

## **研究課題別事後評価結果**

### **1. 研究課題名 「ナノチップテクノロジーの創製とゲノム解析への応用」**

### **2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）**

研究代表者 馬場 嘉信（名古屋大学大学院工学研究科 教授）

主たる研究参加者

田畑 修（京都大学大学院工学研究科 教授）

藤井 輝夫（東京大学生産技術研究所 助教授）

三木 哲郎（愛媛大学医学部 教授）

### **3. 研究内容及び成果：**

馬場グループのプロジェクトは、本「ゲノムの構造と機能」の他のプロジェクトとは、その目的及び研究方向がやや異なり、ナノテクノロジーを応用してゲノム解析の革新化を図ろうとするものである。特に、馬場グループは最先端の我が国が得意とする微細加工技術の中核にナノ構造体を有するデバイスを開発し、極微量のDNAの抽出、増幅、シーケンス、SNP 検出の集積化を実現するナノチップテクノロジーを創り上げることを当初の目的としたが、ほぼ所期の目的を達成したと考えられる。

馬場グループの業績を列記すると、(1)シンクロトロン放射光による X 線リソグラフィーとホットエンボシングとを融合し、新たなナノ微細加工技術を開発し、この技術を用いてマイクロ・ナノチップを作製した。(2)ゲノム解析に必要な PCR などの DNA 増幅系、無細胞タンパク質合成のためのマイクロリアクターを作製し、このリアクターにマイクロ温度センサーとマイクロ熱源を組み合わせ、マイクロ温度制御システムを集積したデバイスの解析を行った。これによって、リアクターの最適化の様々な条件を確立し、微細化による PCR の温度サイクルを 10 分の1以下(1 - 10 分程度)に短縮することに成功した。さらに、マイクロ無細胞蛋白合成系において、約1時間程度でタンパク質の合成ができることを実証した。(3)ナノ微細加工技術を用いてマイクロチャンネル中での DNA の泳動挙動解析およびコンピュータシミュレーションによるDNA解析用ナノチップの設計、ナノチップを用いたDNAフラグメント解析の高速化を進めた。その結果、100 塩基対程度までの DNA であれば 10 秒以内、500 塩基対までの DNA であれば 40 秒以内、1000 塩基対くらいまでの DNA であれば 70 秒くらいで解析できる条件が確立された。また、この技術を SNP 解析および検出に応用し、マイクロチップ上で 1 分以内に SNP 検出ができる系を確立した。この技術により、SNP のみならず多くの遺伝子変化があるゲノム多型を1分程度で解析できるマイクロチップの開発にも成功した。(4)1分子 DNA のイメージング技術を確立した。これにより、1分子の DNA のコンフォメーションがマクロ空間での挙動とは異なり、様々な形態をとることが明らかにした。さらに、この DNA のコンフォメーション変化を解析する理論を確立し、ナノ構造と DNA コンフォメーションの関係を明らかにした。これによって、バイオデバイスのデザイン化の際のルールが確立され、それを用いて石英デバイス上に DNA 解析用のナノピラーを構築することに成功した。このナノピラーは1分子 DNA の相互作用を解析することができ、さらに従来解析困難であった 5 万塩基対以上の DNA を 30 秒程度で解析することに成功した。(5)マイクロチャンネル中での DNA 蛋白質解析に用いるための新しいナノ材料を開発した。この新しいナノ材料(コア重合セル)を用いることにより、従来のゲルやポリマーでは解析困難であった広範囲なサイズの DNA を分単位で解析できることを実証した。(6)タンパク質の解析についても、チップ上の極微量の蛋白質を操作する新しい技術を開発し、広範な範囲の蛋白質を 15 秒以内で解析することに成功した。(7)ナノチップ上での極微量の DNA やタンパク質を検出、計量する為に蛍光ラベル化剤として量子ドットの新しい簡易合成法を開発し、量子ドットと DNA やタンパク質を結合させる方法を開発した。さらに、これらの標識された DNA やタンパク質を検出できる非スキャン型レーザー蛍光システムを開発し、極めて高感度に DNA やタンパク質を検出できるシステムを開発した。また、このような DNA 蛋白質の反応系、解析系を同一チップ上に集積したナノチップの開発を行い、数分で必要な DNA が実際に増幅されることを証明した。

このように馬場グループは DNA 解析に必要な抽出、増幅、分離、検出などの基本プロセスをマイクロチップ上で集積化することをほぼ現実化したが、その結果極めて微量のサンプルからこれらの一連のプロセスを極めて短時間(約 10 分以内)で終了できることが実証された。ナノテクノロジーを用いることによって DNA 解析において、サンプルの極微量化と同時に実際にかかる時間の短縮化など、従来理論的には想定されていたことが現実的に馬場グループの研究によってその完成へ向けて大きな一歩を踏み出したと言える。

#### 4. 事後評価結果

##### 4 - 1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

急速に発展しているナノチップテクノロジーをゲノム解析に応用する面で馬場グループの貢献は大きいという評価者の判断が大勢を占めた。この分野は当初、異質なテーマと考えられたが、今振り返ると馬場グループを本研究領域に参加させたことにより、ナノテクノロジーという新分野との融合により、「ゲノムの構造と機能」の研究が多面的に展開できたのではないかと思う。一方、研究評価者の中に馬場グループの成果が従来の要素技術の単なる組み合わせではないかという厳しい意見も見られた。しかし、全般的に見て新しいナノテクノロジーの手法をゲノム解析に持ち込み、総合的な技術を完成の近くもってきたことについては、代表責任者の能力を高く評価するという意見が大勢であった。

##### 4 - 2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

馬場グループの研究成果は、既に病因遺伝子の同定、SNP同定などに応用されている。具体的には、動脈硬化、高血圧、関連候補遺伝子を同定するために約8千人の臨床データを収集し、さらにそのDNAを用いていくつかのこれら候補遺伝子の解析も進めている。また、本プロジェクトの一環として、一分子DNA解析用マニピュレーション開発にも既に一部成功している。また、これらの研究成果を実用化するために既に2003年度より解析機器の受注生産を行っている。今後は、本研究で得られたナノボール、ナノチップや一分子DNAマニピュレーション技術の研究を一層進め、世界初のナノデバイスに基づく1分子ゲノム解析技術を完成させることが期待されるが、これらの技術が我が国の将来におけるゲノム解析技術の開発の起爆剤となり、新しい産業分野の開拓に繋がる可能性が高い。

##### 4 - 3. その他の特記事項(受賞歴など)

平成14年6月 第38回徳島新聞賞 科学賞 馬場 嘉信  
「次世代バイオナノデバイスの創製とゲノム創薬への応用」

平成15年9月 平成15年度竹田国際貢献賞 馬場 嘉信  
「ナノテクノロジーの生命化学分野への展開に対する国際貢献」

平成16年7月 平成15年日本トキシコロジー学会賞(田邊賞) 馬場 嘉信  
「医薬品の毒性予測に関する基礎研究」

平成16年9月 2004年度ハインリッヒエマニュエルメルク賞 馬場 嘉信  
「DNA解析のためのナノ・バイオ融合技術に関する研究」