

非標識かつ抗体フリーなメチル化 DNA 検出が 可能なセンサデバイスの開発

東京大学生産技術研究所 南 豪

血液や尿などの体液中に含まれる各種生体成分を検出することは、病気の早期発見や診断、さらには治療方針を決定する上で極めて重要であり、診療現場等における標的化学種のオンサイト分析技術の開発は必要不可欠である。より高度な生体情報の診療応用例として、近年では遺伝子情報に基づき個々人に合わせた適切な治療を行う試み（テーラーメイド医療）が提案されている。特に、DNA メチル化に代表される後天的遺伝子発現の変化（エピジェネティクス）はガン等の疾患に関与していることが報告されており、その検知は意義深い。しかしながら、その医療応用に関しては広く普及しているとは言い難く、その一因として、簡便かつ洗練された DNA メチル化情報のオンサイト分析技術が確立されていないことが挙げられる。エピジェネティクス分析において重要な標的となる DNA 中のメチルシトシン検出としては、Bisulfite 反応に基づく手法が一般的であるが、1) 数時間にわたる長い反応時間が必要、2) 酸性反応条件下でみられる DNA 内脱プリン反応による信頼性低下 などの欠点が知られている。さらに、電気泳動装置や光学プローブによる標識など、煩雑な前操作や工程が必要となることも、診療現場でのメチルシトシン検出実現への障壁となる。また、メチルシトシン認識抗体に基づくイムノアッセイ法では、一般的に DNA メチル化の総量情報しか得ることができず、任意のシトシンがメチル化しているかを判別することは困難であった（=シーケンス選択性に欠ける）。また、標識酵素や抗体は天然由来物質であり、化学的安定性に欠け、大量合成が難しいことから、汎用的な分析技術としての普及を妨げる要因となる。これらの背景から、簡便かつ迅速に化学情報を分析するアプローチとして、マイクロ全分析システムの開発が国内外で盛んに取り組まれている。このようなマイクロセンサデバイスでは、小型のチップ上に化学種の分離・検出機能を集積化することで、極少量の測定溶液においても高感度な測定が達成できる。しかしながら、DNA メチル化情報をマイクロセンサデバイスにより再現良く取得するためには、マイクロデバイスに導入可能な検出機構の構築が必要となる。従前の Bisulfite 法ではスループットの向上が難しく、イムノアッセイ法は抗体材料の不安定性からデバイス化が困難である。

エピゲノム情報の実際的な医療応用のためには、より簡便かつ洗練されたメチルシトシン検出機構の確立とそのデバイス化が必要と考え、長大な反応時間や煩雑な標識・分離操作、さらには抗体や標識剤に依らない、新しいエピゲノム情報検出デバイスの創製が求められる。そこで本研究では、デバイス化が容易な「金薄膜」をプラットフォームとした検出機構を構築することで、マイクロセンサデバイスによる簡便・迅速な DNA メチル化検出法の開

発に挑んだ。メチルシトシン特異的な捕捉を達成するにあたり、金属配位能を有するビピリジン修飾電極を用いることで、錯体形成反応に基づくデバイス電極上でのメチルシトシンの捕捉・検知を試みた。まず、蒸着法によって形成した金薄膜上に対し、チオール含有ビピリジン誘導体を共有結合を介して SAM として固定化した。ビピリジン SAM 修飾電極を、シトシンないしメチルシトシンと反応剤（オスミウム酸カリウム及びヘキサシアノ鉄酸カリウム）を共存させた水溶液中に浸漬した後、有機トランジスタ（OFET）を用いた電位差測定によって反応前後の電位変化を観察した。その結果、メチルシトシン水溶液への浸漬時にのみ、電気特性の変化が観察された。本知見は、ビピリジン SAM 修飾された金薄膜と錯形成反応を組み合わせることでメチルシトシンを検出可能なセンサデバイスを容易に構築できることを示しており、今後のエピゲノム情報解析デバイスの開発に向けた指針が得られた。今後、DNA 配列中に含まれるメチルシトシン検出を検討し、当該デバイスの実試料分析能の評価をすることで、オンサイト環境でのエピゲノム情報解析に向けたデバイスプラットフォーム構築に挑んでいく。