繊維技術を用いた新型 DNA チップ

New Type DNA Chip Based on Fiber Technology

秋 田 隆

1. はじめに

生体細胞にある染色体中の遺伝子と遺伝子以外の部分を含んだ全ての DNA をゲノムという。(図 1)

ヒトをはじめとする種々の生物のゲノム配列解析の終了地点は、更に機能解明へと続く長い道のスタート地点でもあるが、ゲノム配列に刻まれている意味を理解するとともに、これをいかに利用し、我々の生活に役立てるかということがこれからの重要課題であろう。

図 1 ゲノム・DNA・遺伝子

生体細胞にある染色体中の遺伝子と遺伝子以外の部分を含んだ全ての DNA をゲノムという。

ゲノムに秘められている情報とその機能性を効率的に解明するための技術のうちの 1 つとして、DNA チップ技術は重要な位置付けにあり、ゲノム科学における遺伝子解析の有力手段として、世界的に大きな注目を集めている。

本稿では、繊維及び高分子分野の技術を、遺伝子解析技術という全く異なる領域へ応用した繊維型 DNA チップについて述べる。

TAKASHI AKITA

三菱レイヨン株式会社 横浜技術研究所
主席研究員

〒230-0053 横浜市鶴見区大黒町 10-1

Tel: 045-504-1139 Fax: 045-504-6601

E-mail: akita_ta@mrc.co.jp

〈専門〉高分子構造、高分子物性、繊維科学

2. DNA チップとは

DNA チップとは、小さな基盤に多数の異なる種類のキャプチャー DNA を高密度に整理させて固定化したマイクロチップである。

DNA チップの原理は、塩基配列が相補的な核酸(DNA あるいは RNA)同士が二重螺旋(図 2)を形成するハイブリダイゼーションの原理に基づいている。

図 2 DNA の二重螺旋構造

DNA チップに対して、調べたい検体核酸試料を蛍光物質等を用いて標識した上でアプライし、相補鎖のみを選択的にハイブリダイズさせた後、チップの各遺伝子搭載スポットからの標識物質のシグナルを検出器によって読み取り、コンピューターを用いてデータ解析する最新の技術である。(図 3)

DNA チップを用いることにより、遺伝子を 1 つずつ解析するのではなく、多数の遺伝子を同時に解析することが可能となり、例えば、ある細胞がある刺激に対してどのように応答するのか等について、新しい体系的な見方ができるようになる。(遺伝子発現解析) また、ある特定の遺伝子の塩基配列中に存在する変異を検出することもできる。(遺伝子多型解析) DNA チップは、ヒトの疾患を遺伝子レベルで研究する新しい方法でもある。

この技術により、多数種の遺伝子に関して一度に、しか

図3 DNAチップによる検出の原理

DNAチップによる検出の原理は、相補的な一本鎖DNA同士が特異的に結合して安定な二本鎖構造をとるハイブリダイゼーション現象を利用している。検体DNAを標識してハイブリダイズさせることにより、相補的な塩基配列の有無を知ることができる。

も少ない検体試料量で短時間の内に解析することが可能となる。このようなマイクロ化技術が生まれてからまだ数年であり、現在まだ揺籃期にあるが、最近になって急速な技術進展を呈している。

既に市販されているDNAチップの代表例としては、フォトリソグラフィー型(アフィメトリックス型)とスポッティング型(スタンフォード型)がある。

フォトリソグラフィー型のチップは、光感受性保護基を有するリンカーをフォトリソグラフィー技術を用いて、シリコン基板上で短鎖DNAを高密度に逐次合成することにより作製される²⁾。

スポッティング型のチップは、スライドガラス上に、DNA断片を万年筆のペン先の原理でピンによりスポッティングするか、あるいはインクジェットの原理で微小バルブより噴射させて作製する³⁴⁾。

フォトリソグラフィー型のチップは、創薬分野等を中心とした研究段階での遺伝子の網羅解析用途に向いているが、非常に高価である。また、スポッティング型のチップは、遺伝子発現解析用途等に用いられるが、性能面等における更なる改良が望まれている。

現在のDNAチップ技術は、検出の感度や定量性、データの再現性といった性能面、及びチップの価格面においてまだまだ発展途上であり、各ユーザーが納得して使用できる新しいタイプのDNAチップが望まれている。

3. 繊維型DNAチップ

三菱レイヨンの繊維型DNAチップは、次世代型DNAチップとしての位置付けにあり、繊維製造技術をベースに、更に高分子精密微細成形技術やバイオ技術との融合による高信頼性大量生産型のチップである。(図4)

繊維型DNAチップは、樹脂固定化された中空繊維配列体をスライスすることにより製造される⁵⁾。(図5) 配列体の各中空繊維の中には、各々異なる種類のDNAが水溶性高分子媒体を介してフレキシブルに固定化されている。(図6) 従って、中空繊維の中の各DNAは自由度のある3次元構造をとることができ、ハイブリダイゼーション効率の高い高感度DNAチップを提供することができる。

繊維型DNAチップは、独自の中空繊維配列体スライス

図4 三菱レイヨンの繊維型DNAチップ

図5 繊維型DNAチップの製造方法概念

繊維型DNAチップは、樹脂固定化された遺伝子含有中空繊維配列体をスライスすることにより製造される。

図6 繊維型DNAチップの三次元構造

ハイブリダイゼーション効率の高い高感度DNAチップを実現するために、中空繊維中の各DNAは自由度のある3次元構造を有している。

製法により製造されるため、性能発現が安定した高品質のチップを大量供給することが可能である。研究用途はもとより、検査・診断用途などにおいて、遺伝子マーカーを絞り込んだ後の大量使用分野等に特に適している。

図7に、遺伝子発現解析における繊維型DNAチップの信頼性評価結果を示した。これは、マウス脳polyA+RNAからCy3、Cy5蛍光標識cDNAを合成し、ハイブリダイゼーションを行ったチップ5枚分のスクアッタープロット結果である。95%以上のスポットが1.5倍の範囲内に収束しており、繊維型DNAチップの高い再現性を示している。

図8に、繊維型DNAチップを用いた異なる臓器・組織

図7 遺伝子発現解析における繊維型 DNA チップの信頼性評価

マウス脳 polyA+RNA から Cy3、Cy5 蛍光標識 cDNA を合成してハイブリダイゼーションを行ったチップ5枚分のスクショット結果である。95%以上のスポットが1.5倍の範囲内に収束しており、繊維型 DNA チップの高い再現性を示している。

間での遺伝子発現差の解析例を示した。マウス脳、肺、脾臓の polyA+RNA から Cy3 あるいは Cy5 蛍光標識 cDNA をそれぞれ合成してハイブリダイゼーションを行い、各遺伝子について相対的な発現差を解析した結果である。

繊維型 DNA チップは、遺伝子の発現解析や多型解析はもとより、さまざまなアプリケーションの遺伝子解析に使用可能である。

図8 繊維型 DNA チップによる遺伝子発現差解析例

マウス脳、肺、脾臓の polyA+RNA から Cy3 あるいは Cy5 蛍光標識 cDNA をそれぞれ合成してハイブリダイゼーションを行い、各遺伝子について相対的な発現差を解析した結果である。

4. おわりに

DNA チップの利用はまだ始まったばかりである。今後の高性能化、高信頼性化、及び低価格化に伴い、世界的な規模で大きな市場が開けていく可能性を秘めている。

農産物や食品の機能性を調べるために、DNA チップを使用する動きも始まっている。また、環境分野におけるゲノム情報の利用も期待される。今後更に、DNA チップの用途展開は広がっていくであろう。(図9)

図9 DNA チップの今後の用途展開の可能性

また、DNA チップ自体が今後更に進化をとげていくとともに、今後は、核酸同士のみならず、核酸と蛋白質、あるいは蛋白質同士の相互作用を解析できるような、新しい技術が登場してくるであろう。

このような新しい技術、新しい産業が生まれるプロセスにおいて、極めてハイテクな技術の集合体である日本の繊維製造技術のますますの貢献を期待する。

参考文献

- 1) B. Lewin, *Genes* V, 109, Oxford University Press (1994).
- 2) Mark Schena, *Microarray Biochip Technology*, 119, Eaton Publishing (2000).
- 3) Mark Schena, *Microarray Biochip Technology*, 39, Eaton Publishing (2000).
- 4) Mark Schena, *DNA Microarrays*, 101, Oxford University Press (1999).
- 5) Mitsubishi Rayon, WO 00/53736, WO 01/98781 他