

# 生活習慣病等体質診断用 DNA チップの検出精度向上に関する研究(3)

電子技術課 牧村めぐみ、寺澤孝志、釣谷浩之\*、角崎雅博 機械システム課 清水孝晃  
 中央研究所 横山義之\*\*、藤城敏史、谷野克己  
 若い研究者を育てる会 碓井洋平、中林俊幸、中山均

## 1. 緒言

最近、肥満・糖尿病等の生活習慣病の発病と遺伝子の因果関係が指摘されており、体質を事前に知ることにより予防できる可能性が示唆されている。本研究ではこれらの病気発病と関連のある SNP's 配列をプローブ DNA およびターゲット DNA として用い、ハイブリの有無を高精度で検出する DNA チップの開発および電気化学的測定法の確立を目的とした。

## 2. 実験方法

### 2. 1. DNA チップ用電極の作製

DNA チップ用電極はパイレックスガラス(コーニング#7740, 1mm 厚)基板上に Au による電極パターンを形成することにより作製した。端子部は 2.5mm ピッチとし、ライン&スペースが 60 μm で、片側の電極面積は 1.4mm<sup>2</sup> のくし型電極である。

### 2. 2. 交流インピーダンス測定法

交流法による DNA チップのインピーダンス測定はハイブリの有無を電極界面の反応の情報として対比することができる。

$$Z = R_{sol} + \frac{1}{j\omega C_{dl}} \quad (1)$$

$R_{sol}$ : 溶液抵抗  $C_{dl}$ : 電気二重層容量

(1)式より、容量変化に伴うインピーダンス値の変化を利用することでハイブリの有無を判別する。

## 3. 結果及び考察

### 3. 1. 電極面積の固定

電解液の滴下量一定の条件下において、滴下後の液滴形状により有効電極面積が変化し、測定値が不安定になった。そこで各電極セル以外の配線部を覆う液溜り(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。その結果、図 1 に示すように測定値が安定した。

\* 現 中央研究所 \*\* 現 機械電子研究所

### 3. 2. ハイブリ方法の改良

別容器中でハイブリ処理後電極に固定する方法である液中ハイブリ法では、ハイブリを両 DNA が能動的な条件下で行うため、ハイブリ効率が向上し、測定結果の高感度化が計られ、完全一致 DNA と不一致 DNA を用いた実験において、インピーダンスの差からハイブリの有無を判別できることが可能となった。(図 2)

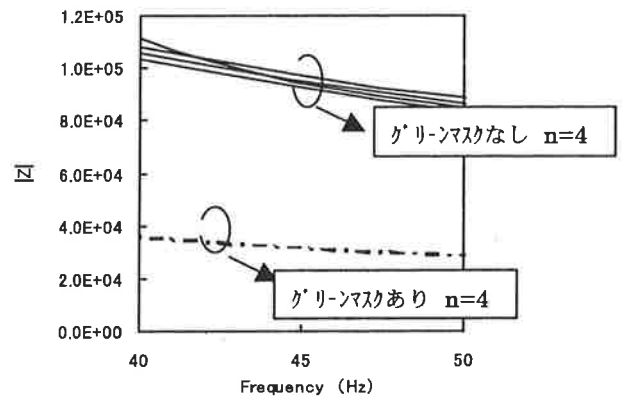


図 1 グリーンマスクの効果

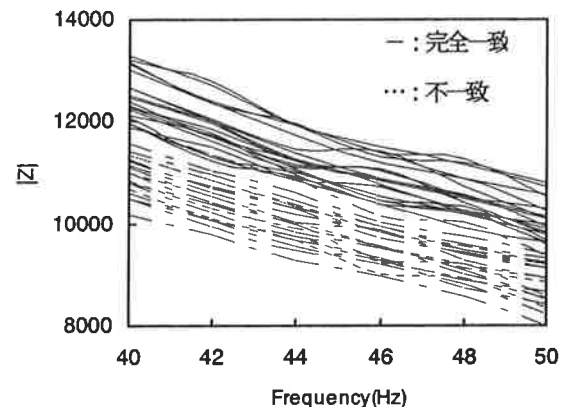


図 2 完全一致と不一致 DNA の測定結果

## 4. まとめ

- ① 液溜りを DNA チップに設け電極面積を一定にすることで、測定値を安定させることが出来た。
- ② 液中ハイブリ法により、ハイブリ効率を向上させ、完全一致と不一致 DNA においてハイブリの有無を高精度に検出することが出来た。