

半導体とバイオ・医療の接点を探る —バイオトランジスタの開発—

研究代表者

宮原 裕二

Yuji Miyahara

東京医科歯科大学生体材料工学研究所 教授



はじめに

1980年代に入り遺伝子解析に代表されるように、生物学で取り扱う情報量が爆発的に増大し、超並列解析による高速化を目指してマイクロエレクトロニクス技術が医療、生命科学の分野に積極的に応用されてきた。生物情報を高速に処理するインフォーマティクス及び、超並列解析を可能にする半導体デバイス技術が車の両輪として生命科学の新しい進展を支え、新たな学問領域および産業分野が形成されつつある。

講演者らの研究グループでは半導体集積回路の主要な要素素子である電界効果トランジスタ(Field Effect Transistor, FET)を用いた生体分子認識検出デバイス(バイオトランジスタ)の研究を行っており、これを基盤に遺伝子、糖鎖、脂質、蛋白質、細胞などを対象としてその解析技術の研究を行っている¹⁻⁶⁾。電界効果トランジスタのゲート絶縁膜表面に機能性分子を固定化し、電荷密度変化を伴うような生体分子認識反応をデザインする。ゲート絶縁膜表面で生体分子認識反応の結果誘起される電荷密度変化に反応してシリコン表面(チャンネル)の電子密度が変化する。この静電的相互作用を電界効果トランジスタの電気的特性の変化として検出することができる。即ち生体の反応をトランジスタで直接電気的信号に変換して取り出すことができる。本講演ではDNAの塩基配列や細胞膜表面の糖(シアル酸)を解析するトランジスタを中心にその原理及び応用例について紹介する。

DNA 解析用バイオトランジスタの原理

DNA解析用のバイオトランジスタを例にその動作原理を説明する。DNA解析用バイオトランジスタの構成を図1に示す。トランジスタのゲート絶縁膜表面にオリゴヌクレオチドプローブを固定化し、相補的DNAを含有する試料溶液を導入するとハイブリダイゼーションにより

ゲート上で二本鎖DNAが形成される。DNA分子は水溶液中でリン酸イオンに起因する負の電荷を有しているため、1本鎖から2本鎖のDNAが形成されることにより負電荷が増加し、トランジスタのしきい値電圧の変化としてハイブリダイゼーションを検出することができる。

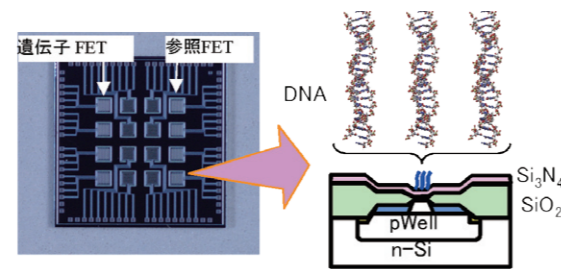


図1 DNA解析用バイオトランジスタの構成

DNAの4つの塩基の並び方を1個ずつ解析するためには、ハイブリダイゼーション後にゲート表面にDNAポリメラーゼ、基質dNTPを導入して合成反応を行わせ、伸長した分のポリヌクレオチドに基づく電荷の増加分を検出する。ゲート絶縁膜上でのプライマー伸長反応において、4つの塩基アデニン、グアニン、シトシン、チミンをそれぞれ別々に酵素であるTaq DNAポリメラーゼとともに順次添加し、バイオトランジスタの電気的特性(しきい値電圧)の変化を測定する方式を提案した。添加する塩基がターゲットDNAの塩基と相補的であれば一塩基伸長反応により一塩基のみ合成されて負電荷が増加し、相補的でなければ合成反応は起こらず電荷の変化はない。したがって4種類の塩基を順次添加した後のそれぞれのしきい値電圧の変化を測定すれば、ターゲットDNAの未知の塩基配列を知ることができる。バイオトランジスタを用いた分子電荷に基づく塩基配列解析(DNAシーケンシング)の結果を図2に示す。

従来、DNAとトランジスタは全く異なる分野で扱われてきたが、今ではそれらが融合されて本原理に基づくDNA

シーケンサが既に製品化されており、個人の体質に適した医療を提供する個別化医療の実現を目指している。

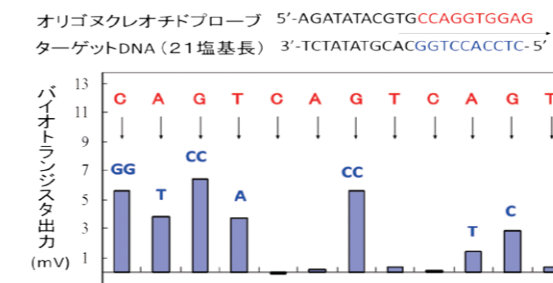


図2 バイオトランジスタによるDNAシーケンシングの例

糖解析用バイオトランジスタ

第2の例として、細胞表面のシアル酸の検出と糖尿病、がん転移解析への応用について紹介する。

シアル酸は糖鎖中に最も高頻度かつ糖鎖末端部に集中する分子であり、その密度や分布が細胞の疾病、発生、分化などと強く相関することが知られている。例えば、癌細胞表面においてはシアル酸発現が著しく亢進する一方、インスリン依存型糖尿病患者の赤血球表面では逆に減少することが報告されている。細胞膜表面の糖鎖シアル酸発現量の変化をトランジスタにより捉えることが出来れば、非破壊かつ非侵襲的な細胞診断技術に繋がるものと考えられる。シアル酸を特異的に認識させる分子としてフェニルボロン酸(PBA)を用い、これの自己組織化膜を形成した金電極をトランジスタのゲートとして用いることで、生理的な環境下でシアル酸の有するカルボキシル基の負電荷を特異的に捉えることを確認した。転移癌モデルとしてマウス黒色腫細胞を用い、肺への転移(肺癌モデル)における癌転移度の定量評価を行った。図3に異なる癌転移度の細胞をフェニルボロン酸自己組織化膜ゲートに導入した時のトランジスタの電位応答を示す。転移度の増加とともにトランジスタの電位応答が大きくなるのが分かる。

バイオトランジスタを用いることにより電氣的に癌転移度が定量的に求められることが確認された。すなわち、あらかじめ正常な細胞についての濃度-電位プロファイルが得

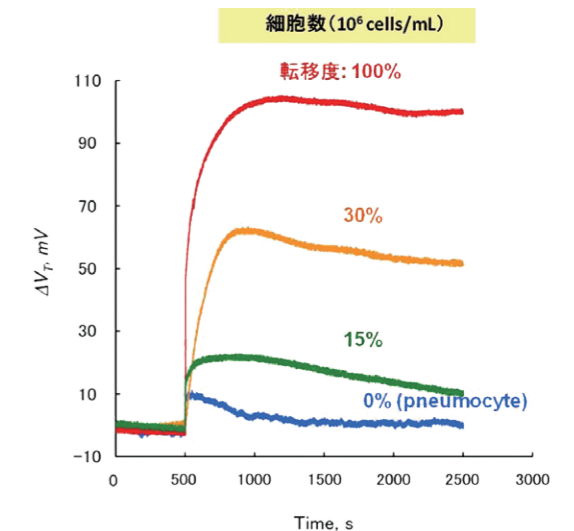


図3 バイオトランジスタによる癌転移度の評価

られれば、既知濃度の細胞をゲート上に播種するだけで、その細胞膜表面のシアル酸発現量がリアルタイムに求められることが明らかとなった。

今後の展開

バイオトランジスタは小型で並列処理可能な臨床検査システムを実現するのに有効であり、遺伝子解析など高度な医療をより身近に提供することが可能となる。半導体/バイオ融合分野の研究を深めることにより、個別化医療や在宅医療の進展、さらには国内医療産業の活性化などが図られると期待される。

参考文献

- (1) A. Matsumoto, et.al, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 49, 5494-5497 (2010)
- (2) T. Goda et.al, *Anal. Chem.*, 82, 1803-1810 (2010)
- (3) A. Matsumoto, et.al, *J. Am. Chem. Soc.*, 131, 12022-12023 (2009).
- (4) A. Matsumoto, et.al, *Adv. Mater.* 21, 4372-4378 (2009)
- (5) T. Sakata et.al, *Anal. Chem.* 80, 1493-1496 (2008)
- (6) T. Sakata et.al, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 2225-2228 (2006)