DNA チップを作製する

竹中 繁織

微小空間に DNA を高密度に固定化した DNA チップは、多種類の遺伝子の同時解析を可能にしてきた¹⁾。現在では、ヒトの遺伝子のすべてをひとつの DNA チップに搭載することも夢ではなくなってきた²⁾。DNA チップを作製する手法としては、基板上で DNA 合成を行うものと合成した（または調製した）DNA を基板上へ固定化するものが知られている¹⁾。基板上で DNA 合成を行う手法の例として、i) Southern らの物理的に反応場所を限定しながら基板上で DNA 合成を行う手法（スキャニングアレイと呼ばれている）、ii) フォトリソグラフを利用した米国 Affymetrix 社の手法や iii) 米国 Agilent 社の基板上の微小領域にインクジェットで試薬を吹き付けて合成を行う手法が知られている。一方、DNA を基板上へ固定化する手法の例としては Stanford 大学の Brown らによって行われてきた手法がある。すなわち、万年筆を小型化したようなピンを作製し、これを DNA 溶液につけた後、ポリリジンコートしたスライドガラスにスポッティングすることにより、数 nL の DNA 溶液を基板上へ直径数百 μm の円として固定化する。スポット後 UV 光を照射することにより DNA を基板上にさらに強固に固定化できる。固定化効率を上げるためにスライドガラス表面はアミノプロピルシランによる処理が行われているが、現在では、活性化エステルなどさまざまな官能基による表面修飾スライドガラスが購入できるようになってきた。また、試料 DNA と DNA チップとの反応効率（ハイブリダイゼーション効率）を向上するため、DNA が横たわった状態で固定するのではなく DNA 末端部位のみの固定化も行われてきている。

最近、筆者らのグループを含め金コートスライドガラス上への DNA 固定化が行われてきている³⁾。たとえば、アビジンコートした金表面へ、ビオチン化 DNA をスポットすることにより DNA チップ作製する手法である。しかし、この手法では表面のみの固定化なので固定化量に限界があった。そこでスライドガラスの基板表面にポリマーをコートして、このポリマーへ DNA を固定化する試みが行われてきている。この手法では固定化量を増やすことができるため、ペプチドやタンパク質などを固定化するプロテインチップ作製においてとくに有用である。

DNA チップは、シリコンウエハのような基板上に多数の微小電極を作製することにより得られる集積化マルチ電極を利用しても作製されている。米国 Nanogen 社は電気化学的手法を利用した DNA チップ作製法を報告してい

図1 チオール化 DNA の金基板上への固定化とマスティング剤による基板上での DNA の配列化

る¹⁾。電極表面上アビジンを保持させたゲルを固定化し、特定の電極に電位をかけることによって特定の電極上にビオチン化 DNA プローブを電気泳動させる。泳動してきた DNA は、特定電極上でアビジンと結合して固定化される。また、最近では、CombiMatrix 社は、電位を加えた部位では試薬の反応が起こらないようにさせ、特定電極で DNA 合成を行わせることによって DNA チップの作製に成功している⁴⁾。筆者らは、前処理した金電極上にチオール化 DNA プローブを作用させることにより DNA 修飾電極を作製した⁵⁾。この際、金表面には一部の DNA が物理的に吸着される。これを軽減するためには DNA プローブを固定化後に、ヒドロキシアリカンチオールでマスティングすることが効果的である（図1）。

現在、DNA チップからプロテインチップ、糖チップ、細胞チップへと研究が進んでいる。いずれの場合も基板表面の微小空間への構造変化を伴わない化学修飾がきわめて重要である。すなわち、無機材料と有機材料とのインターフェイスが重要といえる。これらを考慮した効果的な固定化制御がチップ技術を利用した次世代のバイオデバイスの鍵となることは間違いない。

文 献

- 1) M. Schena, Ed.: "Microarray Analysis," John Wiley & Sons Inc., 2003
- 2) P. Aldhous: *Nature*, **424**, 610 (2003)
- 3) J. J. Gooding, F. Mearns, W. Yang, J. Liu: *Electroanalysis*, **15**, 81 (2003)
- 4) K. Dill, D. D. Montgomery, W. Wang, J. C. Tsai: *Anal. Chim. Acta*, **444**, 69 (2001)
- 5) S. Takenaka, K. Yamashita, M. Takagi, Y. Uto, H. Kondo: *Anal. Chem.*, **72**, 1334 (2000)