

高感度・高速遺伝子検知システムの開発

SATテクノロジー・ショーケース2014

■ はじめに

リアルタイムPCRは目的遺伝子を定量する最も正確な技術であり、水や食物中の細菌検査、インフルエンザの検査、テーラーメイド医療等の臨床現場において用いられている。しかし、リアルタイムPCRの基礎技術である、遺伝子検査に必要不可欠なPCR法は、従来1～2時間要するために迅速に遺伝子情報を調べることが不可能である。そこで、PCR法におけるサーマルサイクルの工程を、マイクロ流体デバイス化により極限まで高速化し、流路表面のコーティングにより高感度化することで、診察現場でそのまま、病原菌の薬剤耐性や患者の薬効を考慮した治療方針を決定できる高感度かつ高速な遺伝子検査技術の開発を目指した。

■ 活動内容

1. 高速化

一般的にPCR法では、DNAの変性、アニーリング、伸張反応のための温度をサイクルさせることで、目的とする遺伝子を指数関数的に増幅させることが可能である。この研究では、96℃と58℃の温度領域を、蛇行流路を通じて連続的に流れるセグメントフローPCRチップを開発した。試料溶液を液滴として送液することによって、マイクロ流路中での抵抗を抑え、試料の両端に蒸気圧の差が発生することで、昇温過程では低速、降温過程では極めて高速な移動を実現し、高効率で超高速な遺伝子増幅を達成した。

本技術の利用により、水の汚染の指標である、大腸菌の特異遺伝子に対して、8分以内での検知を実現した。

2. 高感度化

従来のマイクロ流体デバイスを用いた高速PCRでも、目的遺伝子を高速に検出する事は可能であるが、検出感度の低さ($10^5 \sim 10^8$ copies/ μ L)が問題であった。この研究では、セグメントフローPCRチップの流路表面をコーティングすることで、4 cells/ μ Lでの検出感度を達成した。また、PCRのサーマルサイクル毎に目的遺伝子の増幅による蛍光強度の増加を測定することで、遺伝子の定量が可能なリアルタイムPCRを実現した。これによって蛍光強度の立ち上がり始めるサイクル数から細胞濃度(遺伝子数)の定量を実現した。

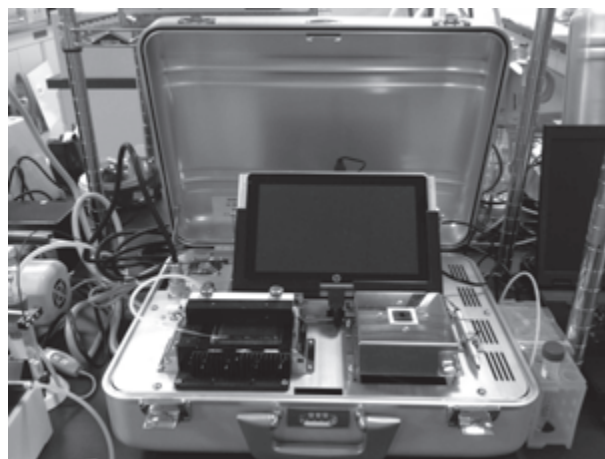
本技術の利用により、大腸菌の特異遺伝子に対して、8分以内に、市販のリアルタイムPCR装置と同レベルの検出感度(4 cells/ μ L)を実現した。

3. ポータブル化

一般的なPCRによる遺伝子検査では、試料を回収後、装置のあるところまで移動して検査する必要であった。この研究では、現場でそのまま、遺伝子検出を可能とするため、アタッシュケース型のポータブルな遺伝子検知システムを開発した。このポータブル遺伝子検知システムはシステム制御用のタブレットPC、ホットスタート用のチャンバー、サーマルサイクル時の昇温・降温用ヒーター、減圧ポンプ、蛍光検出器で構成されている。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

- 特開 2011-200193 (2010/03/26出願)「核酸増幅法」
- 特開 2013-055921 (2011/09/09出願)「核酸増幅法」



開発したポータブルな高感度・高速遺伝子検知システム

代表発表者 古谷 俊介(ふるたに しゅんすけ)
所 属 (独) 産業技術総合研究所
健康工学研究部門
ストレスシグナル研究グループ
問合せ先 〒563-8577 大阪府池田市緑ヶ丘 1-8-31
TEL: 0727-51-9953
shunsuke-furutani@aist.go.jp

■キーワード: (1) PCR
(2) 高感度
(3) 高速
(4) 遺伝子