

日本—英国 国際共同研究「マリンセンサー」 2020 年度 年次報告書	
研究課題名（和文）	マイクロ流体デバイスによる新たな遺伝子抽出技術を用いたシーケンス用サンプル調整ボトルネックの解決
研究課題名（英文）	Alleviating the “Sample to Sequence” Bottleneck Using Novel Microfluidic Lab-on-a-Chip Nucleic Acid Extraction Technologies
日本側研究代表者氏名	福場 辰洋
所属・役職	国立研究開発法人海洋研究開発機構 海洋工学センター 技術研究員
研究期間	2018 年 4 月 1 日 ～ 2022 年 3 月 31 日

1. 日本側の研究実施体制

氏名	所属機関・部局・役職	役割
福場 辰洋	海洋研究開発機構・主任研究員	マイクロ流体デバイスの評価、遺伝子抽出装置プロトタイプ的设计・製作
藤井 輝夫	東京大学生産技術研究所・教授	マイクロ流体デバイスの设计・製作

2. 日本側研究チームの研究目標及び計画概要

共同研究の3年目においては、主にワークパッケージ2「遺伝子抽出装置プロトタイプの開発・評価」及びワークパッケージ3「遺伝子抽出装置の総合評価とクオリティコントロール」を実施する。過年度の研究において基礎検討及び評価を行った手法による溶解・精製法と、3D プリンタを用いて製作された遺伝子抽出用マイクロ流体デバイスについて、新たな小型の送液系等と組み合わせて評価する。また、英国側において検討が進められている環境 DNA サンプルからの遺伝子抽出法についても、新たなマイクロ流体デバイスを用いた自動処理を可能にするために情報交換を継続すると共に、装置の評価を共同で実施することを目指す。これによって、本研究で開発された遺伝子抽出実証機の汎用性を確認する。

遺伝子抽出装置の総合評価とクオリティコントロールについては、特に手作業による抽

出操作と本研究によって開発された装置・手法による抽出の結果について比較検討を行う。

3. 日本側研究チームの実施概要

遺伝子抽出の中核となるマイクロ流体デバイスについては、3Dプリンタを用いることで、市販のフィルターユニットとほぼ同サイズの遺伝子抽出カラムを新たに設計・製作した。前年度までに開発したものからさらに汎用性を高め、また英国側で標準的に採用されているDNA抽出方法の検証を行うため、市販のDNA抽出キットを組み込んだ装置の設計・製作を実施した。これによってすでに実用化されている市販のDNA抽出カラムの組み込みが可能になり、自動DNA抽出システムの構築コストを低減できるほか、必要に応じて最新のDNA抽出プロトコルを導入可能となった。今年度の研究では、試作した装置について実際にPCRが可能なDNA精製が可能であることまでを確認した。DNA回収効率を向上するための加熱機構については、50℃までの自動加熱が可能であることを確認した。

遺伝子抽出カラムの実証試験には、海洋研究開発機構横須賀本部の岸壁で採取した天然海水を用いたほか、岩手県沿岸域の現場で採取されたステリバクス濾過サンプルを用いて、卓上環境での自動DNA抽出処理の検証までを実施した。

遺伝子抽出装置の総合評価とクオリティコントロールについては、特に手作業による抽出操作と市販カラムを組み込んだ装置による抽出の結果について比較を行った。

サンプルとして海洋研究開発機構岸壁の海水を用い、市販キットを用いた手作業による抽出と、同キットのカラムを組み込んだ装置による自動抽出を実施し、抽出されたDNAの量および精製度を比較した。蛍光法を用いたDNA定量による結果の比較では、手作業による抽出と同等以上の量のDNAを回収できることが明らかとなった。

また、回収されたDNAの量及びクオリティについて、バクテリア16SrRNA遺伝子を標的とした定量PCR法を用いて評価した。その結果、処理時の送液流量が大きい場合でも、同じ手法を用いた手作業による抽出サンプルと同レベルのPCR阻害物質の混入量が認められたものの、正常にPCRを行うことが可能な量および精製度であることを確認した。

次年度においては、手作業および自動処理によって抽出されたDNAについて、魚類および原核生物DNAの定量分析およびMiFish配列に基づいたメタゲノム解析結果の比較を予定している。

以上