

(様式第9 別紙2：公開版)

養成技術者の研究・研修成果等

1. 養成技術者氏名： 平岩 秀樹 印／署名

2. 養成カリキュラム名： PCR断片の簡易測定法の開発

3. 養成カリキュラムの達成状況

本養成カリキュラムは、1時間で576サンプルを処理できる世界最速となる高スループット電気泳動装置開発の基礎テーマである。基礎的データの蓄積から立ち上げるこのプログラムを遂行することによって、マイクロ流体デバイスとしてのPDMSチップの作製と評価を行いながら、フェロー本人の専門領域（生化学）を超えた幅広い知見と技術の取得を目的とする。

平成15年度は、以下の事業項目を予定した。

- ① DNA断片の設計及び作製
- ② 試作チップの試験及び評価
- ③ 試作機の試験及び評価
- ④ マイクロ流体チップを再利用するための検討
- ⑤ 泳動時間短縮方法の検討

ところが、高圧電源装置の納期の遅れ及び装置のプログラム不良から大幅に予定が遅れ、PDMSチップの性能評価となるデータ蓄積が中心となった。また、泳動実験トラブルの解消を行いながら、PDMSチップの泳動原理、DNAバンド検出原理、シグナル解析方法の理解を深め、チップ製作プロセスを把握するなど幅広い知見の取得ができた。

今期養成カリキュラム達成度は期首予定の75%程度である。

簡易測定法の確立のためには、ゲル濃度、電圧などの泳動条件、シグナルの解析ソフト、安定したDNA導入を考慮した電極を内蔵したチップ製作、など分離と解析の処理能力の向上を目的とする検討課題は多い。

本開発目標である装置は、平成15年12月に発売されたHDATMGT-12システムより処理能力を超えるものであるが、今期のカリキュラム内で実用化するチップの評価まで行えなかった。

今後は、安定したDNA導入を考慮したチップを製作し、実用化に向けた電気泳動条件及びシグナル解析ソフトの確立を目指したい。

4. 成果

(1) 目的

ゲノム解析、蛋白質構造・機能解析、クローンなど進歩の著しい今後の生物学・生命科学や医薬・診断分野、安全性確認などの食品分野での産業界にとって、大量のサンプルを短時間で解析する技術は必要不可欠であり、小型で安価な高性能のマイクロ流体デバイスを搭載した高スループット全自動大量解析電気泳動装置は大いに期待されている。

本カリキュラムでは、世界最速処理能力を備えた電気泳動装置に搭載するデバイスとして、従来のクロス十字流路方式でなくストレート流路方式を用いたPDMSチップの開発を目標としている。

(2) PDMSの性質

無色透明、弾力性に富み、耐熱性及び形状転写性に優れた性質をもつPDMS (polydimethylsiloxane: $(\text{SiO}(\text{CH}_3)_2)_n$) 樹脂には、多層化による立体構造の作製や疎水性・親水性など用途に応じた表面処理、及び自己吸着性を有するための特殊な接合プロセスが不要になるなど、加工処理工程が容易でサブミクロン単位の精度をもつ精密なチップの製作が可能となる。また、繰り返し使用可能なガラス板に使い捨て可能なマイクロ流路構造を持つPDMS樹脂を接着させたチップには、低コスト化への実現も期待される。

(3) PDMSチップの評価

- ① PDMS樹脂内にストレート流路の泳動路を設けたチップを試作し、高電圧低電流を制御できる電源、UVイルミネーターとモノクロCCDカメラを用いた観察系を用いた実験システムを構築した。そのチップの評価を行ったところ、安定してDNAが一定量ゲル内に導入されることが重要であることを確認した。
- ② DNAバンドの波形プロフィールの検討として、コスモアイ（日立化成製）を用い、クロス十字流路であるi-チップ(PMMAチップ)と同じ流路をもつPDMSチップでDNA断片の分離能について比較をし、PDMSチップはi-チップと同様5bpの違いを識別できることを確認した。また、クロス十字流路PDMSチップでサイズが明らかなDNAを泳動した波形解析から、泳動条件及び解析ソフトの改良によっては分離能をさらに向上できる可能性も取得した。

(4) まとめ

本年度は、測定装置構築の初期段階で生じた不具合で十分な解析が出来なかったが、ストレート流路チップではDNAの導入方法が重要なポイントであること、PDMSチップも従来のi-チップと同等な分離を示すことが確認できた。また、試作チップの予備実験データではあるが、このストレート流路チップで泳動後にウェル及び流路に残存DNAがなければ数回の再泳動が可能でデータも取得しており、精密加工及び安価に作製できるPDMSチップが、1サンプル当たりの低コストへの実現に貢献できる可能性も得られた。

5. 成果の対外的発表等

(1) 論文発表（論文掲載済、または査読済を対象。）
なし。

(2) 口頭発表（発表済を対象。）
なし。

(3) 特許等の出願件数
なし。