

## 細胞の増殖分化に係わる遺伝子並びに遺伝子産物の解析

東京大学 分子細胞生物学研究所 教授（共同研究員）宮島 篤

### 【目的と概要】

#### ①研究の概要

地域分担研究開発（サブテーマ3、小テーマ6）において、研究サンプルや臨床サンプルから遺伝子発現解析に必要なRNAを簡易に抽出する自動化可能な技術が富士写真フイルムにより開発された。「細胞の増殖分化に係わる遺伝子並びに遺伝子産物の解析」を効率的に行うことを目的とし、同装置を用いたマウス胎児肝臓およびその培養細胞をサンプルとして全RNAの抽出を試みた。

#### ②研究の独自性・新規性

解析対象サンプルから解析目的のRNAを分離抽出・濃縮するために自動化可能な技術・システムを開発することを目標とした。特に、動物培養細胞由来のRNAの分離抽出・濃縮においても自動適性のある新たな分離技術の開発を検討する。膜方式技術による分離技術を使用した本システムによるRNAの分離抽出・濃縮は新規な試みで、独自の手法である。

#### ③研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に）

フェーズII（H16）：培養細胞由来のRNA抽出法であって、マイクロアレイの解析に適した純度、濃度のRNAが得られるシステムを目指す。

### 【研究成果の概要と今後の取り組み】

テーマ3に於いて、研究サンプルや臨床サンプルから遺伝子発現解析に必要なRNAを簡易に抽出する自動化可能な技術が富士写真フイルムにより開発された。作製された核酸自動抽出装置は、8サンプル同時に処理可能で専用カートリッジと専用抽出キットからなり、遠心操作は不要で加圧操作のみの卓上型である。同装置を用いてより広範なサンプルから核酸抽出を可能とすることを目的とし、今回、マウス胎児肝臓およびその培養細胞をサンプルとして全RNAの抽出を試みた。

サンプルとしては、①マウス胎児肝臓初代培養細胞をトリプシンで剥離した細胞、②マウス胎児肝臓初代培養細胞を酵素等で剥離せず、直接リシスバッファを用いて溶解した細胞、③マウス胎児肝臓からコラゲナーゼで分散した細胞の3種類を用いた。3種類の細胞（各 $3 \times 10^5$ 個）から同装置を用いてRNAを抽出し、その収量と純度を測定したところ、目的とする収量と純度を得ることが出来た（表）。得られた全RNAはマイクロアレイ検出用に使用する量としては充分であるが、一方で、ノーザン法による遺伝子発現検出用には更に多くの全RNA取得が望ましいことから、一回当たりの処理量を増大させる改良の余地があることが示唆された。

表：全RNAの収量と純度（3種類の細胞からRNAを抽出した結果）

	収量		純度			
	(RNA, $\mu$ g)	(判定)	(OD260/280)	(判定)		
①	4.65 7.05 9.10 12.50 10.05	$3 \times 10^5$ 個からすると妥当	1.80 1.78 1.76 1.82 1.78	良好		
②	11.00 11.45 6.45		$3 \times 10^5$ 個からすると妥当		1.77 1.79 1.78	良好

本検討により動物培養細胞から核酸抽出間プロトコルを作成可能となった。今後の取り組みについては、商品化された核酸自動抽出装置では、動物培養細胞マイクロアレイの解析に適した純度・収量が得られないことが判明したことから、約10倍の処理能力を有する大容量アンブル処理カートリッジと専用抽出キット

の作製を検討する。

### 【まとめ】

#### 1. 国内外における水準との対比

メンブレン方式による簡易な自動抽出装置は存在しない。シリカ・コーティング磁性粒子法による自動化システムが現存しているが処理時間等が長く多量処理適性の面で問題がある。またRNA抽出濃縮においては約10倍の能力が求められることが本研究により判明した。多量処理適性を有し簡易な分離抽出濃縮システムとして新規な技術である。

#### 2. 実用化に向けた波及効果

目的サンプルからRNAを分離抽出濃縮する自動機と検体反応システム、ハイブリシステム、マイクロアレイ検出スキャナー、データ解析のそれぞれのシステムを総合的にまとめることのできるマイクロアレイ解析自動化システムを構築することが可能となる。このシステムは極めて優位性のある新規なシステムとなり得る。

#### 3. 残された課題と対応方針について

マイクロアレイの解析システムの現状はマイクロアレイ、検出のためのスキャナー、ハイブリのための自動化装置、自動標識化調整機、画像解析ソフト、解析データベースの開発が進んでいるが、マイクロアレイ解析目的の検体からのRNAの抽出を自動化する機器まで統合した総合システムの開発はなされておらず今後進めたい課題である。

### 【特許の出願】

該当なし

### 【論文】

該当なし