

## 学術研究助成金〔社会実装研究〕 成果報告書

令和 6 年 4 月 27 日

氏 名： 岡山 吉道

所属・資格： 医学部・准教授

実施研究所： 医学部・総合医学研究所

## 1 研究課題

重症アレルギー疾患患者に対する抗 IgE 抗体治療のコンパニオン診断薬の開発

## 2 研究期間

令和 2 年度 ～ 令和 3 年度

※令和 2 年度 ～ 令和 4 年度（※特例措置により上記期間を変更している場合記入すること）

## 3 研究組織

研究代表者及び研究分担者

	氏 名	部科校・資格	役割分担	
研 究 代 表 者	岡山吉道	医学部／准教授	総括, Free IgE 測定系の確立, 臨床データ収集と解析	
研 究 分 担 者	権 寧博	医学部／教授	喘息患者の臨床データ収集と解析, Free IgE 測定系の確立	
	木澤靖夫	薬学部／教授	Free IgE 測定系の確立	
	高橋恭子	生物資源科学部/教授	Free IgE 測定系の確立	
	丸岡秀一郎	医学部／准教授	喘息患者の臨床データ収集と解析	
	葉山惟大	医学部／准教授	蕁麻疹患者の臨床データ収集と解析	

連携組織

組 織 名	役 割 分 担
株式会社シノテスト	Free IgE 測定用酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) の最適化と ELISA の分析法バリデーションの評価

※ホームページ等での公開 (☑可・☐否) いずれかをチェックしてください。  
否の場合は、理由書を別途添付のこと。

#### 4 研究目的

研究の全体構想及び本研究の具体的な目的について記述してください。

我が国の全喘息患者（300 万人）のなかで高容量吸入ステロイド薬と長時間作用性 $\beta$ 刺激薬等の長期管理薬の併用でも効果不十分な難治性喘息は、約 34～35 万人いる。この患者の治療費は全喘息患者の治療費の七割を占めているため難治性喘息患者の医療費の削減が喫緊の課題である。難治性喘息患者の治療薬として使用されているヒト化抗 IgE 抗体（オマリズマブ）は、日本での売上額は 50 億円であり、患者の 1 カ月の医療費は 30 万円にもおよび、投与中の薬剤減量の目安となる biomarker は存在せず年余に渡り投与されている。従って副作用の頻度も上昇する。さらに、我が国で慢性特発性蕁麻疹と診断された患者の中で重症患者は 5～6 万人と推定されており、オマリズマブは重症患者に適応があり、その患者の約 7000 人に年余に渡り投与されており、その減薬方法は確立されていない。我が国にてオマリズマブは、既存薬で効果が不十分な重症花粉症の適応となり、その患者数は国内に 200～300 万人いると推定されている。

既に私達は、オマリズマブの投与中の薬剤減量の目安となる biomarker の測定系を実験室レベルで確立しており、今回企業との共同研究によってさらに感度が高く安定した測定系（コンパニオン診断薬）を確立させ、保険収載を目指すことを本研究課題の目的とする。

#### 5 実装研究の概要

本研究課題は、2 つの段階に分けて進めた。

第一段階：高感度 free IgE 測定系（コンパニオン診断薬）の確立；（株）シノテストからの助言

第二段階：free IgE 測定系のバリデーションの評価による実用化

すでに前年度までに第一段階および、第二段階も終了していた。前年度にオマリズマブ投与前の free IgE 値（pre-free IgE）と total IgE 値（pre-total IgE）とオマリズマブ治療効果の関連に関する解析に関して、症例数を増やして検討を行った。当該研究は、日本大学医学部附属板橋病院 臨床研究倫理審査委員会に臨床試験の申請をし、承諾を得た。Pre-free IgE は慢性特発性蕁麻疹に対するオマリズマブ治療の効果判定に有用であったが、pre-total IgE に勝るものではなかった。ヒト化抗 IgE 抗体（オマリズマブ）は、血清中の IgE を捕獲し、さらにマスト細胞や好塩基球の高親和性 IgE 受容体（Fc $\epsilon$ RI）に結合した IgE をも解離させ捕獲することを機序とした抗体療法である。オマリズマブに結合していない free の IgE がアレルギー疾患の病態に関与しているため、理論的には、この free の IgE を 0 にすればよい訳である。しかしながら、慢性特発性蕁麻疹においてはオマリズマブ治療によって free IgE が 0 に近づいても治療効果がない群が存在し、その慢性特発性蕁麻疹患者群の病態には IgE が関与していないことが示唆された。

重症喘息においては、オマリズマブによる治療後の血清 free IgE 値が 25 ng/mL 以下になる群がオマリズマブの治療効果がみられる群であることを私達も確認している。今後重症喘息および慢性特発性蕁麻疹患者においてオマリズマブによる治療効果と治療後の血清 free IgE（post-free-IgE）値との関係を明らかにすることによって重症喘息および慢性特発性蕁麻疹患者へのオマリズマブ投与量を減らすことができ、患者の負担額と副作用の頻度が減少できると思われる。

課題番号	社 20-1201
------	-----------

【様式 6 社会実装研究】

6 学会発表等

実装研究によって得られた研究成果の発表状況（学会発表，成果物展示，プレス発表等）について記入してください。  
要旨集の抜き刷り，発表原稿のコピー等及び発表したことがわかるものを添付してください。

発表者名	学会，発表会名等	発表テーマ	発表年月
Toyoshima S, Sakamoto- Sasaki T, Kurosawa Y, Hayama K, Matsuda A, Watanabe Y, Terui T, Gon Y, Matsumoto K, Okayama Y	JSA/WAO XXVII Allergy Congress (WAC 2020) conjoint with the APAPARI 2020 Congress	miR103a-3p in extracellular vesicles derived from human mast cells following aggregation of FcεRI enhances IL-5 production from IL-33-stimulated type2 innate lymphoid cells via PRMT5.	2020.9.17
Yamada S, Maruoka S, Fukuda A, Kurosawa Y, Toyoshima S, Okayama Y, Ito R, Ito M, Gon Y	JSA/WAO XXVII Allergy Congress (WAC 2020) conjoint with the APAPARI 2020 Congress	Establishment of a human severe asthma model using humanized mice.	2020.9.17
Tagui M, Toyoshima S, Miki Y, Endo T, Ito M, Niwa Y, Taketomi Y, Hayama K, Sakamoto S, Murakami M, Terui T, Okayama Y	JSA/WAO XXVII Allergy Congress (WAC 2020) conjoint with the APAPARI 2020 Congress	Lipid mediator profiles of chronic spontaneous urticaria and atopic dermatitis.	2020.9.17
Okayama Y	JSA/WAO XXVII Allergy Congress (WAC 2020) conjoint with the APAPARI 2020 Congress	Human mast cell interaction with inflammatory cells in allergic diseases, In Symposium of Mast cells, basophils and eosinophi	2020.9.17

課題番号	社 20-1201
------	-----------

【様式 6 社会実装研究】

岡山吉道, 豊島翔太, 伊崎聡志, 葉山惟大, 中村亮介	第 70 回日本アレルギー学会学術大会	抗 IgE 自己抗体の検出	2021.10.10
豊島翔太, 丸岡秀一郎, 曾田香織, 伊藤亮治, 山田志保, 岡山吉道, 権寧博	第 70 回日本アレルギー学会学術大会	ヒト化自然免疫型喘息モデルを用いたベンラリズムマブの治療効果検討	2021.10.8
田杭真帆, 豊島翔太, 三木寿美, 伊東真奈, 武富芳隆, 葉山惟大, 坂本朋美, 村上誠, 藤田秀樹, 照井正, 岡山吉道	第 70 回日本アレルギー学会学術大会	リポドミクスを用いたアトピー性皮膚炎患者の脂質プロファイルの解析	2021.10.8
伊東真奈, 田杭真帆, 遠藤嵩大, 豊島翔太, 三木寿美, 武富芳隆, 葉山惟大, 坂本朋美, 村上誠, 照井正, 藤田秀樹, 岡山吉道	第 70 回日本アレルギー学会学術大会	慢性突発性蕁麻疹患者血漿中の脂質メタボリックシンドロームの病態への関与	2021.10.10
岡山吉道	第 52 回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会	高親和 IgE 受容体、IgE とアレルギーコンポーネント	2022.6.18
岡山吉道	第 71 回日本アレルギー学会学術大会	MRGPRX2 と慢性特発性蕁麻疹	2022.10.8
丹羽悠介, 葉山惟大, 清水佳祐, 田杭真	第 71 回日本アレルギー学会学術大会	慢性特発性蕁麻疹(CSU)患者のオマリズマブ (Oma) 治療前後における血清中 free IgE と total IgE の臨床的意義	2022.10.9

課題番号	社 20-1201
------	-----------

【様式 6 社会実装研究】

帆、伊東真奈、坂本朋美、豊島翔太、藤田秀樹、岡山吉道、清水佳祐、田杭真帆、豊島翔太、三木寿美、伊東真奈、葉山惟大、坂本朋美、藤田秀樹、照井正、武富芳隆、村上誠、岡山吉道、黒澤雄介、豊島翔太、丸岡秀一郎、岡山吉道、權寧博	第 71 回日本アレルギー学会学術大会	アトピー性皮膚炎患者の血漿中 Resolvin D2 濃度の増加と病態への関与	2022.10.9
	アレルギー・好酸球研究会 2022	プロエンケファリン代謝産物によるヒト 2 型自然リンパ球 (ILC2) の活性化機構	2022.11.3

7 著書・雑誌論文

実装研究によって得られた研究成果の発表状況（著書、雑誌等）について記入してください。

著書、雑誌、抜き刷り等を添付してください。コピーの場合は掲載されたことが客観的にわかるものを添付してください。

著者・執筆者	著書名・雑誌名／論文名	巻・号	年月	出版社・発行所
Toyoshima S, Sakamoto-Sasaki T, Kurosawa Y, Hayama K, Matsuda A, Watanabe Y, Terui T, Gon Y, Matsumoto K, Okayama Y	J Allergy Clin Immunol/ miR103a-3p in extracellular vesicles from FcεRI-aggregated human mast cells enhances IL-5 production by group 2 innate lymphoid cells	147(5): 1878-1891, 2021	2021 年 5 月	Elsevier
Mishima S, Kashiwakura J, Toyoshima	Sci Rep/ Higher PGD <sub>2</sub> production by synovial mast cells from rheumatoid	11(1): 5738, 2021	2021 年 5 月	Nature portfolio

課題番号	社 20-1201
------	-----------

【様式 6 社会実装研究】

S, Sasaki-Sakamoto T, Sano Y, Nakanishi K, Matsumoto K, Okayama Y	arthritis patients compared with osteoarthritis patients via miR-199a-3p/prostaglandin synthetase 2 axis				
Nishimori N, Toyoshima S, Sasaki-Sakamoto T, Hayama K, Terui T, Okayama Y	Allerol Int/Serum level of hemokinin-1 is significantly lower in patients with chronic spontaneous urticaria than in healthy subjects	70(4): 480-488, 2021	2021 年 10 月	Elsevier	
Takasato Y, Kurashima Y, Kiuchi M, Hirahara K, Murasaki S, Arai F, Izawa K, Kaitani A, Shimada K, Saito Y, Toyoshima S, Nakamura M, Fujisawa K, Okayama Y, Kunisawa J, Kubo M, Takemura N, Uematsu S, Akira S, Kitaura J, Takahashi T, Nakayama T, Kiyono H	Mucosal Immunol/ Orally desensitized mast cells form a regulatory network with Treg cells for the control of food allergy	14(3): 640-651, 2021	2021 年 5 月	Nature	

課題番号	社 20-1201
------	-----------

【様式 6 社会実装研究】

Fukuda T, Toyoshima S, Yamada S, Kurosawa Y, Okayama Y, Maruoka S, Gon Y	Allergy/ Enzymatic activity of ACE2 regulates type 2 airway inflammation in mice	76(6): 1913-1917, 2021.	2021 年 6 月	Wiley
Toyoshima S, Okayama Y	Allergol Int /Neuro-allergology: Mast cell-nerve cross-talk.	71: 288-293	2022 年 7 月	Elsevier

8 本研究課題に関するその他の発表（新聞，一般雑誌掲載等）

日本大学および日本大学医学部プレスリリース「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」HP 2021.02.25

学校法人順天堂大学プレスリリース「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」順天堂大学 HP 2021.02.25

PRITIMES プレスリリース「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」2021.02.25

All About News プレスリリース「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」2021.02.25

ニッポンふるさとプレス 「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」2021.02.25

Rakuten Infoseek News 「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」2021.02.25

Excite News 「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」2021.02.25

@Dime 「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」2021.02.25

課題番号	社 20-1201
------	-----------

【様式 6 社会実装研究】

B to B プラットフォーム業界チャンネル「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」 2021.02.25

あとぴナビブログ「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」 2021.02.25

医薬ニュース.com「アレルギー炎症を増悪・遷延化させ、その炎症を全身に拡げるメカニズムの解明」 2021.02.25

## 9 その他の成果

本研究課題の研究の進展により、研究課題「アトピー性皮膚炎・慢性特発性蕁麻疹における細胞外小胞による病態制御機構の解明」の着想に至り、日本大学学術助成金(総合研究)に応募し、採択された。

## 10 本研究課題による知的財産権の出願・取得状況

名称	知的財産の種類	発明者 (考案者・創作者)	権利者	出願・登録番号	出願年月日	取得年月日
慢性皮膚疾患の検査キット、及び慢性皮膚疾患の評価方法	特許	岡山吉道, 田杭真帆, 照井正, 伊東真奈, 豊島翔太, 村上誠, 武富芳隆, 三木寿美	学校法人日本大学	特願 2020-153097 号	令和 2 年 9 月 11 日	令和 4 年 3 月 24 日

## 11 今後の展開

実用化の基となる成果を、連携組織に引渡す(引渡した)時期、引渡し後の事業計画(実施時期、事業内容、事業化後大学の役割分担があればその内容等)について、可能な限り具体的に記入してください。

今後、研究分担者の葉山惟大博士が中心となって post-free IgE が投与中の薬剤減量の目安となる biomarker となるかを検討していく予定である。

また、研究内容は現在、原著論文として英文誌に投稿中である。



## 学術研究助成金〔社会実装研究〕 成果報告書

令和 6 年 4 月 1 6 日

氏 名： 上田 賢志  
資格・所属： 生物資源科学部・教授  
実施研究所： 生物資源科学部・生命科学研究所

## 1 研究課題

微生物酵素を活用した神経伝達物質の簡易定量キット
--------------------------

## 2 研究期間

令和 2 年度 ～ 令和 3 年度

※令和 2 年度 ～ 令和 4 年度（※特例措置により上記期間を変更している場合記入すること）

## 3 研究組織

研究代表者及び研究分担者

	氏 名	部科校・資格	役 割 分 担
代 表 者	上田賢志	生物資源科学部・教授	研究総括・キット用途拡大のための酵素生産菌の探索と性状解析
研 究 分 担 者	西山辰也	生物資源科学部・専任講師	キットの最適化と用途拡大のための酵素の特性解析

連携組織

組 織 名	役 割 分 担
株式会社エンザイム・センサ 代表取締役 日下部 均 〒305-0047 茨城県つくば市千現 2-1-6 つくば研究支援センター	キットの商品化と事業展開

※ホームページ等での公開（可・否）いずれかをチェックしてください。  
否の場合は、理由書を別途添付のこと。

#### 4 研究目的

研究の全体構想及び本研究の具体的な目的について記述してください。

ヒトの神経伝達において信号物質として機能することが知られる  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) を簡易測定する酵素キットを開発し実用化することを目的とする。

グルタミン酸が興奮性の伝達物質であることに対し、その  $\alpha$ -カルボキシル基が取り除かれてできる GABA は、抑制性の伝達物質として機能する。抗不安、血圧低下、睡眠調節等、ヒトの精神状態の鎮静化・安定化に正に作用することから、GABA の血中濃度は躁病・うつ病等の精神疾患の指標として用いられる。また、最近では高 GABA 含量の食品はヒトの精神的安定に効果的とされ、注目を集めている。さらに、動物腸内に共生する細菌に GABA を生産するものが存在し、それが宿主動物におけるストレス耐性に関わっている可能性が指摘されはじめています。本研究では、様々な試料中の GABA 濃度を簡便に定量する汎用キットを開発することを通じて農産物をはじめ様々な試料中の GABA 含量が手軽に測定できる技術基盤を確立、新たな産業の創出を後押しする。

#### 5 実装研究の概要

R2

##### 1. 試作キットの適用試験と量産体制の構築

試薬 pH の変更によって GABA 測定キットのプロトタイプにおける基質特異性の改善になった。本実験から、測定試薬の組成、pH、濃度検討によって基質特異性および安定性を改善することが可能であるという知見が得られた。

大量発現系として、GABA-AT 構造遺伝子を挿入した pET プラスミドを大腸菌 *E. coli* Rosetta II (DE3) に導入し、形質転換体の作出に成功した。本組換え株を用いて、30 L スケールの培養を実施し、その最適培養時間の検討を行なった。また、得られた培養液からの最適な精製手順を確立し、当初と比較して大幅な目的酵素の取得が可能となった。

##### 2. 用途拡大のための前処理法の確立

本実験を始めるにあたり、阻害物質の探索を実施した。様々な野菜や果物、味噌などを測定した結果、従来法である LC-MS を用いた定量結果と比較して、多くの測定試料において正しく GABA 濃度を測定可能であることが判明し、キットの有用性を示す結果となった。

##### 3. 他のアミノ酸の定量を可能にするトランスフェラーゼの探索

アスパラギン酸を基質とするアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼを用いることで、アスパラギン酸測定キットを試作した。様々な野菜を用いた測定の結果、LC-MS を用いた測定結果と比較しても正しく測定可能であることが実証され、本キットは(株)エンザイム・センサから販売開始目前である。また、アスパラギンはアスパラギナーゼによりアスパラギン酸へと加水分解される点に着目し、アスパラギン酸測定キットにアスパラギナーゼを組み合わせ、アスパラギン→アスパラギン酸へと変換したのちにアスパラギン酸を測定する、アスパラギン測定キットを

作成し、こちらも同社から商品化され販売開始目前である。

さらにアラニンアミノトランスフェラーゼを用いたアラニン測定キットに関しても組換え大腸菌の大量培養系を確立し、種々の組成や条件を決定し商品化に成功した。本キットも、同社から販売開始目前である。

### R3 以降

#### 1. 改良キットの製作

GABA 測定キットは野菜や食品の GABA 測定に留まらず、細胞内 GABA 測定などの研究分野でも用いられている。その際、測定試料は貴重であることから、微量スケールでの測定法が求められていた。そこで、本キットでの微量測定が可能かどうか検証を行った。その結果、これまでと比較して 1/10 の試料で測定が可能となった。また、用いる試料の割合を多くすることでこれまでよりも 10 倍程度の高感度化にも成功した。

#### 2. 複合システムの構築

アラニンアミノトランスフェラーゼは多くの生物が持つ酵素である。アラニン測定キット開発当初に用いた大腸菌の持つ本酵素は安定性が低く、キットには不向きであった。そこで、同じ酵素をコードする遺伝子であっても、それぞれの基質特異性や安定性など、諸性質には違いがあることに着目し、大腸菌が持つアラニンアミノトランスフェラーゼの相同遺伝子を、遺伝学上離れている複数の微生物から選択し、それらの人工遺伝子を調製後、大腸菌での大量発現系を構築した。発現させた酵素の安定性と基質特異性を比較したところ、グラム陽性菌の遺伝子が最適であったため、本遺伝子の組換え体から酵素精製を行い、酵素の大量獲得に成功した。これを用いたアラニン測定キットもまた商品として完成しており、販売が見込まれている。

アスパラギン測定キットを参考として、様々なアミノ酸測定を可能とするために、前処理を組み込んだ測定キットの開発も行った。例えばアスパラギン酸を含むジペプチドの測定においては、特異性の高いジペプチダーゼを微生物から探索し、その酵素の精製に成功した。このジペプチダーゼを用いると、測定するジペプチドからアスパラギン酸が生成され、アスパラギン酸測定キットと組み合わせることでジペプチド測定が可能となる。精製された酵素のアミノ酸配列情報と生産菌のゲノム情報とを照らし合わせることで、目的酵素の構造遺伝子を特定し、大腸菌での発現にも成功したため、これを用いたキットの開発を進めている。

#### 3. 成果の公表

これらの研究は様々な学会で発表している。特に、日本国内における微生物、酵素、食品と幅広い研究者、企業の研究者が参加する農芸化学会で発表を行った。また、(株)エンザイム・センサは食品科学工学会および食品開発において、アスパラギン、アスパラギン酸、アラニン測定キットの発表を行った。

課題番号	社 20-1502
------	-----------

【様式 6 社会実装研究】

6 学会発表等

実装研究によって得られた研究成果の発表状況（学会発表，成果物展示，プレス発表等）について記入してください。  
要旨集の抜き刷り，発表原稿のコピー等及び発表したことがわかるものを添付してください。

発表者名	学会，発表会名等	発表テーマ	発表年月
西山辰也, Woro Triarsi Sulistyaningdyah, 新館啓子, 上田賢志, 日下部均	日本農芸化学会関東支 部 2020 年度大会	放線菌由来 GABA トランスアミナーゼ を利用した GABA 測定キットの開発	2020.11.29
西山辰也, Woro Triarsi Sulistyaningdyah, 新館啓子, 上田賢志, 日下部均	日本農芸化学会 2021 年度大会	アスパラギン酸トランスアミナーゼを利 用したアスパラギン酸測定キットの開発	2021.3.19
西山 辰也, 宮本 宜英, 上田 賢志	2022 年度（第 36 回） 日本放線菌学会大会	フェニルアラニン定量系確立のためのア ミノ基転移酵素の探索	2022.9.15
西山 辰也, 宮本 宜英, 上田 賢志	日本農芸化学会大会 2023 年度大会	L-フェニルアラニン定量系確立を目指し たアミノ基転移酵素の探索	2023.3.15

7 著書・雑誌論文

実装研究によって得られた研究成果の発表状況（著書，雑誌等）について記入してください。  
著書，雑誌，抜き刷り等を添付してください。コピーの場合は掲載されたことが客観的にわかるものを添付してください。

著者・執筆者	著書名・雑誌名／論文名	巻・号	年月	出版社・発行所
Nishiyama T, Wada N, Kusakabe H, Ueda K	Methods Mol Biol / An Enzyme Assay Kit for GABA Quantification in Plant Tissues.	2798:195-203. doi: 10.1007/978- 1-0716-3826- 2_13.	2024.4	Springer

8 本研究課題に関するその他の発表（新聞，一般雑誌掲載等）

該当なし

課題番号	社 20-1502
------	-----------

【様式 6 社会実装研究】

9 その他の成果

該当なし

10 本研究課題による知的財産権の出願・取得状況

名 称	知的財産の種類	発 明 者 (考案者・創作者)	権 利 者	出願・登録番号	出願年月 日	取得年月日
L-アスパ ラギンの測 定方法、及 びそのため のキット	特許	日下部 均、 新館 啓子、 ウォロ トリ アルシ ステ スティアニ ンディア、 西山 辰也、 上田 賢志	日下部 均	特 許 第 7046408 号 (P7046408)	令和 4 年 1 月 20 日	令和 4 年 4 月 4 日

## 1 1 今後の展開

実用化の基となる成果を、連携組織に引渡す（引渡した）時期、引渡し後の事業計画（実施時期、事業内容、事業化後大学の役割分担があればその内容等）について、可能な限り具体的に記入してください。

### 1. アスパラギン／アスパラギン酸測定キットの実用化

本年度に特許が成立したアスパラギン／アスパラギン酸測定キットについて、先行したGABA 測定キットと同様の実用化を目指し、実証実験と有効性の試験を継続する。特に安定試験を重ねることでキットとしての完成を目指し、販売を開始する。

### 2. アラニン測定キットの開発

本年度に遺伝子組換えに成功したアラニンアミノトランスフェラーゼを用いたアラニン測定キット開発について、精製酵素を用いて諸性質の解明を実施する。また、それらを用いたキット開発を目指す。

### 3. 他のアミノ酸測定キットの開発

上記のキットと同様の酵素反応の連携によるアミノ酸の簡易定量キットを開発する。これまでに実施してきたアミノトランスフェラーゼ生産菌のスクリーニングを継続し、基質特異性と安定性が高い酵素の生産菌取得を試みる。得られた生産菌とその酵素については、本研究で実施した通りの手順でその遺伝子を特定し、組み換え酵素の生産とそのキットへの適用性を精査する。有効性が確認されたものについては特許を取得すると同時に、その実用化に向けた試験と改良を重ねる。

### 4. その他の酵素センサーの開発

上記の一連のアミノ酸定量システムは、放線菌由来のグルタミン酸オキシダーゼに連携することで構築するものであるが、それ以外にも特に特定の化合物に対するオキシダーゼ活性を有する酵素をセンサーとして活用し、その検出・定量手法を確立することも目撃した探索研究を実施する。すでに本研究でも開始し、候補が見つかったいくつかの酵素についてはその精製と遺伝子の同定、組み換え体の作出を通じて特性を精査し、そのセンサーとしての利用に繋げる。