

リアルタイム高感度生体分子検出技術の開発

イノベーションプラザ京都における育成研究 平成16年度採択課題
「実時間観察型DNAマイクロアレイ計測法の開発」

代表研究者 奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 情報生命科学専攻 准教授

杉浦 忠男



特定の配列を持つDNA等の生体分子を選択的かつ高感度に検出できる技術が求められている。本研究では、エバネッセント場を用いてDNAがアレイ基板上で相互作用して結合する様子を時系列観察できる計測法を開発した。生体分子の高感度検出装置への展開を期待している。

■ 研究内容、研究成果

生体はDNAをはじめとしてさまざまな生体分子が相互作用しながら生命機能を維持している。生体分子を高感度でかつ網羅的に検出する計測技術は、遺伝子の機能を調べるなどの用途の他に、遺伝情報を得て医療診断に用いるなどの用途への展開が期待されている。本研究では、このような生体分子を網羅的でかつ高感度で検出する計測技術の開発を行った。この計測技術の特徴は、生体分子が基板上で分子間相互作用して結合反応が起こる様子を時系列で検出すること、高感度性を実現するためにバックグラウンドの影響を低減する計測機構を有することである。このような特徴を活かし、これまで利用してきたDNAマイクロアレイに較べて高感度かつ短時間での計測が可能になっている。本研究では、これらを実現するために、光が全反射する際に生じるエバネッセ

ント場を用いて蛍光分子を励起する計測系を採用した。エバネッセント場は基板表面から離れるに従って強度が指数関数的に減衰する光の場で、表面から100nm程度の距離までしか照明光を当たないで蛍光励起できるようになる。この性質を利用して、多くの蛍光分子を含む溶液中の検体が、DNAマイクロアレイ基板表面に特異的にハイブリダイズしていく様子を時系列計測にできるようにしている。また本研究では、エバネッセント場の進入深さを変化させることにより、溶液中の蛍光分子からの蛍光バックグラウンドの影響を取り除いて計測できる手法を開発した。さらに、遺伝子情報の高機能解析を目的として一塩基多型の検出を試み、分子の結合と解離の時系列計測結果を解析することで一塩基違いを検出できる見通しを得た。

■ 今後の展開、将来の展望

本研究で開発した計測法からは、蛍光法を用いた高感度検出装置を軸とした生体関連分子の高感度検出のアプリケーションへの展開が期待される。また本計測法での直接の成果であるDNA検出関連技術は、DNAマイクロアレイ解析技術に適用でき、さらにはDNA分子の検出のみならず、他の生体関連分子を高感度に検出するニーズに対しても有効である。現在の課題は、プロトタイプ機

を使った実証実験段階であるため、より実用機に近い装置で実現することで安定した計測を実現し、再現性などの問題点を解決することである。今後は、研究開発の枠組みを拡げて実用機レベルの計測装置を試作、評価し、分子間の相互作用の新たな計測分野の開拓を進めていく。

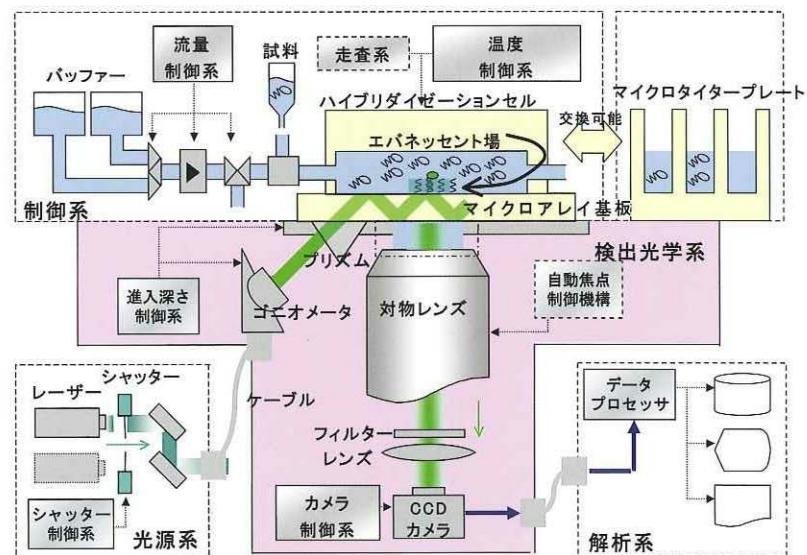


図1 実時間観察型DNAマイクロアレイ計測装置のシステム構成

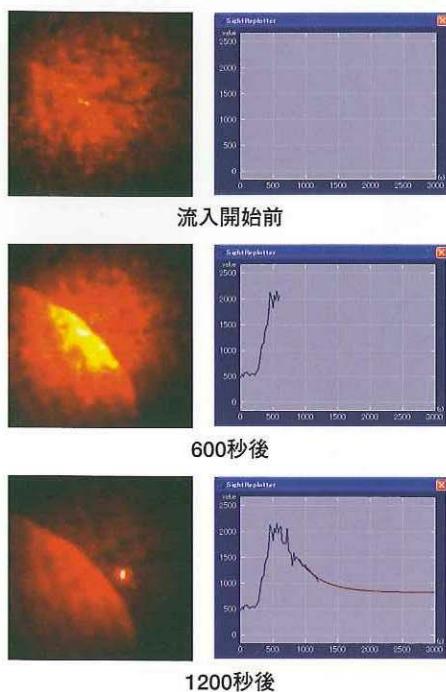


図2 rRNAのハイブリダイゼーション観察結果の一例

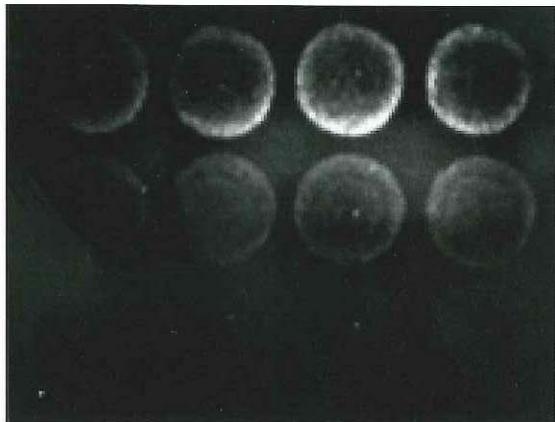


図3 マルチスポット・ハイブリ実験結果の一例

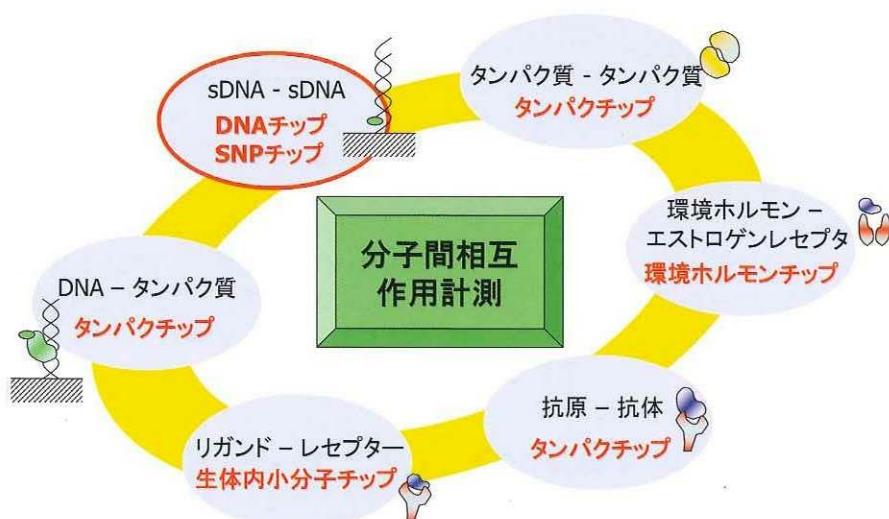


図4 実時間観察型DNAマイクロアレイから分子間相互作用計測

■ 研究体制

代表研究者 奈良先端科学技術大学院大学 情報科学研究科 情報生命科学専攻 准教授 杉浦 忠男

研究者 湊 小太郎(奈良先端大), 佐藤 哲大(奈良先端大), 中尾 恵(奈良先端大), 小笠原 直毅(奈良先端大), 菅 幹生(千葉大), 森 正人(京都医療科学大学), 吉田 魏(マイクロシステムズ), 橋本 安弘(マイクロシステムズ), 稲本 英次(科学技術振興機構)

共同研究機関 奈良先端科学技術大学院大学, 千葉大学, 京都医療科学大学, (有)マイクロシステムズ

■ 研究期間

平成16年10月～平成19年9月