

核酸検出小型・簡易バイオセンサ

田畑美幸、宮原裕二

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

専門分野・キーワード：バイオセンサ、生体材料

自己紹介：身近なものをセンシングすることに興味があり、

実装・システム化の専門家とアイデアをシェアしたいです。



核酸定量技術である PCR (Polymerase Chain Reaction) は疾病の診断、病原菌の同定など医療分野で広く利用されている。PCR は蛍光ラベリングによる光学検出法を用いているが、高価な試薬や測定機器、煩雑な操作を要するという課題がある。一方で、半導体技術を使しセンサを高度に集積化した電気化学的核酸定量デバイス⁽¹⁾は市販されているものの、温度変化による半導体特性の変化やノイズの低減等の課題がある。そこで我々のグループは、安定電位計測を実現するために、等温核酸増幅法と pH 検出を組み合わせた電位計測方式小型核酸定量デバイスの開発を試みている。具体的に、等温核酸増幅法には Three-way junction primer-generation rolling circle amplification (3WJ PG-RCA)⁽²⁾を利用した。乳がんに関連しているターゲット microRNA の配列に応じてデザインした各オリゴ核酸を用いた Ligation 反応後、60°C で 2 時間 3WJ PG-RCA を行い、プロトンセンシングによる電気的な核酸定量検出を試みた。標準電極電位はイオン種の活量に比例するため、核酸伸長反応中におけるプロトンの増加を電位変化として計測することができる。計測には典型的なプロトン感応材料である Ir/IrO_x を選択し、熱酸化法により直径 300 μm のニードル型電極を作製した。作製したマイクロ pH 電極は -57.5 mV/pH の感度を有し、室温での理論値 -59.2 mV/pH に近い値を示したことから優れたプロトン応答性を有していることが明らかとなった。この電極を用いて 3WJ PG-RCA の pH 変化を計測した結果、ターゲット核酸が存在する場合において明らかな pH の減少が認められた。これらの結果より pH 検出型電気的計測デバイスを用いて安定電位計測の下、非標識に核酸を検出できる可能性を見出した。スマートフォン接続型生体情報センサに代表される小型バイオセンサが続々と提案されている現在、本センサが大病院だけでなく患者宅においても簡便で気軽な疾病検査プラットフォームとなることが期待される。

謝辞

本研究の一部は国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) の研究成果展開事業「センター・オブ・イノベーション (COI) プログラム」、生体医歯工学共同研究拠点、JSPS 科研費 18K18361、公益財団法人日本板硝子材料工学助成会の支援によって行われた。

⁽¹⁾ C. Toumazou, et al.: "Simultaneous DNA amplification and detection using a pH-sensing semiconductor system", Nat. Methods 10 (7), 641-646, (2013)

⁽²⁾ T. Murakami, et al.: "Sensitive RNA detection by combining three-way junction formation and primer generation-rolling circle amplification", Nucleic Acids Res. 40 (3) e22, (2012)