振動を用いたＤＮＡ増幅法

山口 栄雄*　米田 征司**　鈴木 温***

Vibration-driven DNA amplification

Shigeo Yamaguchi*, Seiji Yoneda**, and Tadzunu Suzuki***,

１．研究の概要

従来，DNA の増幅技術であるポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法では，94 ℃の高温によって，DNA を二本鎖から一本鎖に解離（変性）させる行程が含まれるが，この熱変性には DNA の損傷や酵素の失活などの問題がある．そこで我々は, 高温状態を用いずに可聴周波数帯での振動を用いたDNAの変性及び増幅技術を提案及び開発を行ってきた.

２．実験結果

実験方法は, DNA と酵素などが混合された水溶液をマイクロチューブに入れ, チューブ全体を可聴周波数で振動させることで DNA の変性・増幅を行った. 振幅,周波数及び振動時間を変えることにより変性・増幅条件を調べた.

特に，振動変性時においての，外部からチューブ内の DNA に加えられるエネルギーを計算し，その振動エネルギーと DNA の変性と増幅との関係性を調べた.

この技術では，正確な増幅，時間の大幅な短縮，高い効率化が期待できる. 振動を用いた PCR 法（以下、振動 PCR 法）では，使用する酵素の活性化温度である 37 ℃に設定した恒温槽の中に振動子を設置し行った.

振動 PCR 法は２段階の工程（変性→アニーリング・伸長）に分かれており，はじめに，振動により変性を行う．その後，無振動状態にてアニーリング及び伸長を行う．この２段階を１サイクルとする.

振動１周期当たり DNA に加えられる振動エネルギーをグラフにまとめた（図１）。計算に用いた式は、振動１周期当たり DNA に加えられる振動エネルギーとして、次式から求められる。

$$\varepsilon_v = \varepsilon_{v,1cycle} f \Delta t = 8\pi^2 m f^3 A^2 \Delta t$$

ここで、m：チューブ内の DNA 全質量、A：チューブの振動振幅、 f：チューブの振動数である。

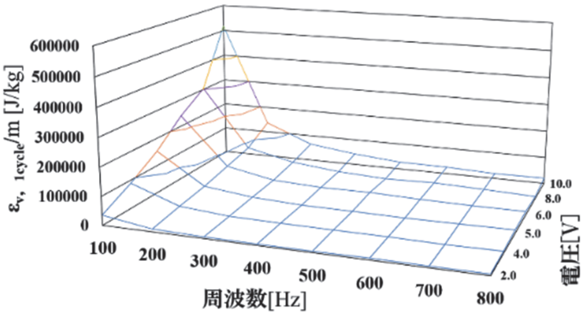

図１　振動エネルギー

また、本実験では、マイクロチップ型電気泳動装置を用いて、振動 PCR 後の DNA の確認を行った。この装置は、石英基板（マイクロチップ）内に形成された分離流路内でキャピラリー電気泳動を行う装置であり、毛細管現象を利用した電気泳動法である。また、マイクロチップの分離流路内で、DNA が分離バッファ中の色素と結合しながら分離される。その後、LED 光照射によって発生する蛍光信号を検出しその強度を解析する。

*教授　電気電子情報工学科
Professor, Dept. of Electrical and Electronic Information Engineering
**准教授　電気電子情報工学科
Associate Professor, Dept. of Electrical and Electronic Information Engineering
***客員研究員　工学研究所
Guest Researcher, Research Institute for Engineering