

サスペンションアレイを用いるハイスループット生体分子分析

九州大学工学府化学システム工学専攻 大隈 夕紀子

多数の遺伝子の情報を網羅的に解析する目的で、DNA マイクロアレイが広く利用されている。DNA マイクロアレイは、プレーナー型とサスペンション型の二種類に大別できる。前者はプローブ DNA をスポットした基板を用いるもので、高密度の遺伝子型解析が可能である。一方、後者は個々に識別できるようにコードした担体を用いるもので、前者に比べれば得られる情報量は少ないが、高価なスポット装置が不要で、かつ簡便なハイスループットスクリーニングが可能である。このような利点から、サスペンション型 DNA アレイの担体識別法として、興味あるコード法 [1,2] が研究されているので、ここに紹介する。

Schmitt ら[1]は二種類の蛍光色素で染色したマイクロビーズを用いてヒトパピローマウイルスの遺伝子型解析を行っている。そこでは、蛍光色素の混合比によって個々のビーズを識別し、プローブ DNA を固定化したビーズを用いて間接的に蛍光標識したターゲット DNA をフローサイトメトリー法により検出している。

一方、色素を用いたコード化ではなく、担体にバーコードを付与するコード法も開発されている。Pregibon ら [2] はマイクロ流路を利用することにより、安価で迅速、かつ簡便な担体の合成法及び検出法を報告している。担体合成法としては、Fig. 1 に示すようなフローリソグラフィ法によるポリエチレングリコールジアクリレート(PEGDA)の迅速な光重合反応を利用している。すなわち、Y字型のマイクロ流路の一方にプローブ DNA と PEGDA の混合物を、他方の流路にローダミン B を流すと合流後は2相のまま流れていき、そこにパルス露光することにより Fig.2 に示すような楕円形の担体を合成している。この担体の左側半分には、光マスクにより識別コードが刷り込まれ、右側半分にはプローブ DNA が刷り込まれている。この担体を Cy3 標識相補ターゲット DNA 溶液中でハイブリダイゼーションをさせ、洗浄した後 Fig. 3 に示すマイクロ流路に導入すると、シースフローの流れにより担体は長軸方向に整

列して検出器方向に流れる。検出器では、Fig. 2 の担体左側のバーコード部分で担体に固定化したプローブ DNA を識別し、担体右側の分析部分でターゲット DNA の有無を判別する。ここで紹介した方法は、少数のターゲットの検出において非常に有用で、臨床検査においても安価、簡便、迅速かつハイスループットなスクリーニングが可能になると推察される。

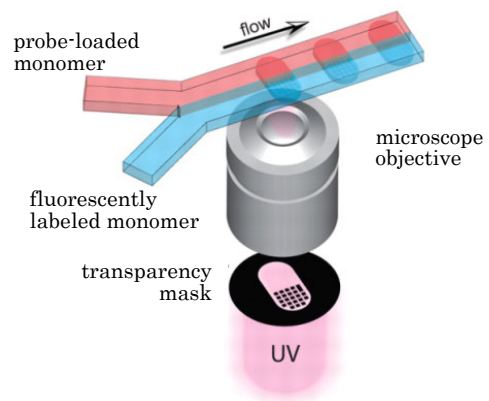


Fig.1 フローリソグラフィ法による担体の合成

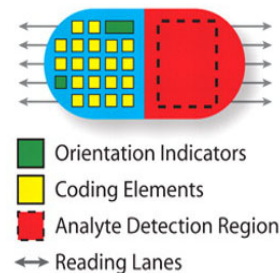


Fig.2 合成した担体の構造

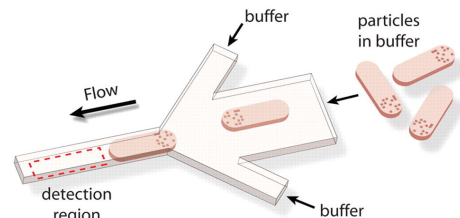


Fig.3 フローサイトメトリー法による検出

- [1] M. Schmitt, L. Gissmann, M. Pawlita, T. Waterboer, *J. Clin. Microbiol.*, **44**, 504 (2006).
[2] D. C. Pregibon, M. Toner, P. S. Doyle, *Science*, **315**, 1393 (2007).