

微粒子誘電泳動を応用した DNA 高速検出法の開発 (2)

Rapid DNA Detection Based on Dielectrophoresis of Microbeads (2)

九大シス情, °中野 道彦, 丁 震昊, 笠原 弘道, 尾原 稜司, 末廣 純也

Kyushu Univ., °Michihiko Nakano, Zhenhao Ding, Hiromichi Kasahara, Ryoji Obara, Junya

Suehiro

E-mail: nkano@ees.kyushu-u.ac.jp

序論

同時投稿の (I) において, ウイルス検査等に用いられる PCR (polymerase chain reaction) 後の DNA を微粒子の誘電泳動を応用して検出する方法を示した⁽¹⁾。これは, 対象 DNA を誘電体微粒子に結合し, 微粒子の誘電泳動の向きを変化させて, その DNA 結合微粒子を選択的に微細電極に捕集する。誘電泳動インピーダンス計測法 (DEPIM)⁽²⁾と組み合わせて, DNA を電氣的に検出することが可能である。ここでは, 実際にウイルス由来 RNA からの増幅 DNA を検出した結果を示す。

実験方法

HIV (human immunodeficiency virus) 由来 RNA から逆転写 PCR によって片端にビオチンが結合した DNA (144bp) を増幅し, その DNA とポリスチレン微粒子をアビジン/ビオチン反応で結合させた。DNA 結合に伴う誘電泳動の変化を観察し, その DEPIM 測定も試みた。

増幅 DNA は, PCR 後にゲル濾過スピンカラムで精製 (5 分) し, 余剰のプライマーを取り除いた後, 直径 $2.8\ \mu\text{m}$ の表面をアビジンで修飾したポリスチレン粒子と 15 分間、室温で反応させた。最終的に, イオン交換水に懸濁した。

キャッスルウォール型電極 (最短ギャップ: $5\ \mu\text{m}$) を用いて, 正弦波電圧 (100 kHz) を印加して, 誘電泳動を観察した。また, 試料溶液を電極上に滴下し, カバーガラスを被せ, 正弦波電圧を印加して, DEPIM 応答を取得した。

実験結果

DNA 結合有無による誘電泳動の様子を Fig.1 に示す。DNA 結合前は電極から反発する負の誘電泳動を示していたが, DNA 結合によって電極の最短ギャップに集積する正の誘電泳動を示した。Fig.2 に DNA 結合粒子の DEPIM 応

答を示す。DNA 結合微粒子では, 誘電泳動捕集に伴うコンダクタンスの上昇が計測された。

結論

本稿では, 新しく考案した微粒子の誘電泳動を用いた DNA の検出法について, その実験結果を示した。本法により, 20 分程度で DNA を確認できる。今後は, DNA 結合に伴う微粒子の電氣的特性の変化の定量解析や, 対象 DNA の特異的検出に向けた応用を行う予定である。

参考文献

1. 中野 他, 第 61 回応用物理学会春季学術講演会, 同時投稿中
2. J. Suehiro, *et. al.*, *J. Phys. D, Appl. Phys.*, 32, 2814–2820, 1999.

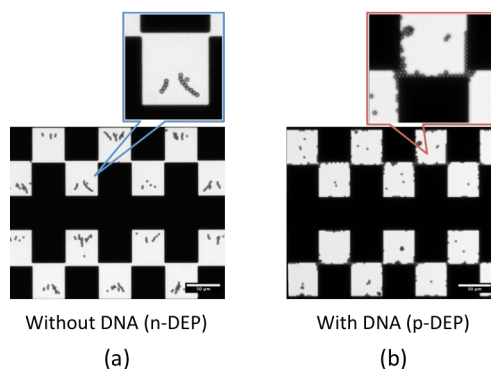


Fig.1. Dielectrophoresis of microbeads without (a) and with (b) DNA from HIV RNA.

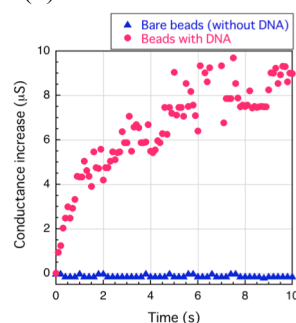


Fig.2. DEPIM measurement of DNA attached microbeads.