

# 小型分析装置による微生物バイオマスの現場定量と

## 現場遺伝子解析への展開

○福場辰洋（海洋研究開発機構）、佐野優貴（横浜市立大学）、藤井輝夫（東京大学生産技術研究所）

サンプル採取と船上・陸上のラボにおける分析に依存した従来の分析フローをブレイクスルーし、時空間解像度の向上とそれによる新たな科学の展開と高度化し続ける社会の要請への対応を実現するには、新たな現場型分析装置の開発と実用化が不可欠である。特に、深海も含めた海洋環境の現場において試薬の混合や分取、加熱などの比較的複雑な処理を必要とする生化学分析を行うためには、マイクロ流体技術等を応用することで装置の自動化に加え、試薬や消費電力の低減や可搬性の向上がなされた装置の実現が必要である。これまでに例えば、微生物バイオマス（生物量）の指標として ATP（Adenosine Triphosphate: アデノシン 3 リン酸）を計測する現場型装置等が実現され、海底熱水活動の探索や熱水鉱床開発に伴う環境影響評価等の実ミッションに適用されつつある[1]。一方で、AUV や ROV 等に代表される海中観測プラットフォームの急速な小型化や、さらに小型の漂流ブイやグライダーなどが実用化されてきた今日においては、そこに搭載される現場分析装置に求められるサイズもますます小型化してきている。加えて現場における長期連続分析のニーズも高まっていることから、試薬や電力の消費量についても極限までの低減が求められている。そこでまず我々は、これまで現場型 ATP 定量分析装置に用いられてきた光センサ（PMT, Photomultiplier tube: 光電子増倍管）について、新たに実用化が進められている超小型のマイクロ PMT 等を導入することによって装置全体の超小型化を進めている（図 1）。加えて、送液システムについてもピエゾ駆動式のマイクロポンプや指先サイズの流量センサ、さらには制御された脈動を用いた試薬混合技術など、マイクロ流体関連技術を積極的に応用したシステムを構築中であり、それを小型化された光学系と組み合わせることでこれまでの数分の 1 サイズまで小型化できると考えている。さらに深海や極域などの電源確保が困難な海域における長期連続分析への対応としてさらに消費電力を低減するために、医療現場における連続投薬用のバルーンポンプの無電源送液ポンプへ応用といった新たな取り組みをはじめている（図 2）[2]。

さらに海洋の現場において微生物バイオマスだけでなく、それらの種組成まで迅速かつ自動的に把握するためには現場遺伝子解析を実現する必要がある。海中の現場で例えば PCR 法に基づく遺伝子検出を行うことができる装置については、これまでも開発例があるが[3]、感度の面で十分でない、または装置が大型すぎるなど改善の余地がある。そこで我々は、まず遺伝子解析操作の自動化を実現する上で常にボトルネックとなっているサンプルからの遺伝子抽出操作の高度な自動化と小型装置化を実現すべく、英国立海洋学研究所（NOC: National Oceanography Centre）および東京大学生産技術研究所と共同で遺伝子抽出プロトコルの開発・評価とマイクロ流体デバイスへの実装を軸とした研究を展開している（JST/SICORP Marine Sensors Proof of Concept: 海洋観測のための革新的な生物・生物地球化学センサー）。現在は主にガラスビーズを用いた遺伝子抽出法のマイクロ流体デバイスを試作し、評価を行っている（図 3）。加えて、遺伝子抽出機能だけでなく、サンプルの採取から遺伝子配列の検出までを完全自動で実施でき、微生物だけでなく魚類などを対象とした環境 DNA 解析にも応用可能な装置の開発を、東京大学大気海洋研究所などと共同で開始した（文部科学省 海洋資源利用促進技術開発プログラム 海洋情報把握技術開発）。

ここでは、以上に挙げた新たな現場型分析装置開発に関する取り組みと、最新の開発・評価状況について紹介する。

参考文献

- [1] T. Fukuba T. Noguchi, K. Okamura, and T. Fujii, “Adenosine Triphosphate Measurement in Deep Sea Using a Microfluidic Device” *Micromachines*, vol. 9, 370, 2018, DOI 10.3390/mi9080370
- [2] T. Fukuba, A. Nakasa, O. Tsukada, and T. Fujii, “Application of Drug Infusion Balloons to Microfluidic Systems for *In Situ* Measurement” *The 22nd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μTAS2018)* (Kaohsiung, Taiwan, 2018.11.14), *Proceedings* pp. 2281-2283, 2018
- [3] T. Fukuba, A. Miyaji, T. Okamoto, T. Yamamoto, S. Kaneda and T. Fujii, “Integrated *in situ* Genetic Analyzer for Microbiology in Extreme Environments” *RSC Advances*, 1, pp. 1567-1573, DOI:10.1039/C1RA00490E, 2011

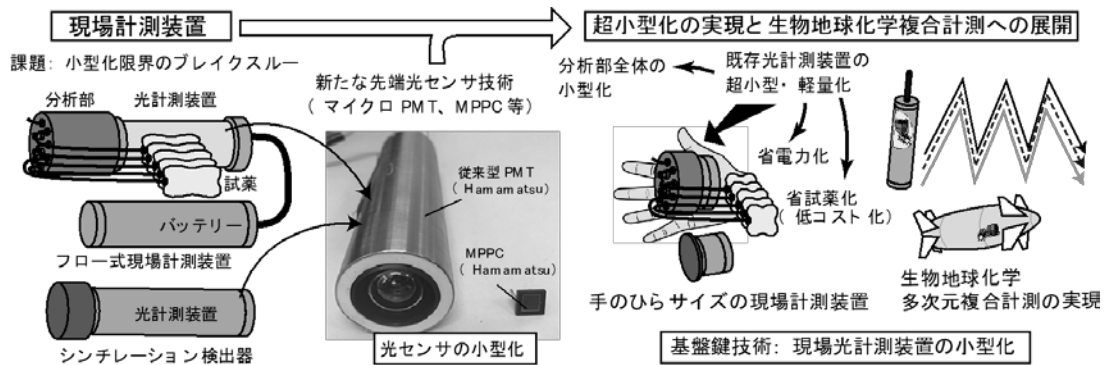


図1 新たな光センサの導入による現場型分析装置の小型化

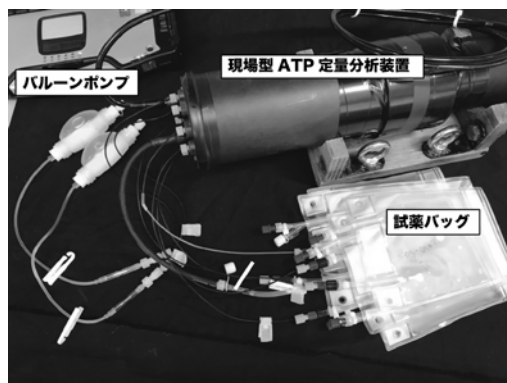


図2 無電源のバルーンポンプと現場型 ATP 定量分析装置

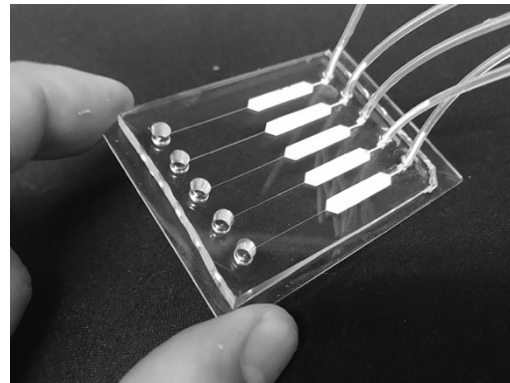


図3 ガラスビーズを用いた DNA 抽出用マイクロ流体デバイス