

世界初、DNA 増幅過程を無標識で検出

名古屋大学大学院工学研究科（研究科長：新美智秀）の馬場 嘉信（ばば よしのぶ）教授、安井 隆雄（やすい たかお）助教の研究グループは、北海道大学大学院工学研究院応用化学部門の渡慶次 学（とけし まなぶ）教授のグループ、ストックホルム大学生命科学研究所のマツ・ニルソン教授のグループらとの国際共同研究により、世界で初めて、ナノ流体回折格子で DNA の増幅過程を無標識検出し、結核菌やヒトパピローマウイルスの超高感度診断を可能としました。

現在の細菌・ウイルスの解析技術では、菌体やウイルスの種類を同定するために DNA を増幅し、その増幅過程を蛍光分子で観察する必要があります。これは、DNA の大きさが非常に小さいために、蛍光分子等の標識となる分子無しでは、増幅過程を直接観察することができないことが要因です。

今回の研究では、ナノ流体回折格子を開発し、このナノ流体回折格子によって生み出される回折光を検出することで、DNA の増幅過程を無標識で検出することが可能であることを見出しました。このナノ流体と回折光を利用した新しい検出原理を利用することによって、超微量の結核菌やヒトパピローマウイルスの DNA をわずか 2 分で検出することに成功しました。

今後、本技術を展開することによって、超微量の病原菌や病原性ウイルスを簡便に検出することが可能となり、我々の安心・安全を見守る科学技術へと発展することが期待されます。また、本技術を基礎生医学や分子生物学へと展開することによって、それら学問のさらなる飛躍へと貢献することが期待されます。

本研究成果は、英国科学誌「Scientific Reports」において、2016 年 8 月 17 日午前 10 時（英国時間）に公開されました。

【ポイント】

- ・これまでの従来技術では達成が不可能であった DNA 増幅過程を無標識で検出する新しい検出手法の開発。
- ・新しい検出手法を用いた極微量の結核菌・ヒトパピローマウイルスの検出。

【背景】

DNA 増幅過程の検出は、基礎生医学や分子生物学にとって欠かすことのできない重要な科学技術です。しかしながら、現在までに開発されてきた解析技術では、DNA を直接観察することができないため、蛍光分子等を介した DNA の間接観察を行ってきました。この間接的な解析技術は、解析した DNA によって蛍光分子の結合し易さ等により、解析結果に偏りが生じるという問題を抱えていました。また、DNA 増幅の手法も、DNA の配列によって増幅過程に偏りが生じるという問題を抱えていました。従って、増幅過程に偏りが生じず、かつ、蛍光分子による解析時にも偏りが生じない、解析技術の開発が強く望まれていました。

【研究の内容】

今回の研究では、ナノ流体回折格子を開発し、このナノ流体中で DNA 増幅を行うことで、その増幅過程を無標識で検出できることを発見し、DNA 増幅過程を世界で初めて直接観察しました。また、DNA 増幅も従来用いられてきたポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) とは異なる circle-to-circle amplification (C2CA) という手法を用いることで、増幅時に偏りが生じる問題を解決しました。また、この解析技術を用いることで、超微量の結核菌やヒトパピローマウイルスの DNA をわずか 2 分で検出することに成功しました。

【成果の意義】

本技術を展開することによって、超微量の病原菌や病原性ウイルスを簡便に検出することが可能となり、我々の安心・安全を見守る科学技術へと発展することが期待されます。また、本技術を基礎生医学や分子生物学へと展開することによって、それら学問のさらなる飛躍へと貢献することが期待されます。

【用語説明】

ナノ流体：数百ナノメートルの大きさを持つ流路

回折格子：構造体パターンによる回折を利用して干渉縞を作るために使用される光学素子の総称

ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) : DNA を増幅するための原理またはそれを用いた手法。

circle-to-circle amplification (C2CA) : DNA を増幅する原理。PCR とは異なり、高い特異性を持った DNA 増幅が可能である。

【論文名】

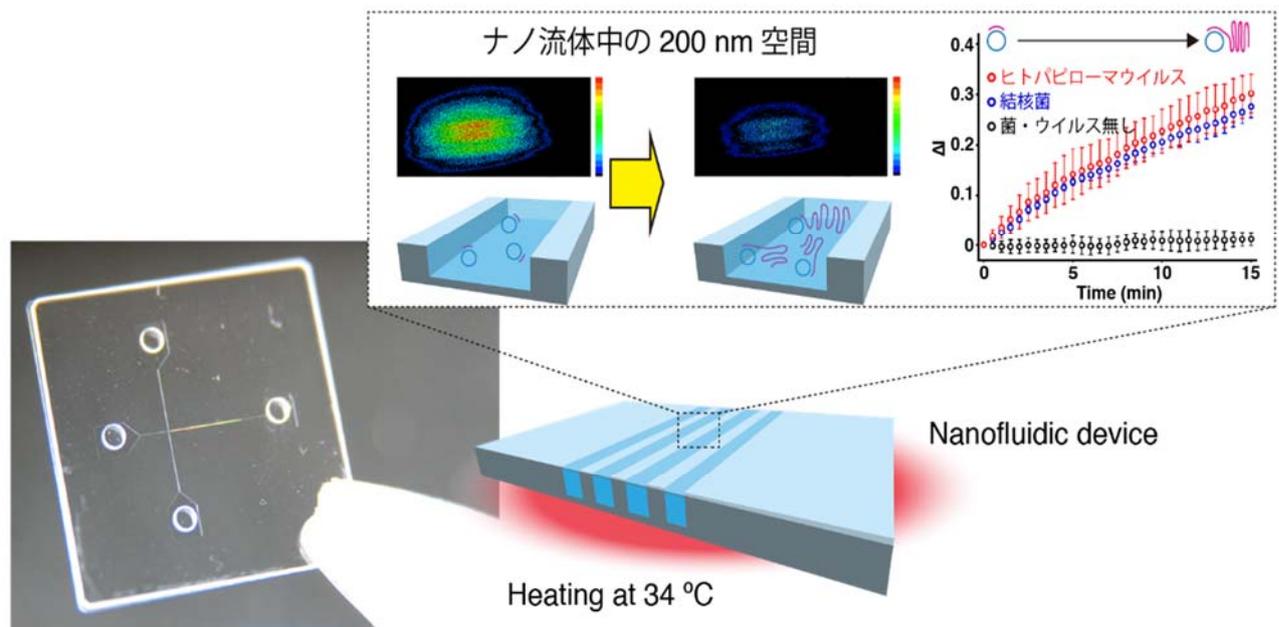
ナノ流体回折格子による DNA 増幅過程の無標識検出

Label-free detection of real-time DNA amplification using a nanofluidic diffraction grating

Takao Yasui, Kensuke Ogawa, Noritada Kaji, Mats Nilsson, Taiga Ajiri, Manabu Tokeshi, Yasuhiro Horiike, and Yoshinobu Baba

Scientific Reports, 2016, 6, in press

(Nature Publishing Group)



図：ナノ流路回折格子による DNA 増幅過程の無標識検出

ナノ流路回折格子を作製したデバイスの写真と、ナノ流路回折格子による DNA 増幅過程の無標識検出の結果。DNA を 34°C で等温増幅すると、ナノ流路中に増幅した DNA によって回折光の強度が減少する。その強度の差分より、極微量の結核菌・ヒトパピローマウイルスの検出が可能となる。