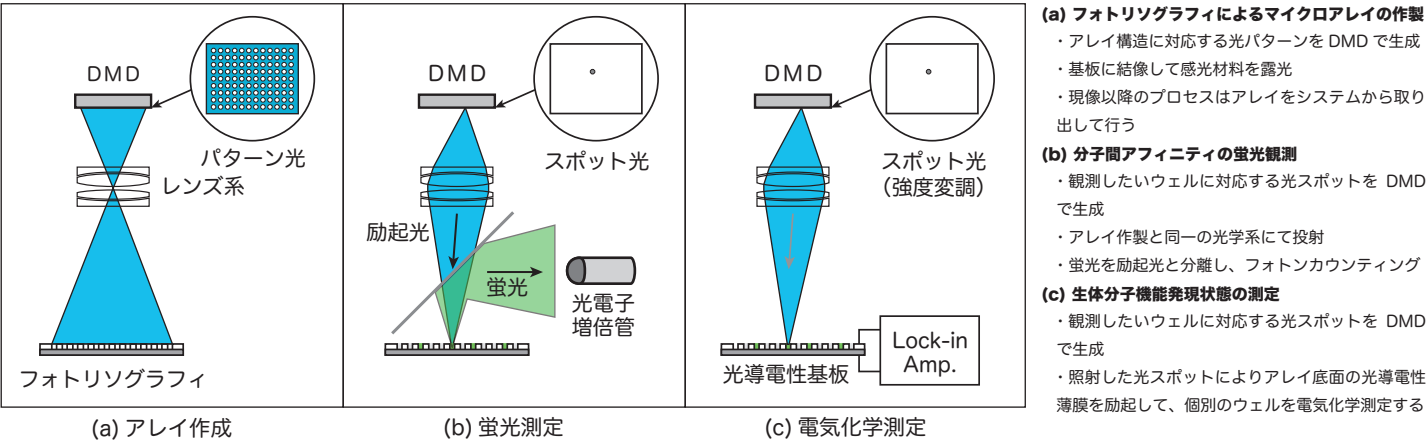


はじめに

ゲノム創薬や機能性分子の探索など分子レベルでの医療が発展するにつれて、DNA アレイやプロテインアレイなどの高速スクリーニングの技術がさらに重要性を増してきており、その分析装置も高度な並列処理と高スループット化の技術開発が重要な課題となっている。本研究では低コストで高精度なマイクロアレイ全自動分析装置を構成することを目指に、アレイの作成と分析のプロセスを単一の装置により実行できる技術の開発を行った。さらに、通常的手法では困難なマイクロアレイ内の個別ウェルで生体分子機能発現を並列観測する手法についても、アレイ基板に導電性高分子を用いることにより個別ウェルの電気化学測定を行う技術を検討した。

システムの概要

これまで複数の装置を使用してプロセスを構成していたマイクロアレイやマイクロチップの分析を、単一の装置によってアレイの作製、蛍光測定、機能発現の測定までを一貫したプロセスとして実施する。このため、プロトコル全体における整合性が非常に高く、システム全体を低コストで構成・運用することが可能となっている。



実験系の構成と蛍光測定

光線追跡プログラムを用いて図2に示すシステムを設計・製作し、蛍光標識（Lucifer Yellow）に合わせてフィルタの最適化を行った。励起光源には青色LED（波長430nm）を用い、ロッド型インテグレータにより均一分布光としてからDMDへ照射し、反射光をテレセントリック系対物レンズでアレイ基板に結像するものとした。励起光と蛍光の分離にはダイクロイックミラーと光学フィルタの組み合わせによる蛍光顕微鏡用フィルタセットを用いた。フィルタセットを交換することで波長を変えて、一般的に利用される蛍光標識に広く対応が可能である。

このシステムを用いて1μL／ウェルのアレイの作製および蛍光検出感度の評価を行った結果、1μg/mL～1mg/mL の濃度範囲で光電子増倍管出力に直線的な蛍光標識濃度依存性が得られた。実用化には高感度化の対策が必要となるが、SN 比の解析からナノ秒励起の時間分解蛍光観測が有効であることが推定された。

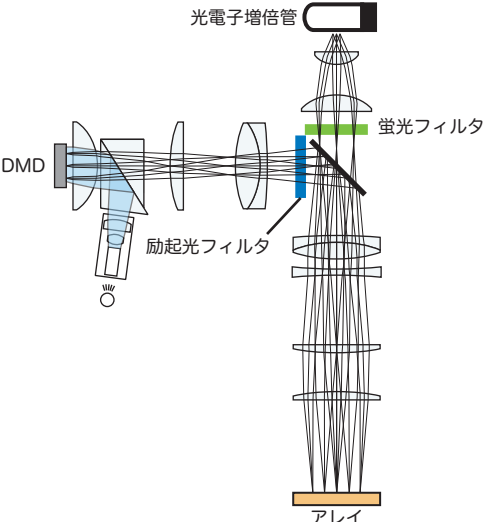


図2 マイクロアレイ作製測定装置の光学系

生体分子機能発現測定のための電気化学計測

マイクロアレイの個別のウェル内で生体分子機能が発現しているかどうかを確認するには酵素反応にともなう分子の変化を電気化学測定により検出することで可能となる。微細なウェルごとに局所的な電気化学測定を実現する原理は図3のように光導電性薄膜に細く収束した励起光を照射することで局所的に膜が導通している状態を作り、光を照射した部位に限って外部印加電圧による酸化還元反応を起こさせるものである。

このセンサ上にマイクロアレイの隔壁部を形成する事により、励起光スポットを照射したウェルについて酸化還元反応を起こす化学種の濃度を知ることが可能であるが、予備実験として隔壁の無い図3に示す構造のセンサとして特性を評価した。光導電性有機膜としてポリチオフェン、PPV、ポリピロール、ポリビニルカルバゾールについて検討し、ITO 基板上にウェットプロセスにより有機薄膜を作製し、水溶液中の赤血カリ／黄血カリ酸化還元系を用いてサイクリックボルタムメトリの酸化還元種濃度依存性と光スイッチングの評価を行った。その結果、特にポリビニルカルバゾールに CuPc をドーブした膜において光制御スイッチング特性に優れたアンペロメトリックセンサを構成できる事がわかった。

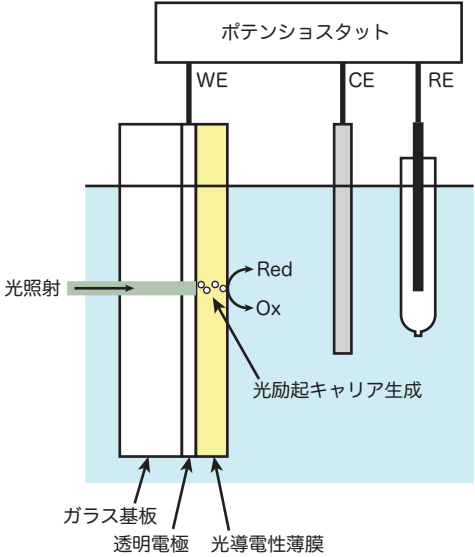


図3 局所的な電気化学計測の原理