Possibility of Microchip Electrophoresis for Biological Application

Masatoshi Kataoka Member (Advanced Industrial Science and Technology, m-kataoka@aist.go.jp)

Jun-ichi Kido Non-member (University of Tokushima, kido@dent.tokushima-u.ac.jp)

Yasuo Shinohara Member (University of Tokushima, yshinoha@genome.tokushima-u.ac.jp)

Keywords : Microchip electrophoresis, Biological application, Endonuclease, Blood Sugar

1. Introduction

Miniaturization of analytical and biological instruments has developed rapidly in the past 10 years. Microchip electrophoresis has recently attracted much attention in DNA analysis due to its high efficiency, high throughput, time-saving ability, easy operation, and low consumption of samples and reagents. Some commercial instruments, such as the Agilent 2100 Bioanalyzer, Shimadzu MCE2010, and Hitachi SV1100 and 1210, have been developed, which has greatly promoted the further application of microchip electrophoresis. In microchip electrophoresis, nucleic acid fragments are separated by capillary electrophoresis in a chip with microfabricated channels, with automated detection as well as on-line data evaluation. Microfabricated devices are forecast to be fundamental to the postgenome era, especially in the field of genetics and medicine. However, although there are many reports of the use of these instruments to evaluate standard DNA, DNA ladders, PCR products, and commercially available plasmid digests, little information is available about their use with biological materials. It is therefore necessary to evaluate these microfabricated devices for DNA analysis of biological material, for example plasmid DNA isolated from bacteria. In this study, we evaluated the ability of the Hitachi SV1100 to analyze the plasmid DNA,

pUC118 which was isolated from *Escherichia coli*. And on-microchip endonuclease treatment of pUC118 and sequential analysis were performed to examine the feasibility of additional application of DNA analysis. Furthermore, we evaluate the ability of microchip electrophoresis for determination of blood sugar, and the mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$).

2. Experimental Results and Discussion

To examine the reliability of on-chip endonuclease digest of pUC118, the sample well in Hitachi *i*-chip was used as a reaction chamber (Fig. 1 A). As shown in Fig. 1 D, only 10 min was required for complete DNA digestion, and the accuracy of DNA sizing was also observed, and the high efficiency of microchip electrophoresis for endonuclease analysis was revealed. In medical application, this method will be a powerful tool in clinical diagnosis, for example for analysis of restriction fragment length polymorphism. We also examined the feasibility of the determination of blood sugar derivatized with fluorescent 2-aminoacrydone by microchip electrophoresis with Hitachi SV1100. As shown in Fig. 2, the accuracy in the determination of blood sugar concentration by microchip electrophoresis was compatible with the conventional colorimetric analysis. Furthermore, we demonstrated the potential of flow cytometry analysis with a microchip for monitoring $\Delta\psi_m$. Changes in $\Delta\psi_m$ may occur during many physiological and pathological processes, and this has attracted particular attention because the mitochondria are implicated in programmed cell death.

Microchip electrophoresis is being developed predominantly for the sizing and quantification of nucleic acids, proteins and metabolites. In this study, we showed the potential of microchip electrophoresis for another biological applications.

Fig. 1. Sequential analyses of *Kpn* I digestion of *Pvu* II-digested pUC118 DNA fragments

Fig. 2. Determination of blood sugar with the microchip electrophoresis

マイクロチップ電気泳動の生物学的解析への応用の可能性

正員 片岡 正俊* 非会員 木戸 淳一**
正員 篠原 康雄***

Possibility of Microchip Electrophoresis for Biological Application

Masatoshi Kataoka*, Member, Jun-ichi Kido**, Non-member, Yasuo Shinohara***, Member

Microchip electrophoresis has recently attracted much attention in the field of nuclear acid analysis due to its high efficiency, ease of operation, low consumption of samples and reagents, and relatively low costs. Nucleic acid fragments are separated by capillary electrophoresis in a chip with microfabricated channels, with automated detection as well as on-line data evaluation. Microfabricated devices are forecast to be fundamental to the postgenome era, especially in the field of genetics and medicine. However, although there are many reports of the use of these instruments to evaluate standard DNA, DNA ladders, PCR products, and commercially available plasmid digests, little information is available their use with biological material. In this report, we showed the accuracy of sizing and quantification of endonuclease-digested plasmid DNA. We also showed the feasibility of on-microchip endonuclease treatment of plasmid DNA and sequential analysis as an additional application for DNA analysis. Furthermore, to evaluate the possibility of microchip electrophoresis for biological application, the results of the examination of blood sugar in human plasma and mitochondrial membrane potential were shown.

キーワード：マイクロチップ電気泳動，生物学的解析，制限酵素，血糖

Keywords : Microchip electrophoresis, Biological application, Endonuclease, Blood sugar

1. まえがき

ヒトゲノムの 30 億塩基対にのぼる全 DNA ヌクレオチド配列を決定し、その情報の解析を目標として掲げたヒトゲノム解析計画が公共研究施設の国際協力により行われ、2000 年にその概要が、2003 年には全ゲノム配列が発表された。この情報を応用するためには、膨大な情報を迅速に取り出すための解析技術と情報処理技術が必要となる。そして半導体作製技術を応用した超微細加工技術を用いてガラスやプラスチックなどの基板上にミクロンオーダーの微小流路を形成することで、そのチャンネル中で電気泳動を行

いキャピラリー電気泳動の長所を生かし省サンプル化、分析時間の短縮化や高感度な解析が可能なマイクロチップ電気泳動(Microchip electrophoresis, ME)が DNA 解析に応用されている⁽¹⁾。最近では DNA の解析のみならず RNA、タンパク質⁽²⁾、糖鎖⁽³⁾、細胞機能解析⁽⁴⁾などその適用範囲は拡大してきており、さらに装置自体がコンパクト化されること、操作も簡単で術者の熟練度の差による解析結果の誤差も少ないため医療や臨床検査などの分野でオンサイト分析への応用も期待されている。現在ではディスプレイなマイクロチップを用いたマイクロチップ電気泳動装置が数社から市販され利用可能となっている。本稿では、これらマイクロチップ電気泳動の基礎的な特徴とともに、市販されているマイクロチップ電気泳動装置を用いた DNA 解析の基本、さらにユーザーの立場からこれらを用いて DNA の制限酵素処理とその解析、その他の応用例として血糖やミトコンドリア膜電位の測定など生物学的解析への応用性について述べてい。

2. マイクロチップ電気泳動の特徴

〈2・1〉 マイクロチップの構造と検出 マイクロチップ電気泳動は、石英、Polymethyl methacrylate (PMMA)、Polydimethylsiloxane (PDMS)、ポリカーボネートなどをマイ

* 産業技術総合研究所健康工学研究センター生体ナノ計測チーム
〒761-0395 高松市林町 2217-14
Nano-Bioanalysis Team, Health Technology Research Center,
National Institute of Advanced Industrial Science Technology
(AIST),
2217-14 Hayashi-cho, Takamatsu 761-0395

** 徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部歯周歯内治療学分野
〒770-8504 徳島市蔵本町 3-18-15
Department of Periodontology and Endodontology, Institute of
Health Bioscience, The University of Tokushima Graduate School
3-18-15 Kuramoto-cho, Tokushima 770-8504

*** 徳島大学ゲノム機能研究センター遺伝子発現分野
〒770-8053 徳島市蔵本町 3-18-15
Division of Gene Expression, Institute for Genome Research, The
University of Tokushima
3-18-15 Kuramoto-cho, Tokushima 770-8503

図1 マイクロチップへの DNA 試料の添加と
分離・解析

Fig. 1. DNA sample application, separation, and its analysis on a microchip.

クロチップの材質として使用した数センチ角のチップ上に半導体作成技術に基づいた超微細加工技術を用いて、幅 10～100 μm 、深さ 5～50 μm 程度のマイクロチャネルを形成して、このマイクロチャネル上で電気泳動を行う方法である。図 1 に基本図を示すが、マイクロチャンネルを十字形に形成し、ゲルとして分離用支持体をチャンネルに充填後、各ウェルに順次電荷を印荷することでサンプルの導入・分離・検出を行う。一枚のマイクロチップ上に複数のマイクロチャンネルを付与することで、多数のサンプルを一枚のマイクロチップで同時に電気泳動と解析が可能となり、ハイスループットな解析装置としての利用が可能になる。マイクロチップ電気泳動による DNA 解析においては、非架橋ポリアクリルアミド、セルロース誘導体、ポリエチレンオキサイドなどのポリマー溶液を分離用支持体として利用する解析法が主となる。そして解析対象となる DNA サイズによりさまざまな最適条件が報告されている。メチルセルロースのようなポリマー溶液は、一定の濃度を超えるとポリマー分子同士が絡み合い動的ポアを形成する。この場合、形成されるポアは従来の電気泳動に用いられるゲルのように固定されたサイズは有していないが、平均的メッシュサイズはポリマー濃度に依存する。これを利用することで DNA はポリマー溶液を電気泳動中にゲルの場合と同様に分子ふるい効果を受けて、従来のアガロース電気泳動などのようにその分子サイズに依存して分離される。マイクロチャンネルの形状として T 型、ダブル T 型⁽⁵⁾、クロス型やダブルクロス型⁽⁶⁾等が報告されているが、本稿ではクロス型チャンネルマイクロチップにおける DNA 試料の分析法を示す

図2 市販のマイクロチップ

Fig. 2. Commercial microchips.

(図 1)。まずチャンネルと各リザーバーに分離用ゲルとして利用できるセルロース誘導体などを含む電気泳動用緩衝液で満たし、サンプルリザーバーに DNA 試料を添加する(図 1A)。その後、図 1B に図示するように電圧を印加することにより数十秒で試料導入溝は DNA で満たされる(図 1C)。次に図 1D のように分離導入溝と分離泳動溝の交叉部に存在する DNA 溶液が分離泳動溝に流入してその DNA サイズに依存して分離される。この際、試料導入溝ではサンプルリザーバーとゲルリザーバーにも電圧を印加して戻し泳動を行い、試料導入溝からの分離泳動溝への余分な試料の流入を防ぐことが可能となる。分離泳動溝で泳動・分離された DNA は検出部において、半導体レーザーや発光ダイオードを用いた蛍光検出、さらに UV 検出の方法により検出される。従来のアガロース電気泳動とエチジウムブロマイド染色による DNA の検出感度は 1.0 ng/ μl 程度であるが、現在市販されているマイクロチップ電気泳動装置ではその検出感度は 0.1 ng/ μl と検出感度は高い。そして一回の解析にはピコリッター単位の DNA 試料が利用されるのみで、大部分の試料はサンプルウェルに残ることになる。市販化されているマイクロチップ電気泳動装置では、得られた情報は装置付属のソフトウェアで解析され泳動パターンの表示、DNA 鎖長の解析や疑似ゲルイメージなどが数分以内に表示される。

〈2・2〉 市販のマイクロチップ電気泳動装置とマイクロチップ アジレント、島津製作所や日立化成工業などからはマイクロチップ電気泳動装置や専用のマイクロチップが市販化されている。それぞれマイクロチップ電気泳動装置は、デスクトップ型パソコン大の泳動装置本体と専用の解析用ソフトウェアを有するノートパソコンで解析を行う。アジレント社より市販されている Agilent 2100 Bioanalyzer では DNA⁽⁷⁾、RNA⁽⁸⁾、タンパク質⁽⁹⁾および基本的なフローサイトメトリー機能を利用して細胞機能解析⁽⁴⁾が可能で、マイクロチップの材質として石英チップが使用されている(図 2A) DNA 試料の検出にはレーザー誘起分光(LIF)検出が利用されており、30 分で 12 サンプルの同時解析が可能となっている。島津製マイクロチップ電気泳動装

図3 内部標準 DNA の解析結果

Fig. 3. The data output of the assay of standard DNA on a microchip.

置 MCE-2010 LIF では DNA, RNA, タンパク質の解析が可能となっている。マイクロチップとしては石英チップが使用されており (図 2B), 試料 DNA の検出にはレーザー誘起蛍光法(LIF)が用いられている。さらに試料の導入を含め完全オートメーション化・自動化がなされており, 96 サンプルの連続自動解析が可能となっている。日立化成では 3 サンプル用(図 2C)と 12 サンプル用のマイクロチップがあり, それぞれ DNA および RNA の解析が 5 分程度で可能となっている。DNA 解析用マイクロチップの材料としては PMMA が使用され, DNA の分離材としては水溶性セルロース誘導体が用いられており, DNA 検出には蛍光検出が利用されている。以下に 3 サンプル解析用の日立 SV1100 形を用いた DNA 解析の結果を示す。

〈2・3〉 マイクロチップ電気泳動による DNA 解析の基礎

日立 SV1100 形を用いた DNA 解析では, 各々 2.0 ng/μl の 100 bp と 800 bp の DNA 断片を内部標準として利用することで, 100~800 bp の範囲で DNA サイズの測定が可能になる。そこで 100 bp から 800 bp の DNA サイズマーカーの電気泳動を行い, DNA サイズと移動時間について検討を行った(図 3)。そしてこれら DNA サイズマーカーを用いたマイクロチップ電気泳動のエレクトロフェログラムから (図 3A), 100 bp から 800 bp の DNA 断片は明確に分離されることが確認できる (図 3B)。これらの市販化されたマイクロチップ電気泳動装置については, スタンダードな DNA, DNA ラダーや PCR 産物などを用いた DNA 解析が多くなされておりその有用性が報告されている^{(10)~(12)}。しかしながら一般的な生物学, 生化学の分野やさらには臨床検査医学の分野で取り扱われる生物由来の DNA を用いた解析の報告は少ない。そこで我々は, 大腸菌から分離・精製した一般的な研究室レベルで使用される純度のプラスミド DNA, pUC118 を用いた日立 SV1100 形による DNA 解析を行いその信頼性を検討した⁽¹³⁾。3162 bp の pUC118 は制限酵素 *Pvu* II 処理により 2840 bp と 322 bp の 2 つの DNA 断片に切断される。従来の

図4 プラスミド DNA 断片の解析

Fig. 4. Analysis of *Pvu* II-digested pUC118 DNA fragments.

アガロース電気泳動では DNA サイズは大まかでしか判断されず, 電気泳動像だけでは DNA 濃度は判定することはできない (図 4A)。マイクロチップ電気泳動から得られるエレクトロフェログラム (図 4B) では, 内部標準である 100 bp と 800 bp の DNA 鎖の他に 2 本のピークが認められ, 解析データからそれぞれ 320 bp と 1451 bp の DNA 鎖長と判定された。日立 SV1100 形で DNA 鎖長が測定可能とされる 100~800 bp の範囲である 322 bp DNA 断片は 320 bp 鎖長と解析され, わずか 2 bp の誤差しか認めない一方, 測定範囲外とされる 2840 bp DNA 断片は 1451 bp と解析されておりサイズ測定の誤差は大きい。この解析データには既知濃度の内部標準のピーク強度を基準にして, 測定されたそれぞれの DNA 鎖の濃度も表示される。この場合, 20 ng/μl pUC118 を制限酵素 *Pvu* II で処理しており, 322 bp と 2840 bp のそれぞれの DNA 断片の濃度は約 2.0 ng/μl と 18 ng/μl になるが, 得られた解析結果からその誤差は 25.5%と 20.7%となっている。これらの結果, 制限酵素処理したプラスミド DNA を用いてもマイクロチップ電気泳動では正確な DNA サイズの測定が可能で, さらにある程度の定量性が期待できることが明らかになった。従来のアガロース電気泳動では電気泳動とそれに引き続くエチジウムブロマイドによる DNA の染色にそれぞれ 1 時間程度が必要で, 泳動結果が得られるまで 2 時間程度が必要であるが, このマイクロチップ電気泳動では図 4C に示す解析結果が得られるまで電気泳動開始からわずか 10 分以内であり, 高効率・高速な解析が可能であることが明らかになった。

次に DNA 濃度がサイズ測定, 濃度測定にどのような影響を及ぼすかを検討した。2~320 ng/μl の pUC118 を制限酵素 *Pvu* II で切断しマイクロチップ電気泳動を行った。この場合, 322 bp の DNA 断片は 0.2~32.6 ng/μl の濃度に, 一方の 2840 bp の DNA 断片は 1.8~287.4 ng/μl の濃度となる。エレクトロフェログラムから, 322 bp DNA 断片は移動時間がほぼ一定であるのに対して, 2840 bp DNA 断片は DNA 濃度が上昇するのに従い移動時間が短くなる結果が得られた。そして 100~800 bp の測定範囲内では DNA 断片のサイズ測定の正確性が認められたが, 高濃度になるに従いその定量性は低下した。このマイクロチップ電気泳動装置で測定範囲外とされる 2840 bp DNA 断片は濃度に依存して移動時間の

短縮が認められそのDNAサイズは短く見積もられるようになる。従来のアガロース電気泳動でDNAの分離を行う場合、あらかじめアガロースにエチジウムブロマ이드を加えて電気泳動を行うと、DNA量が多い場合には分子量の大きいDNA断片はその移動速度が相対的に速くなる現象が知られている。このマイクロチップ電気泳動では、あらかじめ分離用ゲルと使用する泳動用緩衝液にはエチジウムブロマ이드が含まれており、このためアガロース電気泳動と同様の現象が認められると考えられる。

3. マイクロチップ電気泳動の生物学的解析への応用

前述のようにマイクロチップ電気泳動によるDNA解析は、従来のアガロース電気泳動に比べ高速・高感度・省サンプルな解析が可能となっておりその利用価値は非常に高い。そしてさらにその特徴を生かして、分子生物学の分野での利用価値を高めることが可能かどうか応用性・発展性について検証した。pUC118をはじめプラスミドDNAは分子生物学などの分野で最も一般的に使用されているベクターであるが、これらプラスミドDNAを制限酵素処理で切断することは生物学や分子生物学等の分野では日常最も頻繁に行われる操作の一つと言っても過言ではない。従来、この制限酵素処理にはマイクログラム単位のDNAを酵素反応のために一時間以上処理し、さらにアガロース電気泳動と染色を行って、DNAの切断を確認している。そこで制限酵素処理をマイクロチップのサンプルウェルで直接行い、引き続きマイクロチップ電気泳動を行うことで高速・高感度な解析が可能かどうか検討した⁽¹³⁾。また最近、PMMA基板を用いたマイクロチップ電気泳動を用いて単糖の分離・解析が報告されている⁽¹⁴⁾。その他、その応用性を確認するためヒト血液を用いて血糖値の測定が可能かどうか検討しており、その結果も紹介したい。さらに、これら電気泳動による分離・解析のみならず、マイクロチップを用いることでミトコンドリア膜電位の測定など、細胞機能の解析に応用できることを明らかにしている⁽⁴⁾。

〈3・1〉 DNA 制限酵素処理とその解析 マイクロチップ上で直接DNAの制限酵素処理とその解析への応用の可能性について検討するため、サンプルウェルを酵素反応の場として利用し解析を行った。図5に示すようにサンプルウェルには10 μlの溶液を加えることが可能であり、そこでプラスミドpUC118と制限酵素活性に不可欠なMgCl₂、そして制限酵素Kpn I 1.0 μlと内部標準を計10 μlとしてウェルに添加した(図5A)。このマイクロチップを電気泳動装置にセットして、そのまま室温にて酵素処理と電気泳動による解析を行った。DNAとして制限酵素Pvu IIで切断済みのpUC118を用いているが、Pvu IIとKpn Iの二重消化で130, 192 および 2840 bpの3個のDNAに切断される(図5B)。アガロース電気泳動では分子量マーカーから各切断断片の大まかなサイズは推定されるが正確には判定できない(図5C)。ところでマイクロチップ電気泳動では、一回の解析で

図5 チップ上での制限酵素処理と解析
Fig. 5. Sequential analyses of *Kpn* I digestion of *Pvu* II-digested pUC118 DNA fragments.

分離泳動溝に流れる試料はピコリットルオーダーであり、ほとんどの試料溶液はサンプルウェルに残ることになる。そこで図5Aの条件で、チップをそのまま電気泳動装置本体にセットしたまま0, 5, 10, 15分後に電気泳動のスタートボタンを押すだけで系時的に解析を行った。図5Dにそのエレクトロフェログラムを示す。0分では内部標準の100 bpと800 bp間にpUC118 *Pvu* II断片である322 bp DNA断片と、それ以外の2840 bpに相当するピークを認める。5分後には大部分の322 bp DNAが*Kpn* Iで消化されており、130 bpと192 bp DNAに相当する2本のピークが観察され、10分後には322 bp DNAは完全に消化されることが認められた。解析データから、10分後では130 bpと192 bp DNAは各々127 bpと183 bpと解析されており、誤差はわずか3および9 bpであった。定量性においては、それぞれ40%と37%の誤差が認められたが、酵素処理開始後20分以内でこれらの解析結果を得ることができた。以上のようにマイクロチップのサンプルウェルを酵素反応の場と利用することで、直接DNAを制限酵素処理し引き続き系時的に電気泳動を行うことでほぼリアルタイムにDNAの消化を確認することができる。これらの特長を生かすことで、制限酵素のkinetic analysisやジーンバンク作成時のDNA切断への応用が可能となる。さらに医療の分野ではハイスループットな制限酵素切断断片長多型の診断が容易になると考えられる。

〈3・2〉 その他の応用性について マイクロチップ電気泳動では核酸やタンパク質の他、グルコースをはじめとする単糖の解析についても報告されている⁽¹⁴⁾。そして我々はヒトプラズマを用いて、2-aminoacridone (AMAC)で血糖を蛍光標識して標準グルコースを対照とすることで、マイクロチップ電気泳動により血糖値の迅速な測定が可能であることを確認している(図6)。また基本的なフローサイトメトリー機能を有するAgilent bioanalyzer 2100を用いるこ

図6 血糖値の測定

Fig. 6. Determination of blood sugar with the microchip electrophoresis.

とで、ミトコンドリア膜電位の測定が可能であることを報告している⁽⁴⁾。ミトコンドリアは細胞のエネルギー産生機関としてだけでなくアポトーシスにも深く関与することが知られており、細胞にアポトーシスシグナルが加わるとミトコンドリア膜電位の喪失などの透過性遷移が起こり細胞質へのチトクロム c 漏出を介して細胞死にいたることが知られている。さらに臨床面ではミトコンドリア病などのミトコンドリア機能異常を有する疾患では、ミトコンドリア膜電位を測定することで確定診断を行っている。従来は膜電位の測定には FACS などを用いていたが、測定には大量の細胞が必要なこと、機器が高価でありそしてその操作には熟練さが要求されるなどの欠点があった。一方、マイクロチップを用いることで、FACS に比較して必要な細胞量は 1/10 以下、廉価で操作が簡単という特徴があり、今後は臨床診断の面でも注目されるものと予想される。

これらの結果を踏まえ、マイクロチップ電気泳動は DNA を中心とする核酸の解析のみならず、酵素反応の解析やその他、血糖をはじめとする臨床診断マーカーなどその応用範囲は大きいと考えられ、今後益々その適応範囲は拡大するものと考えられる。

(平成 18 年 5 月 25 日受付)

文 献

- (1) L. Zhang, F. Dang, and Y. Baba : "Microchip electrophoresis-based separation of DNA", *J Pharm Biomed Anal*, Vol.30, No.6, p.1645-1654 (2003)
- (2) M. Tabuchi, Y. Kuramitsu, K. Nakamura, and Y. Baba : "A 15-s protein separation employing hydrodynamic force on a microchip", *Anal Chem*, Vol.75, No.15, pp.3799-3805 (2003)
- (3) F. Dang, L. Zhang, M. Jabasini, N. Kaji, and Y. Baba : "Characterization of electrophoretic behavior of sugar isomers by microchip electrophoresis coupled with videomicroscopy", *Anal Chem*, Vol.75, No.10, pp.2433-2439 (2003)
- (4) M. Kataoka, Y. Fukura, Y. Shinohara, and Y. Baba : "Analysis of mitochondrial membrane potential in the cells by microchip flow cytometry", *Electrophoresis*, Vol.26, No.15, pp.3025-3031 (2005)
- (5) L. B. Koutney, D. Schmalzing, T. A. Taylor, and M. Fuchs : "Microchip electrophoretic immunoassay for serum cortisol", *Anal Chem*, Vol.68, No.1, pp.18-22 (1996)

- (6) L. M. Fu, R. J. Yang, and G. B. Lee : "Electrokinetic focusing injection methods on microfluidic devices", *Anal Chem*, Vol.75, No.8, pp.1905-1910 (2003)
- (7) N. J. Panaro, P. K. Yuen, T. Sakazume, P. Fortina, L. J. Kricka, and P. Wilding : "Evaluation of DNA fragment sizing and quantification by the agilent 2100 bioanalyzer", *Clin Chem*, Vol.46, No.11, pp.1851-1853 (2000)
- (8) C. L. Miller, S. Diglisic, F. Leister, M. Webster, and R. H. Yolken : "Evaluating RNA status for RT-PCR in extracts of postmortem human brain tissue", *Biotechniques*, Vol.36, No.4, pp.628-633 (2004)
- (9) R. Ohashi, J. M. Otero, A. Chwistek, and J. F. P. Hamel : "Determination of monoclonal antibody production in cell culture using novel microfluidic and traditional assays", *Electrophoresis*, Vol.23, No.20, pp.3623-3629 (2002)
- (10) L. Zhang, F. Dang, and Y. Baba : "Stepwise gradient of linear polymer matrices in microchip electrophoresis for high-resolution separation of DNA", *Electrophoresis*, Vol.23, No.14, pp.2341-2346 (2002)
- (11) F. Xu, J. F. abasini, and Y. Baba : "DNA separation by microchip electrophoresis using low-viscosity hydroxypropylmethylcellulose-50 solutions enhanced by polyhydroxy compounds", *Electrophoresis*, Vol.23, No.20, pp.3608-3614 (2002)
- (12) L. Ding, K. Williams, W. Ausserer, L. Bousse, and R. Dubrow : "Analysis of plasmid samples on a microchip", *Anal Biochem*, Vol.271, No.11, pp.2241-2247 (2004)
- (13) M. Kataoka, S. Inoue, K. Kajimoto, Y. Shinohara, and Y. Baba : "Usefulness of microchip electrophoresis for reliable analyses of nonstandard DNA samples and subsequent on-chip enzymatic digestion", *Eur J Biochem*, Vol.271, No.11, pp.2241-2247 (2004)
- (14) E. Maeda, K. Hirano, Y. Baba, H. Nagata, and M. Tabuchi : "Conformational separation of monosaccharides of glycoproteins labeled with 2-aminoacrydone using microchip electrophoresis", *Electrophoresis*, Vol.27, No.10, pp.2002-2010 (2006)

片 岡 正 俊

(正員) 1962 年 2 月 16 日生。1986 年徳島大学歯学部卒業, 1990 年徳島大学大学院歯学研究科修了。徳島大学歯学部助手, ゲノム機能研究センター助教授を経て 2006 年産術研健康工学センター主任研究員。薬物誘発性歯肉増殖症の発症機構とナノバイオデバイスの研究に従事。歯学博士。

木 戸 淳 一

(非会員) 1957 年 10 月 31 日生。1983 年徳島大学歯学部卒, 1987 年徳島大学大学院歯学研究科修了。徳島大学歯学部助手, 同附属病院講師, 同歯学部助教授を経て 2004 年より徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部助教授。専門はバイオマーカーを用いた歯周病診断。歯学博士。

篠 原 康 雄

(正員) 1961 年 8 月 12 日生。1984 年 3 月徳島大学薬学部卒業, 1990 年 3 月徳島大学大学院薬学研究科博士後期過程修了。徳島大学薬学部助手, 助教授を経て 2002 年より徳島大学ゲノム機能研究センター教授。薬学部教授を兼務。専門はミトコンドリアの機能とエネルギー代謝。薬学博士。