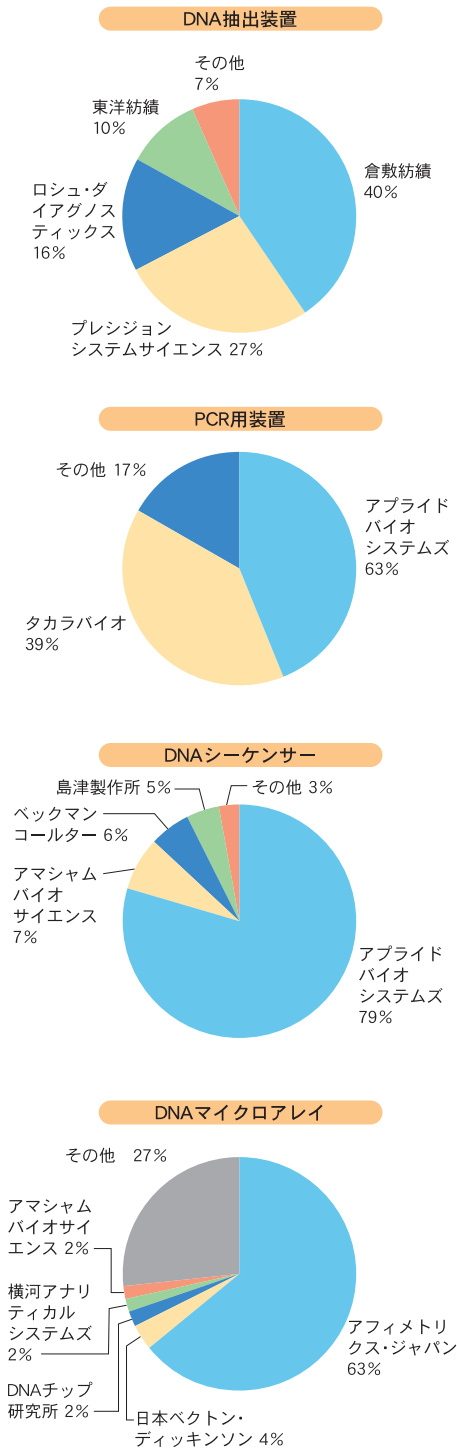


図2 主な遺伝子関連装置の国内販売シェア (2003年実績)

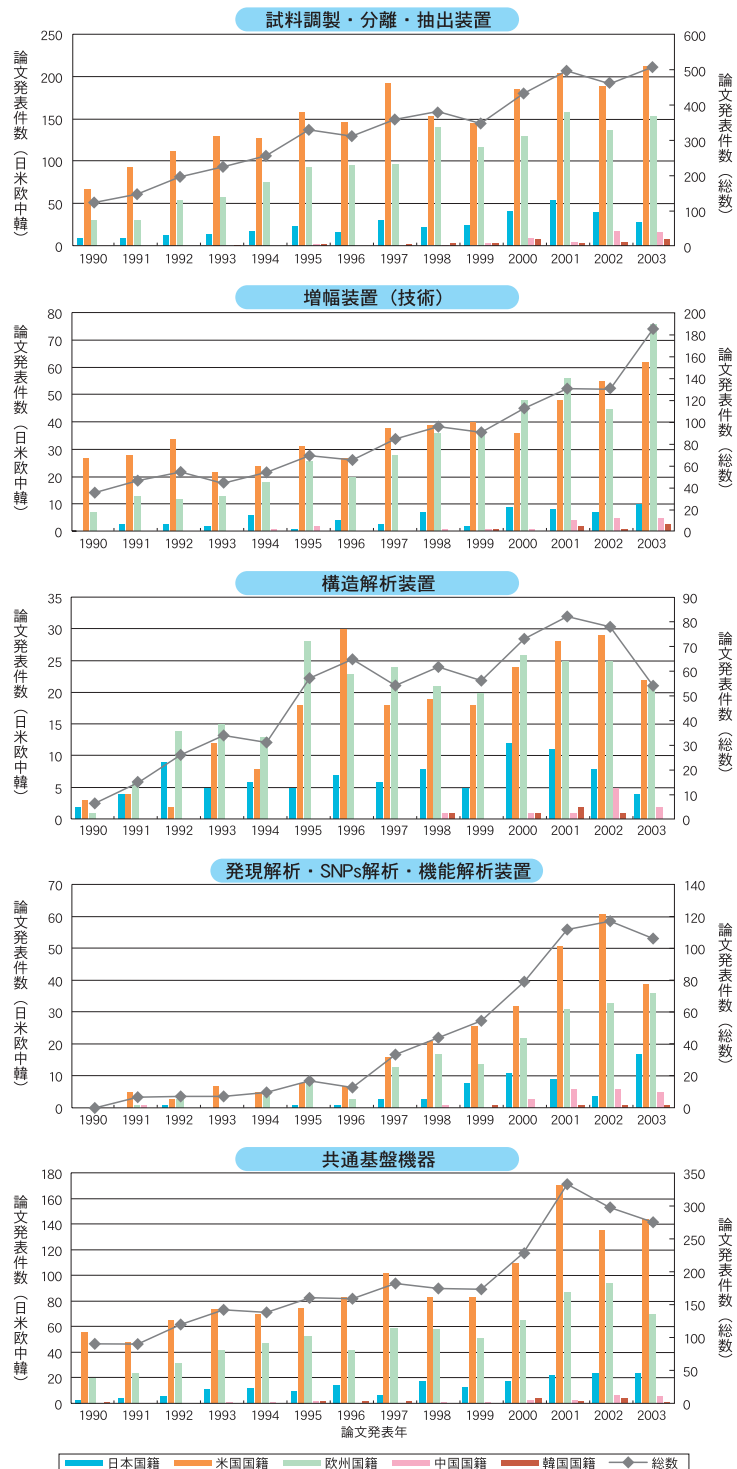


図3 遺伝子関連装置個別技術の研究機関国別の論文発表件数推移とシェア

5. 遺伝子関連装置技術の特許出願動向

(1) 技術分野別出願動向

1990年～2002年に世界に出願された遺伝子関連装置技術の解析工程の5技術分野では、「構造解析装置」が39%を占める。また、「発現解析・SNPs解析・機能解析装置」は増加傾向にある。

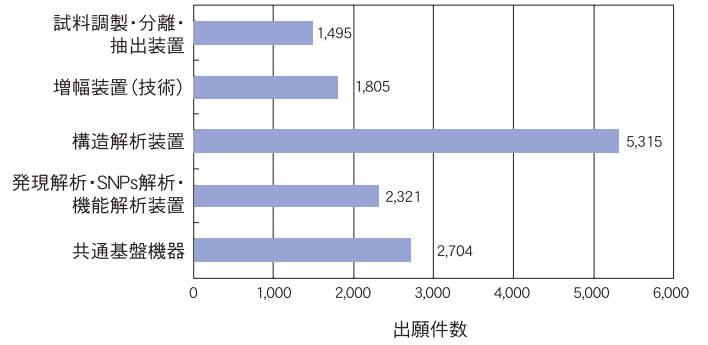


図4 遺伝子関連装置技術分野別出願件数（世界への出願）

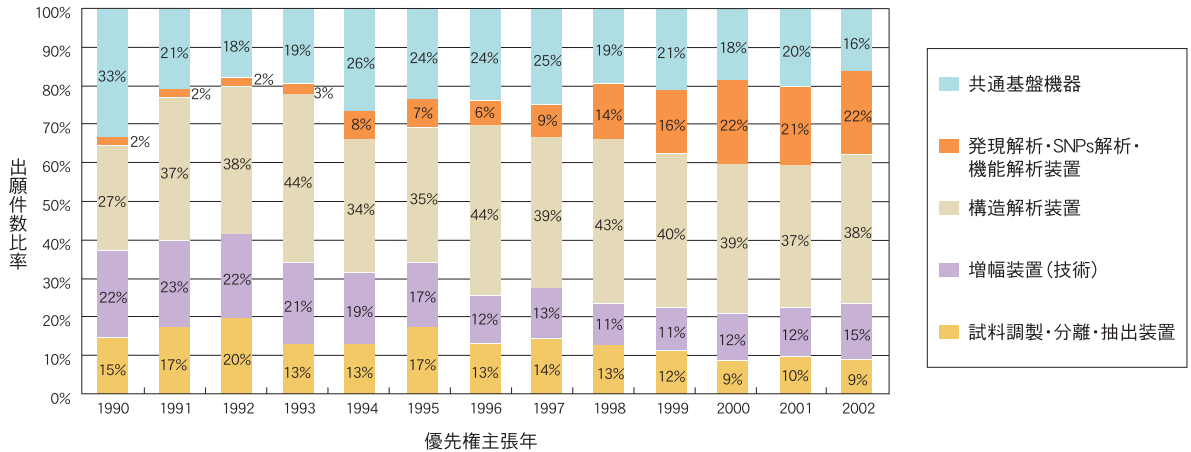


図5 遺伝子関連装置技術分野別出願シェアの年別推移（世界への出願）

(2) 出願人国籍別出願動向

日米欧中韓の出願人国籍別の出願状況を見ると、1990年では「試料調製・分離・精製」において日本が優位であったが、それ以外の分野では米国が優位である。

2002年ではすべての分野において米国が優位であり、日欧の出願シェアは米国の半分程度である。累積では米国が60%前後を占める。日本は、累積では13%～16%であるが、2002年には20%強に増えている。

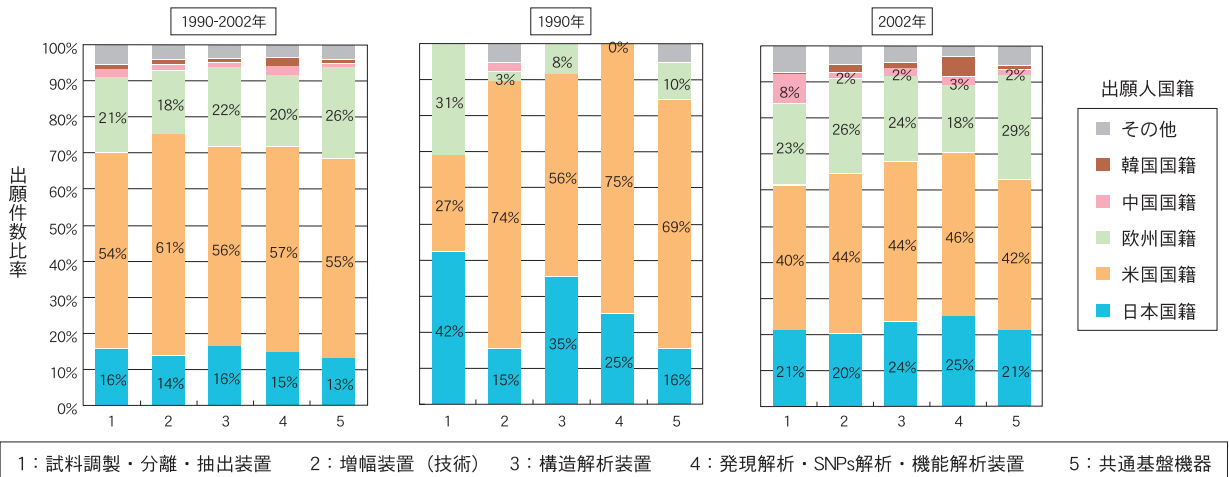


図6 遺伝子関連装置技術の分野別日米欧中韓出願人国籍別出願件数比率（世界への出願）

(3) 出願人属性別出願動向（技術分野別）

技術分野別上位30出願人の属性では増幅装置（技術）、構造解析装置、共通基盤機器の3技術分野で大手企業の

比率が高い。発現解析・SNPs解析・機能解析はベンチャー企業の比率が高くアフィメトリクス社、エピジェノミクス社等のベンチャー企業が上位30の中に11社含まれている。

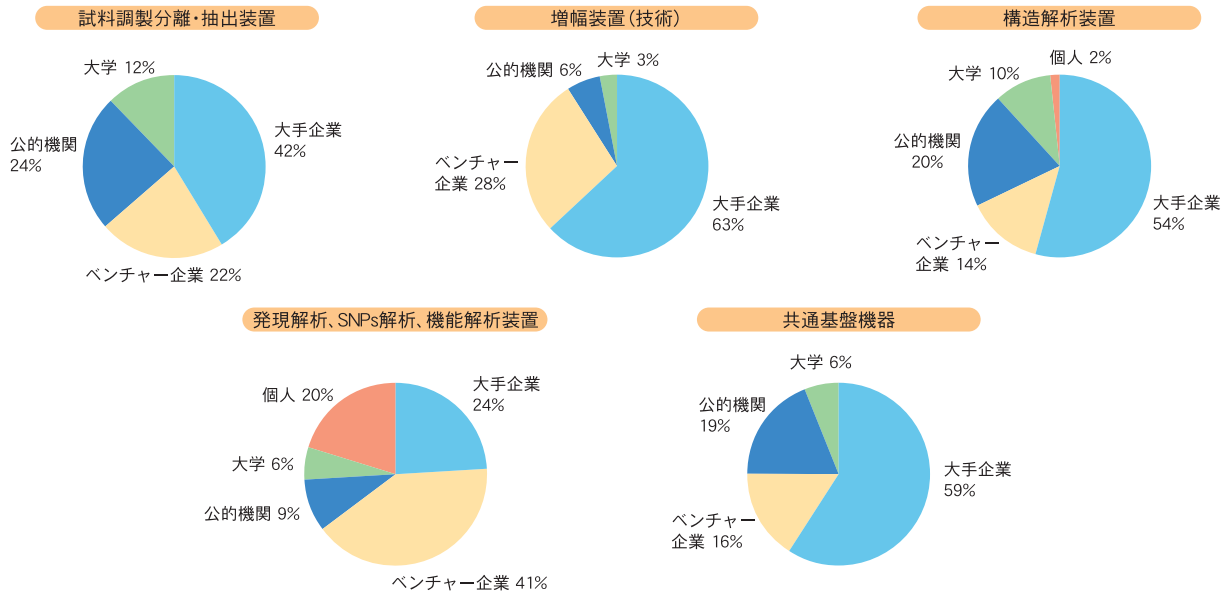


図7 遺伝子関連装置の技術分野別の上位出願人の属性（世界への出願上位30出願人）

(4) 出願人属性別出願動向（出願人国籍別）

世界への出願上位30、世界への出願の中から米国出願人上位30と欧州出願人上位30を対象に属性・業種を解析した。また、日本については、日本に出願した日本の

全出願人を同様に解析した。

日本では、大手企業67%、公的機関15%が上位で、ベンチャー企業6%、大学2%による出願は少ない。業種では日本は欧米と異なり化学・機器関連企業が中心である。

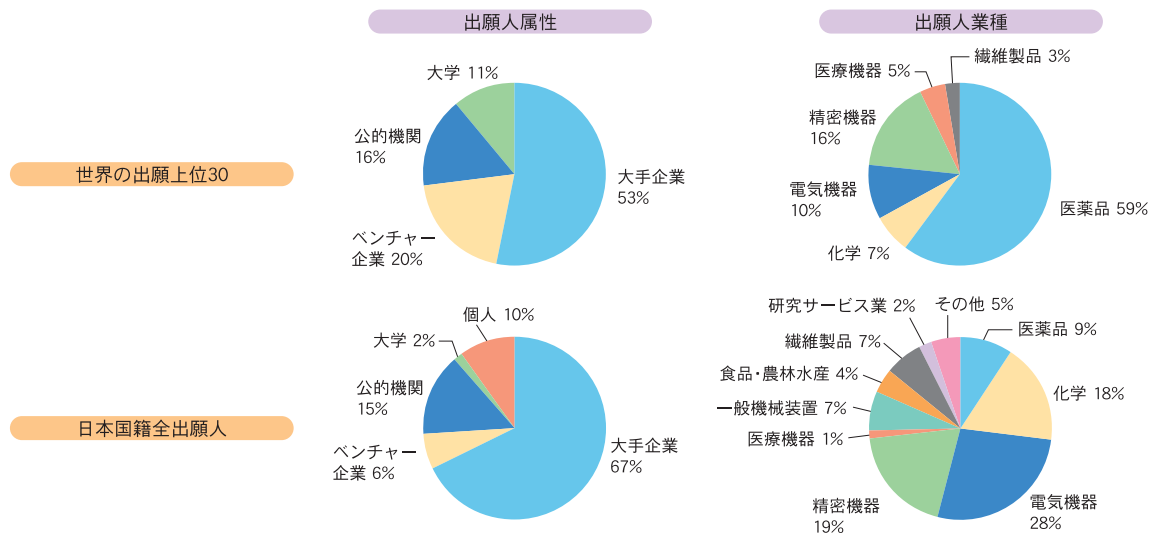


図8-1 遺伝子関連装置技術の主要出願人の属性と業種

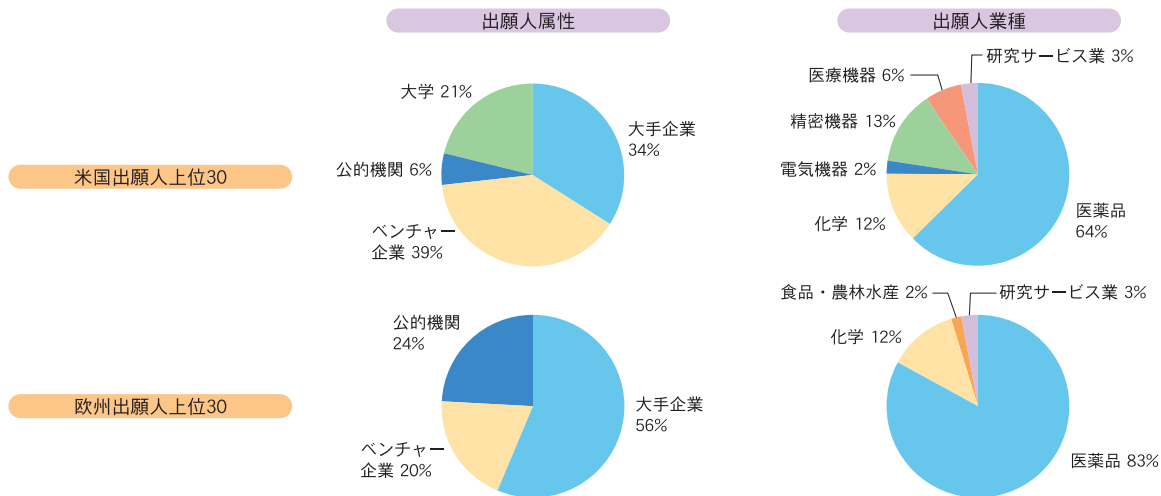


図8-2 遺伝子関連装置技術の主要出願人の属性と業種（続き）

(5) 遺伝子関連装置技術の主要出願人

1990年～2002年に世界に出願された遺伝子関連装置技術について上位30の出願人を表に示す。上位30の内訳は米国が14、日本、欧州が各8である。最も出願件数

の多かったのは米国のCALIFORNIA大学、第2位は日立製作所、第3位は米国のAPPLERA社である。第3位のAPPLERA社にはグループ企業としてAPPLIED BIOSYSTEMS社が含まれている。

表1 遺伝子関連装置技術の出願人ランキング（世界への出願上位30）

順位	出願人	国籍	出願人種別	業種	出願件数
1	UNIV CALIFORNIA	アメリカ	大学		181
2	(株) 日立製作所	日本	大手企業	電気機器	178
3	APPLERA CORP	アメリカ	大手企業	医薬品	151
4	ISIS PHARM INC	アメリカ	ベンチャー企業	医薬品	135
4	PERKIN ELMER CO	アメリカ	大手企業	精密機器	135
6	(株) 島津製作所	日本	大手企業	精密機器	111
7	BAYER AG	ドイツ	大手企業	医薬品	105
8	HOFFMANN LA ROCHE AG	スイス	大手企業	医薬品	99
9	AFFYMETRIX INC	アメリカ	ベンチャー企業	医薬品	96
10	(独) 科学技術振興機構	日本	公的機関		92
11	AMERSHAM (GE)	イギリス	大手企業	医薬品	91
12	BECTON DICKINSON & CO	アメリカ	大手企業	医療機器	84
12	EPGENOMICS AG	ドイツ	ベンチャー企業	医薬品	84
14	(独) 理化学研究所	日本	公的機関		83
15	富士写真フイルム (株)	日本	大手企業	化学	76
16	US DEPT HEALTH & HUMAN SERVICES	アメリカ	公的機関		67
17	CETUS CORP	アメリカ	ベンチャー企業	医薬品	66
17	GLAXO SMITHKLINE	イギリス	大手企業	医薬品	66
19	INCYTE CORP	アメリカ	ベンチャー企業	医薬品	64
20	MILLENNIUM PHARM INC	アメリカ	ベンチャー企業	医薬品	56
21	CENT NAT RECH SQ (CNRS)	フランス	公的機関		55
22	(独) 産業技術総合研究所	日本	公的機関		53
22	オリンパス (株)	日本	大手企業	精密機器	53
22	MAX PLANCK INST	ドイツ	公的機関		53
25	INVITROGEN CORP	アメリカ	大手企業	化学	50
25	UNIV TEXAS	アメリカ	大学		50
27	HARVARD UNIV	アメリカ	大学		48
27	東洋紡績 (株)	日本	大手企業	繊維製品	48
27	ABBOTT LAB	アメリカ	大手企業	医薬品	48
30	SANOFI AVENTIS	フランス	大手企業	医薬品	46

7. 注目遺伝子関連装置技術の技術開発動向

(1) \$1,000遺伝子構造解析

2004年に、米国国立ヒトゲノム研究所（NHGR）は遺伝子構造解析のコストを下げるために革新的な解析技術の研究開発プロジェクトを立ち上げた。5ヵ年計画で、哺乳類の遺伝子をまず\$100,000のコストで解析することを最初の目標とし、その後、\$1,000で解析することを目指すものである。安価なコストで迅速に解析が可能になることで、バイオメディカル研究や医療の在り方を根本的に変えることが期待されている。

\$100,000と\$1,000という大きな隔たりのある目標を達成するためには異なるアプローチが必要であるとの考えから、2つの開発プログラムが同時にスタートされている。

(2) テーラーメイド医療

ヒトの集団は多種多様な遺伝的背景を持つ多数の個人から成り立っており、医薬品に対してもさまざまな異なった反応性を示す。個人差を考慮し、患者一人一人に適合した医療を、テーラーメイド医療と呼ぶ。

薬効や副作用の感受性の個人差は、主として2つの要因に支配されている。要因の1つは薬効成分分子と生体内標的分子との結合性で、その強弱は標的分子の構造に依存し、これは標的分子の遺伝子により支配されている。したがって遺伝子の相違（遺伝子多型）が標的分子の構造の差を生み、これが薬効の差となって現れる。もう1つの要因は、標的部位での薬効成分濃度であり、これは生体による薬物の代謝酵素やトランスポーターの活性に依存する。これらの代謝酵素やトランスポーターの活性も遺伝子多型に関係がある。

医薬品との関係で注目されているこのような遺伝子多型は、DNAの配列の1箇所の塩基配列が別な塩基に変わっている一塩基多型（single nucleotide polymorphisms; SNPs）である。

テーラーメイド医療は将来の医療の在り方のひとつを示すものであり、日本は1999年11月に開始されたミレニアム・プロジェクトの一環としてSNPs解析に関する国家プロジェクトを立ち上げた。また、このミレニアム・プロジェクトの後を受けて、文科省は2003年度より「テーラーメイド医療基盤整備プログラム」をスター

トさせた（5年間、予算規模200億円）。このプロジェクトの目的は、ヒト遺伝子の多型情報を利用してテーラーメイド医療を実現するために必要な基盤整備を行うものである。

このようにSNPsの解析が進み、テーラーメイド医療への動きが加速されている。経済産業省は新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）を通じ、多くの試料を自動的にSNPs解析の可能な形態とするための処理技術や、DNAチップ、質量分析法等を利用したSNPsを高速・安価・簡易に探索、解析する技術や機器開発に対する助成を行っている。

テーラーメイド医療のためのSNPs解析は、当面はDNAマイクロアレイの発展に大きく依存するものと推測される。

(3) 包括的システム

解析装置の発展により、当初の予想をはるかに上回る短期間でヒトゲノムの解読が終了したが、SNPs解析をはじめ、解読されたヒトゲノム情報などを真に産業に活用するには、ゲノムの機能を解析し、医療や産業に有用な遺伝子、蛋白質を見出すことに注力しなくてはならない。そのためには、医療や産業等に有用な遺伝子を特定するために網羅的解析を継続する必要がある。

そこで、遺伝子解析効率をより向上させる遺伝子解析ツールに対する需要が高まっている。効率向上のためにはいくつかの方向性が考えられるが、その中の1つとして、試料調製から計測そしてデータ処理まで一貫して進められる包括的システムの構築があり、これに対しさまざまなフェーズからの取り組みが行われている。

包括的システムの構築の大前提として所望の性能をコンパクトにまとめることが必要であり、Lab-On-a-Chipに代表される微細加工技術を応用したシステムの開発に注力がされている。

遺伝子解析装置は、現在網羅的解析研究などの研究用途として利用されているケースが多いが、今後は診断等の医療分野や、食品分野・環境モニタリング等に利用されることが期待されている。今後ますます重要となる遺伝子の機能解析や相互作用解析においても、コスト低減、研究ステップの短縮化は重要な要因と考えられる。

8. おわりに

現在は、遺伝子関連装置の分野では特許から見て米国が優位にあり、シーケンサー、DNAマイクロアレイなどの単機能解析ツールは海外企業に大きく市場を占められている状況である。

しかしながら、遺伝子関連装置技術の出願人上位をみると、日本は、日立製作所、島津製作所をはじめ、富士写真フイルム、オリンパス、東洋紡績などライフサイエンス関連の研究支援ツールや医療機器等の装置開発に実績を持つ企業が名を連ねており、新規な解析装置の開発・実用化には良好な基盤を有する。また、光電子増倍管、各種センサー等の装置の構成要素技術は世界に誇るものであり、マイクロ加工技術のような注目技術でも世界的水準にある。

さらに、先端的な研究を実施しているところでは新たなニーズが生まれるため、画期的な解析ツールの創出の可能性も高い。自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンターで開発している電子顕微鏡を用いた電子位相差顕微鏡法による塩基配列を解析する装置などがその例である。

こういった遺伝子解析装置の応用においては、実用化という点で新たな視点での高性能化が求められる。コスト、感度、処理能力、限定した検出遺伝子数、装置の使い勝手、自動化など、実用面でのニーズに即したシステムの開発が必要である。特に、データの信頼性・精度に関する関心が高まっており、具体的製品を実現するためには、機械・電気・材料等の工学分野の研究者との連携が有効である。

日本では、産学連携・技術移転等の体制が急速に整備されつつあるが、ゲノムデータを活かした応用展開による競争力基盤の形成のために、今後はよりいっそう国のバックアップが必要となるであろう。

