

血液から病原性 DNA を効率的に検出する流体装置を開発

ヒト血漿中の短く少量の無細胞 DNA を検出しバイオマーカーとして利用

* * *

芝浦工業大学（東京都港区／学長 山田純）工学部機械工学科・二井信行教授ら研究チームは、ヒト血漿から無細胞 DNA（cfDNA）を効率的に抽出・精製する開放型マイクロ流体装置を開発しました。

がんなどの治療を行う際に、事前検査として病変組織を採取し、生体組織診断を行います。この外科的な生検に代わり、血液などの体液を検査するリキッドバイオプシーが注目されていますが、cfDNA は短鎖かつ少量であることから、これまで検出が困難でした。今回開発した開放型マイクロ流体装置では、cfDNA 断片に対する感度を高め、少量の血液サンプルでも効率的に病気や感染症を正確に診断ができるようになりました。

※この研究成果は、「Analytica Chimica Acta」誌オンライン版に掲載されています。

ポイント

- リキッドバイオプシーによる病原性 DNA などの効率的な検出を実現
- 短鎖で微量の cfDNA 断片を流体装置で高い回収率・正確な分離を可能にした

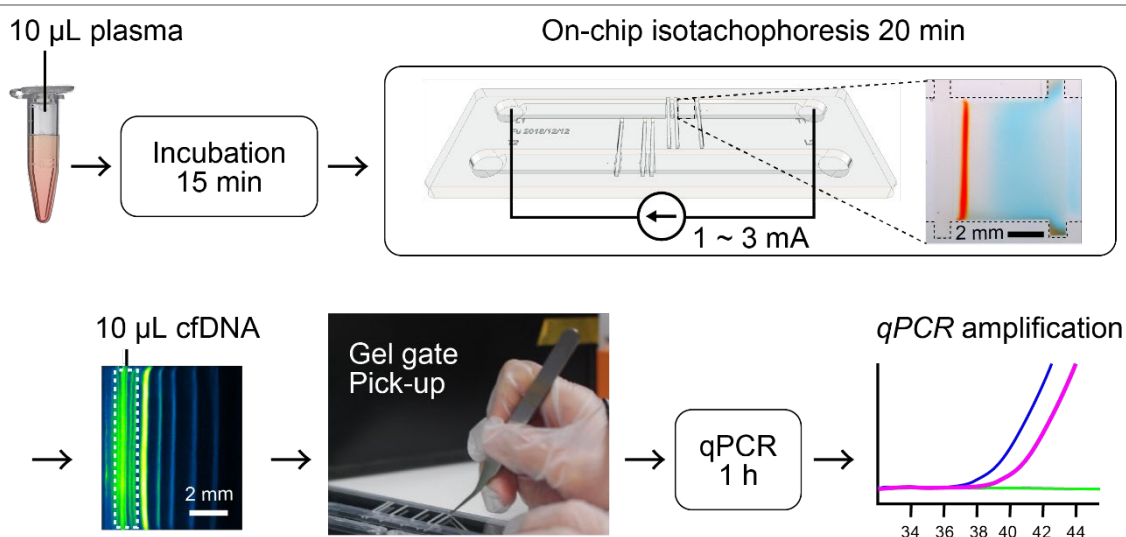


図. ヒト血漿中の無細胞 DNA の抽出手順（芝浦工業大学二井教授提供）

ヒト血漿サンプルから結核菌などの病原性 DNA の短い断片を分離・抽出するために、開放型マイクロ流体装置を設計した

■ 研究の背景

がんなどの治療には、病状の正確な診断が重要です。より良い治療計画のためには、病変部位の組織を採取し観察する生体組織診断を行います。この外科的な生検に代わり、血液などの体液から異常を検出できるリキッドバイオプシーが、患者への負担軽減や検査の迅速さ、繰り返し検査可能な点から注目されています。

リキッドバイオプシーでは主に cfDNA をバイオマーカーとし、試料中の病原性 DNA の有無を知ることができます。しかし、cfDNA はその存在量が少なく短いため、分析には抽出・精製が必要であり、非常に困難な作業です。cfDNA の精製方法としては、DNA が固相に親和性を持つことを利用した「固相抽出法」が一般的ですが、この方法では、DNA の基本単位である 200 塩基対 (bp) 以下の DNA 断片を得ることができません。一般に、循環腫瘍 DNA (ctDNA) や病原性 DNA は、cfDNA よりも小さいと言われています。そのため、200bp より小さい DNA 断片に感度の高い検出方法が必要とされています。

■ 研究概要

研究チームは、短鎖の DNA でも収率を低下させずに分離・濃縮できる技術である等速電気泳動 (ITP) に注目しました。しかし、ITP は cfDNA を迅速かつ自動的に抽出・検出する優れた方法であるにもかかわらず、血漿から短い cfDNA 断片だけを選択的に精製することは、これまで実現しませんでした。

本研究では、アガロースゲルと ITP と通常の電気泳動を連続して行える過渡等速電気泳動 (tITP) を利用して、ヒト血漿サンプルから病原性 DNA を検出する開放型流体システムを開発しました。この流体装置の中で、可動式のゲルゲートをその場で構築することができ、いままで困難であった、複数の種類のゲルからなる領域を作り出すことができます。これにより、これまでのマイクロ流体 ITP システムでは難しかった血漿からの tITP を容易に成立させ、分離した cfDNA 断片を正確に抽出することができます。tITP を経て分離・精製された DNA は PCR (DNA の複製・増幅) 可能なゲルの細片として簡単に抽出することができます。

実証実験でこの装置を使い、ヒト血漿から結核菌ゲノム DNA 断片を精製・濃縮しました。この流体システムは、高い回収率、正確な分離、100~200 bp の短い cfDNA 断片に対する感度を示しました。さらに qPCR 解析のために結核菌 DNA を精製することも可能でした。このような高い回収率が得られた要因をさらに調べたところ、血漿をタンパク質分解酵素 (プロテイナーゼ K) で適切に処理することで血漿ペプチドが生成され、この血漿ペプチドは内因性のスパーサー分子として作用し、本システムの tITP の能力ともあいまって、cfDNA の分離能力を向上させることがわかりました。

■ 今後の展望

少量の血液サンプルから病気や感染症を患者への負担なく迅速に、治療段階ごとに

繰り返し検査し、正確に診断することができるようになります。現在は、実用化に向けて、デバイスの準備から泳動・サンプル抽出までの過程を、ロボットにより自動化する試みを行っています。

また、血液以外の尿などの体液から、cfDNA の抽出する試みをスタンフォード大学と引き続き共同ですすめています。

■ 研究助成

本研究は JSPS 科研費（16K01374）の助成を受けたものです。

■ 論文情報

著者：

芝浦工業大学工学部機械工学科教授
芝浦工業大学工学部機械工学科
芝浦工業大学工学部機械工学科
芝浦工業大学工学部機械工学科
芝浦工業大学工学部機械工学科
スタンフォード大学病理学科
スタンフォード大学病理学科
スタンフォード大学航空宇宙工学科
スタンフォード大学病理学科
スタンフォード大学機械工学科

二井信行
深澤悠仁
柏木友宏
玉木聖悟
坂井里帆
Catherine A. Hogan
Kanagavel Murugesan
Ashwin Ramachandran
Niaz Banaei
Juan G. Santiago

論文名：A modular and reconfigurable open-channel gated device for the electrokinetic extraction of cell-free DNA assays

掲載誌：Analytica Chimica Acta

DOI：10.1016/j.aca.2022.339435

芝浦工業大学とは

工学部／システム理工学部／デザイン工学部／建築学部／大学院理工学研究科

<https://www.shibaura-it.ac.jp/>

日本屈指の海外学生派遣数を誇るグローバル教育と、多くの学生が参画する産学連携の研究活動が特長の理工系大学です。東京都とさいたま市に3つのキャンパス(芝浦、豊洲、大宮)、

4学部1研究科を有し、約9千人の学生と約300人の専任教員が所属。創立100周年を迎える2027年にはアジア工科系大学トップ10を目指し、教育・研究・社会貢献に取り組んでいます。

取材に関する問い合わせ先

学校法人 芝浦工業大学 経営企画部企画広報課 柴田

TEL 03-6722-2900 FAX 03-6722-2901 E-mail koho@ow.shibaura-it.ac.jp

以上