

マイクロ流体チップを用いた自動高感度遺伝子検査技術

Microfluidic chip for automation of high sensitive genetic diagnosis

シスメックス 中央研究所¹ ○中島 吉太郎¹, 山脇 幸也¹, 中西 克実¹, 武居 弘泰¹,
川本 泰子¹, 松岡 亜弥¹, 田川 礼人¹

Central Research Lab., Sysmex Corp.¹ Kichitaro Nakajima¹, Koya Yamawaki¹, Katsumi Nakanishi¹,
Hiroyasu Takei¹, Yasuko Kawamoto¹, Aya Matsuoka¹, and Ayato Tagawa¹

E-mail: Kichitarou.Nakajima@sysmex.co.jp

1. **背景**: 個別化医療を実現する高感度遺伝子検査技術のひとつにデジタル PCR 技術^[1]を応用した BEAMing (Beads, Emulsion, Amplification, and Magnetics)法^[2]がある. BEAMing 法は, 核酸抽出, プレ PCR (PrePCR), 液滴 PCR (EmPCR), ハイブリダイゼーション, フローサイト計測の 5 工程からなる. 各工程は煩雑であり, 熟練した作業員なしでは検査を行うことが困難である. 本研究では, マイクロ流体チップを用い, PrePCR 工程を自動化し, 構築したシステムが BEAMing 法を自動化するために十分な性能を有しているかどうかを評価する.

2. **方法**: PrePCR 工程では, 核酸抽出過程において血漿より抽出された核酸中の標的遺伝配列のみを PCR により増幅し, その後の EmPCR 工程に持ち込むために適切な濃度に希釈する. 本研究ではこれら機能を有するマイクロ流体チップ(Fig. 1)とチップ上のサンプルを制御する自動温調・送液系により, PrePCR 工程の自動化を試みた.

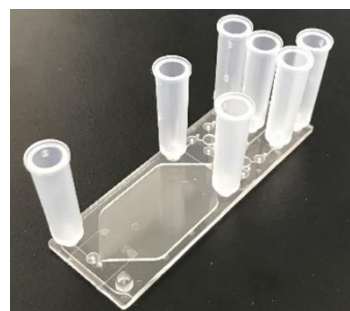


Fig. 1 Microfluidic chip for PrePCR

3. **結果**: チップ上での PCR 産物をアガロースゲル電気泳動により評価し, 全 7 種類の標的遺伝子を増幅できていることを確認した. 4 枚のチップを同時処理した際にも, チップ間での増幅産物量の変動係数は 3%程度と良好な再現性を示した. また, チップを用いた 20 倍希釈処理の相対誤差は 10%以下, チップ間の希釈倍率の変動係数は, 5%程度と良好な結果を示した.

チップと自動化装置を用いて処理したサンプルに対し, BEAMing 法を実施したところ, 10000 分子中 5 分子(0.05%)存在するごく微量な変異体遺伝子を検出することに成功した. (Fig. 2)

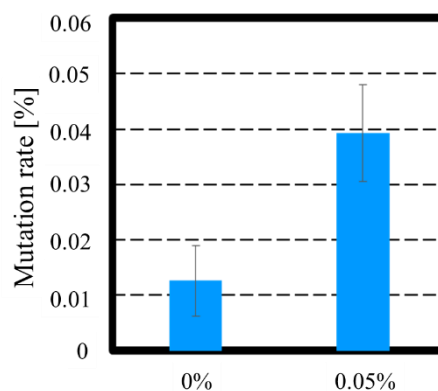


Fig. 2 Result of mutation detection by BEAMing assay.

4. 参考文献

- [1] Vogelstein B. et. al. (1999) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **96**, 9236-9241.
- [2] Diehl F. et. al. (2006) *Nat. Methods* **3**, 551-559.