

DNAチップ、細胞チップの実用化研究

中央研究所 谷野克巳 藤城敏史 富田正吾* 高林外広 吉田 勉 大永 崇 本保栄治 森本英樹
長柄毅一** 氷見清和 横山義之***

機械電子研究所 藤井弘之 角崎雅博 浅田峯夫 寺澤孝志 清水孝晃 釣谷浩之**** 牧村めぐみ
PJ推進担当 松本岩男 鍋澤浩文 小幡 勤 富山県新世紀産業機構派遣研究員 橋岡真義
富山医科薬科大学 北陸先端科学技術大学院大学 (株)ニッポンジーン コーセル(株) 立山科学工業(株)
東洋化工(株) (株)リッチェル (株)斉藤製作所 県衛生研究所 日立ソフトウェアエンジニアリング (株)

1. 結 言

本研究では、糖尿病等生活習慣病になりやすい体質を診断するDNAチップの開発を目的として、インピーダンス測定法によるハイブリダイゼーションの検出データの信頼性を図るため、プローブDNAと金電極構造などの最適化を図るとともに、データ変動要因の追求とその除去、検出手順・操作の最適化、ハイブリダイゼーションの最適温度の探索とその精密制御などを検討した。また、DNAに対して新規有機付加剤などの導入を行い、測定データのS/N比の向上を図った。

また、細胞チップの実用化研究では一個のウェルに一個のリンパ球のみが入るマイクロウェルチップを開発することを目的として、1cm角程度のチップ上に径が10 μ mのウェルを規則正しく数十万個配列したものを作製し、ウェル穴位置の確認方法及び濃度の薄いリンパ球でも効率よく入るウェル形状などについて研究を行った。また、コスト低減のためチップ材料として樹脂を使ったウェルチップの開発を試みた。

なお、本研究は文部科学省並びに財団法人富山県新世紀産業機構にすでに報告済みである。

2. 実験結果

(1) 電極構造の最適化

金電極形成後、液溜り(グリーンマスク)をDNAチップに設け、電極面積を一定とした。さらに、最後にO₂プラズマで微細な有機物を完全

に取り除く表面洗浄を行った。その結果、交流インピーダンス法の測定で、アッシング前後で一桁以上の感度の向上とほとんどバラツキのない再現性がある電極を作製することが出来た。その結果、測定再現性も95%以上の結果が得られた。また、別容器中でハイブリダイゼーション処理後に電極にDNAを固定する方法(液中ハイブリダイゼーション法)を開発した。

(2) ウェル位置検出精度の向上

ウェル位置検出用マーカは蛍光材料をチップ上に配置することで実現した。各クラスターに行列番号を添付することで、蛍光顕微鏡などでの観察の際、簡単に自分の視野にあるクラスターの同定ができる。この行列番号は微細加工技術により約20 μ m前後のサイズで鮮明に作製した。また、細胞検出用蛍光読み取り装置の検出精度を向上したことにより、ウェルギャップが5 μ mのチップでも、ほぼ100%の検出精度を得た。

(3) 樹脂ウェルチップの開発

シリコンスタンプを型として、樹脂の射出成形法で樹脂ウェルチップを作製した。樹脂チップでは、①シリコンと比較してやや撥水性が強いがアレイ率はシリコンチップ並である、②チップが透明なため透過光での操作が可能、かつ細胞の採取が容易、などの結果が得られた。リンパ球の採取率は95%以上となり、特許を出願した。また、数千ショットを超える成形においてもシリコンスタンプに問題がなく、量産化の見込みを得た。

なお、本研究の内、DNAチップは昨年度国内出願した特許のPCT出願を行った。また、細胞チップ関連ではシリコンチップ関係で3件、樹脂チップ関係で1件、熱感応性樹脂関係で1件の国内特許出願を行った。また、本研究の一部は若い研究者を育てる会の研究発表会でも報告した(研究論文集あり)。

* 現 商工企画課

** 現 富山県新世紀産業機構

*** 現 機械電子研究所

**** 現 中央研究所