

独国科学誌「Angewandte Chemie International Edition」誌掲載  
**マイクロ流体技術を用いた網羅的・高速 DNA 分析技術の開発に成功**  
-網羅的・短時間・高感度のバイオマーカー検出技術の確立に期待-

## 概要

### 1. 背景

京都大学大学院工学研究科の新宅博文助教、Stanford 大学 Professor Juan G. Santiago らの研究グループは、マイクロ流体技術を用いた網羅的・高速・高感度の DNA 分析技術の開発に成功しました。これまで、DNA のハイブリダイゼーションを利用した分析技術は極微量しか存在しないターゲットを検出するために長時間の反応時間を必要としていました。本研究で開発したマイクロ流体技術は従来 20 時間程度必要であった反応時間を約 20 分に短縮することが可能です。また、30 分の反応時間を用いた結果と比較すると約 5 倍の計測感度を得る事が可能です。さらに、本技術は同一サンプル内に存在する複数のターゲットを同時に定量することが可能であり、今後本技術を基にした高速かつ網羅的核酸解析が可能になると期待されます。

本研究成果は、独国科学誌「Angewandte Chemie International Edition」誌に 2014 年 10 月 10 日付でオンライン版に掲載されました。

なお、新宅助教は京都大学のジョン万プログラム（研究者海外派遣事業）により Stanford 大学に派遣され、本研究成果を得ました。

### 2. 研究手法・成果

本技術はマイクロ流路(1mm 以下の代表寸法を有する微小な流路)における等速電気泳動と呼ばれる現象を用いて、ターゲット DNA 分子とその捕捉分子で修飾したマイクロビーズを共濃縮し、反応速度を大幅に向上するものである。この反応速度の向上により、約 20 分の反応で 20 時間の反応と同等の検出感度を達成する事が可能である。反応に必要な溶液は一般的な水溶性のバッファのみであり、安全性も高い。等速電気泳動とは、電気泳動移動度の異なるイオンを含む二種のバッファをマイクロ流路内に並べ、そこに直流の電場を印可する事で二種のバッファイオンの界面に中間の電気泳動移動度を有するイオン（ここではターゲット DNA 分子およびマイクロビーズ）を濃縮できる技術である。DNA のハイブリダイゼーションの速度が濃度に依存する事に着目して、等速電気泳動の濃縮効果により反応の高速化を実現した。本研究ではこの反応の高速化を特にマイクロビーズを利用したマルチプレクシング分析技術（同一サンプル内の複数のターゲットを同時に分析する技術）へと拡張したことが評価され、掲載が認められた。また、ターゲット分子とマイクロビーズ表面の捕捉分子の反応を記述する理論解析モデルも確立しており、実用化の際に必要な設計技術への応用が期待される。

### 3. 波及効果

本技術を基盤とした高速かつ網羅的な分子分析技術が確立できる。短時間で高感度の分析が可能である事から、例えば体液中の miRNA の検出など、極低濃度でしか存在しないバイオマーカーの検出等に適し

ていると考えられる。

#### 4. 今後の予定

現在のシステムはマイクロ流路を用いた反応の後、特別なフローサイトメータを用いて反応量の検出を行っている。フローサイトメータを用いた検出では、ある一定数以上のマイクロビーズが必要である一方で、検出感度はより少量である方が高くなる。以上から、少量のマイクロビーズを用いた反応・検出システムを確立し、さらなる高感度化を達成する。

#### <論文タイトルと著者>

Hirofumi Shintaku, James W. Palko, Glenn M. Sanders, Juan G. Santiago, Increasing hybridization rate and sensitivity of bead based assays using isotachopheresis (DOI: 10.1002/anie.201408403 and 10.1002/ange.201408403)

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.201408403/abstract>

#### <用語解説>

##### ・ハイブリダイゼーション:

相補的配列を有する1本鎖核酸(DNAあるいはRNA)同士が複合体を形成し、2本鎖を形成する現象。

##### ・miRNA:

約22塩基ほどのRNAであり、他の遺伝子の発現を調整する機能を有すると考えられているノンコーディングRNA。がん、感染症、生活習慣病との相関が示唆されており、バイオマーカーとしての応用が期待されている。

##### ・フローサイトメータ:

細胞あるいは微小な粒子を流しながら個々の粒子を光学的に分析する手法

#### <お問い合わせ先>

氏名 新宅 博文 京都大学大学院工学研究科マイクロエンジニアリング専攻 助教

e-mail: [shintaku@mc.kyoto-u.ac.jp](mailto:shintaku@mc.kyoto-u.ac.jp)