

新素材・
先端技術

電解質溶液中で測定できる次世代のDNA解析法

本年7月、ヒト遺伝子の全解析がほぼ完了と報道された。最新のDNA解析法はミニチップ上に異なる塩基対をもつDNA断片をスポット状に並べたDNAアレイを用いる方法で、試料と結合したスポットのみを蛍光検出する。しかし、DNAアレイを乾燥させるため多型DNA解析はできない。著者らは、フェロセン化ナフタレンジイミドをDNAアレイ法に応用し、がん抑制遺伝子の多型解析を行った。PCR産物（情報増幅物）を走査型電気化学顕微鏡で測定し、fmo1の多型高感度検出に成功した。本法は溶液中で測定が可能な次世代DNA解析法として期待される。

【2K09】

走査型電気化学顕微鏡を用いたDNAアレイの画像化法の開発

（九大工学研究院） 竹中 繁織、山下 健一、高木 誠

ヒュ・マンゲノムプロジェクトの終結を迎え、得られたヒト遺伝子情報を如何に役立てるかが今後の重要な課題となってきた。DNAアレイは、多種類の遺伝子をハイスループットで検査する手法として注目されている。これまでのDNAアレイ法は次のように行われる。多種類のDNAプローブをガラス基板上に高密度で固定化する（DNAアレイの作製）。蛍光レベル化試料DNAをDNAアレイ上でハイブリダイゼーションさせる。DNAアレイを洗浄・乾燥後、基板上に結合した蛍光ラベル化試料DNAを蛍光スキャナーで画像化し解析する。最近、遺伝子多型の検出が注目されてきている。ここでは、安定性の微妙に異なった多種類のDNA二重らせんを同時に測定することが必要となる。このためには特定温度下、溶液中で測定することが必要である。しかしながら、乾燥下で測定する従来のDNAアレイ法ではこの条件下での測定は不可能であった。

著者らは、フェロセン化ナフタレンジイミドの2本鎖DNAへの強い結合能を利用したDNAセンサを開発してきた。走査型電気化学顕微鏡（SECM）を用いて、本手法をDNAアレイに適用すれば溶液中の2本鎖形成情報を電気化学的に画像化できると期待される。著者らは、ガラス基板の改良、DNA固定化法の検討、SECM測定条件の検討などを行うことにより本目的を達成した。このシステムを癌抑制遺伝子p53の遺伝子多型解析に適用し、オリゴヌクレオチドプローブを固定化した基板上でPCR産物（筑波大医学系内田和彦助教授との共同研究による）をハイブリダイゼーションさせた後、SECM測定を行った。その結果、ホモ体とヘテロ体の多型解析に成功した。検出感度はfmo1レベルであった。

本手法の特徴は、サンプルDNAをラベルする必要がないこと、特定温度下、電解質溶液中での測定が可能なことなどが挙げられ、コストパフォーマンスに優れた次世代DNAアレイシステムとして期待される。

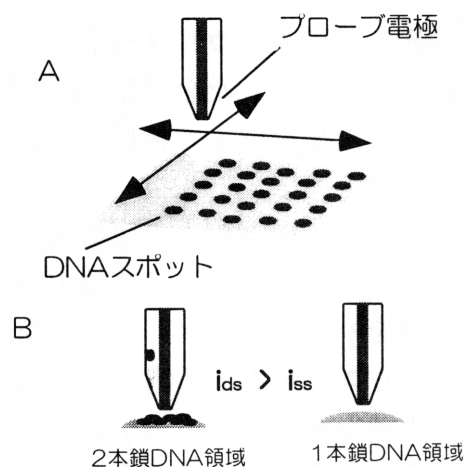


図 SECMによるDNAアレイの画像化概念(A)と電流発生原理(B)

2本鎖DNA領域上で検出される電流値(i_{ds})は、1本鎖DNA領域のそれ(i_{ss})よりも大きな値となる。