

ポータブルな高速DNA分析デバイス

医療処置が必要なその場での高度診断・治療への道を拓く

半導体微細加工技術を用いて、励起光源と一体化が可能なマイクロ蛍光検出センサを開発した。フルオレセインの検出限界濃度は7nMである。マイクロ流体電気泳動チップと組み合わせたコンパクトなデバイス（図1）で、高速、高感度、高分解能でDNA断片の分離・検出に成功した。この技術は、DNA、RNA、タンパク質、糖鎖などの高速分析用装置への発展も可能であり、医療処置が必要な「その場（Point-of-Care）」での高速バイオ分析に道を拓くものである。

A micromachined fluorescence detector has been developed in which an optical interference filter is monolithically integrated and patterned on an amorphous silicon photodiode. The detector can be combined with an excitation light source and the limit of detection is as low as 7 nM of fluorescein concentration. We have also succeeded in the separation and detection of DNA fragments with a high speed, a high sensitivity and a high separation efficiency, using a compact device combining the micromachined fluorescence detector and a microfluidic electrophoresis chip (Fig.1). This technology will constitute a basic platform to realize compact diagnostic devices, enabling high-speed point-of-care analysis of DNA, RNA, proteins, saccharide chains, etc.

亀井 利浩 かめいとしひろ

toshi-kamei@aist.go.jp

エレクトロニクス研究部門 機能集積システムグループ 主任研究員
健康工学研究センター 生体ナノ計測チーム兼任（つくばセンター）

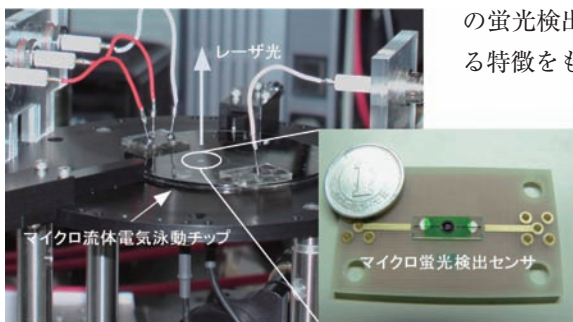
1980年代後半、日本経済は空前の繁栄を極め、安藤忠雄設計のコンクリートの打ち放しが立ち並び、華やいだ雰囲気の中で、レーザー分光や磁気共鳴を用いて、分子の励起電子状態を調べるという超地味なテーマから研究をスタート。電総研に入所してから8年間、アモルファスシリコンや微結晶シリコンなど、薄膜シリコン太陽電池材料の研究に従事する。2000年4月米国シリコンバレーに留学してみると、またもや、そこはバブル。1年間、遊学した後、これまで蓄積してきたレーザー分光や薄膜シリコンの技術を組み合わせて、マイクロ流体バイオ分析の研究を始めた。



社会的ニーズ

最近のヒトゲノム解読や疾病の分子レベルでの理解の進歩にともない、疾病マーカー分子や、個々人の遺伝情報の違いによる疾病のわかりやすさ、薬の副作用の違いなど、数多くのことが判明してきている。

しかし、それらの成果を直接、手術中や救急車での搬送中など緊急医療や災害現場での治療に役立てるには、疾病マーカーをその場で高速に検出・同定し、患者の遺伝的体質を迅速に判定することが必要になる。また、通常の医療現場でも患者の遺伝情報に基づく診断・投薬・治療（テーラーメイド医療）が求められ、現場ですぐに使える高速で高精度なポータブル分析装置に対するニーズが高まっている。



コンパクトな蛍光検出センサをめざして

極少量のサンプルを、高速、高精度で分析できるマイクロ流体バイオチップが開発されてきたが、共焦点レーザー誘起蛍光顕微鏡のような巨大で高感度な検出システムを用いて測定しなければならないのが現状である（図2）。

われわれは、検出器を含めたシステム全体を小型化することができれば、ポータブルな高速バイオ分析デバイスが実現できると考え、そのようなポータブル装置の鍵となる、励起光源と一体化が可能なマイクロ蛍光検出センサを半導体微細加工技術を用いて、開発した（図3）。

蛍光検出に適したアモルファスシリコン

アモルファスシリコンはバイオ分析用の蛍光検出センサとして理想的と言える特徴をもっている。

図1 マイクロ蛍光検出センサを実装したポータブルな高速DNA分析装置

- (a) バイオ分析に使われる多くの蛍光色素の蛍光は500nmから600nmの可視光領域にあり、この領域でアモルファスシリコンの吸収係数は結晶シリコンに比べて1桁以上高い。
- (b) 室温で低ノイズ測定ができるので、冷却装置の必要がなく小型化に有利である。

半導体デバイスでは幾何学構造が重要！

今回、開発したマイクロ蛍光検出センサの大きな特長は、図3 (A) のように、励起光源と蛍光検出センサをマイクロ流体電気泳動チップに対して同じ側に、また、同軸に配置している点にある。これは、図3 (B) のように、透明なガラス基板の上にアモルファスシリコン・フォトダイオードと光学干渉フィルターをモノリシックに集積化し、その中央にレーザー光導入のためのピンホールを形成したことにより可能になっている。この配置により、励起光源と蛍光検出センサを集積化したモジュールを形成でき、光軸調整が非常に容易に行える。

高速・高感度・高分解能のDNA断片分離に成功

図3のマイクロ蛍光検出センサは、アモルファスシリコン・フォトダイオード上に厚膜の $\text{SiO}_2/\text{Ta}_2\text{O}_5$ 光学干渉フィルターを集積・パターンニングして作製した。マイクロチャンネル中を流れる蛍光色素で標識されたサンプルを半導体レーザーにより励起し、色素からの蛍光をマイクロレンズで収集・並行化し、光学干渉フィルターにより蛍光だけを透過させてアモルファスシリコン・フォトダイオードで検出する。このマイクロ蛍光検出センサのフルオレセインの検出限界濃度は7 nMであり、実用レベルに達している。

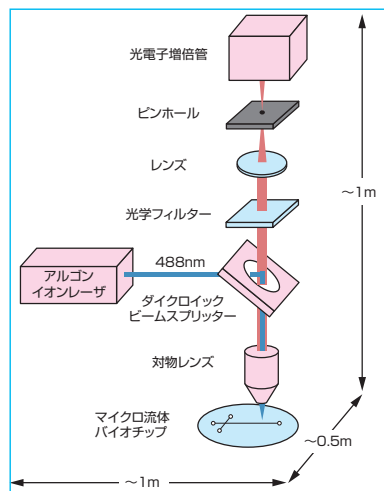


図2 現状の共焦点レーザー誘起蛍光顕微鏡を用いたマイクロ流体バイオチップ測定システム。大型、レーザーと光検出デバイスは非同軸配置のため集積化が難しい。

さらに、マイクロ流体バイオチップによって11種類の長さのDNA断片(制限酵素*Hae* IIIで Φ X174バクテリオファージDNAを切断したもの)を電気泳動で分離して、その検出に成功した(図4)。検出デバイスも含めて、手のひらサイズの非常にコンパクトなデバイスで、高速(2分程度)、高感度(DNAの検出限界約250pg/ μL)、高分解能(理論段数約70000)の電気泳動分離が可能となった。

今後の予定

性能面では、検出限界をフルオレセイン濃度で1~2nMまで低減することが当面の目標である。これが実現

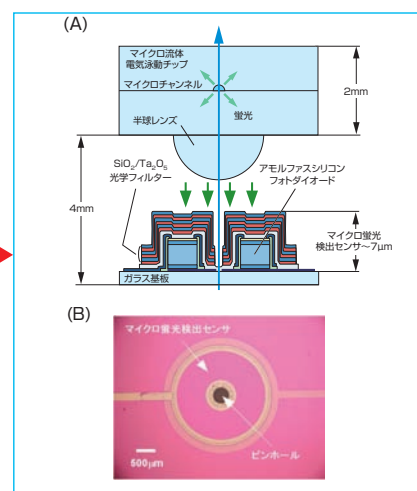


図3 (A) 今回開発のマイクロ蛍光検出センサを用いたマイクロ流体バイオチップ測定システムの断面構造 (B) 上から見たマイクロ蛍光検出センサの光学顕微鏡写真

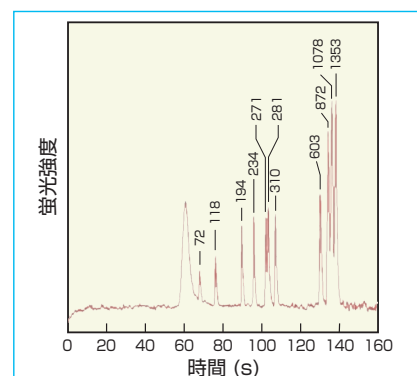


図4 11種類の長さのDNA断片をマイクロ流体電気泳動分離して、マイクロ蛍光検出センサにより検出した。DNA濃度:100ng/ μL 。

すれば、さらに高度な分析、例えば、DNAシーケンシングが可能になる。

関連情報 (参考文献) :

- 共同研究者：石川満、和田雄人 (富士アドバンテストテクノロジー)
- プレス発表 2006年8月31日：「ポータブルな高速DNA分析装置を開発」
- 新聞記事：日刊工業新聞 (2006年9月1日)、日経産業新聞 (9月1日)、化学工業日報 (9月4日)、毎日新聞 (9月13日)
- T. Kamei *et al.*, "Integrated Hydrogenated Amorphous Si Photodiode Detector for Microfluidic Bioanalytical Devices", *Anal. Chem.*, **75**, 5300 (2003);
T. Kamei *et al.*, "Microfluidic Genetic Analysis with an Integrated a-Si:H Detector", *Biomedical Microdevices*, **7**, 147 (2005);
T. Kamei *et al.*, "Contact-lens type of micromachined hydrogenated amorphous Si fluorescence detector coupled with microfluidic electrophoresis devices", *Appl. Phys. Lett.*, **89**, 114101 (2006)