

<p>サブテーマ名：DNA・抗体マイクロアレイの作製技術開発及びその作製・評価 小テーマ名：①ハイブリダイゼーション自動化装置の開発 (H13-H16) (別紙7補足資料参照) ②タンパクチップの開発 (H16-H18) (別紙8補足資料参照)</p>
<p>サブテマリーダー (所属、役職、氏名) 千葉県産業振興センター (研究員) 今井一英 小テマリーダー (所属、役職、氏名) (株)カケンジェネックス (社長) 吉岡弘料 研究従事者 (所属、役職、氏名) (株)カケンジェネックス (専務取締役) 後藤征人、(研究員) 田代一也 (H13-H16)、志水加代 (H16-H18)、窪田純一 (H16-H18)、田村 学 (H17-H18)</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標 ①ハイブリダイゼーション自動化装置の開発 (H13-H16) 1) 研究の概要 従来にない高性能・高効率なハイブリダイゼーション自動化装置の開発を試みた。 2) ②研究の独自性・新規性 ・安定性、保守性の面からポンプを使用しない装置開発 ・循環溶液内に気泡が残りサンプルの循環に不具合が生じない方式の開発 ・オリゴDNA, cDNAといった材料の違いで結果に差が生じない方式の開発 3) 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Ⅰ、Ⅱ (H13-H16) 仕様決定1件、および試作品完成1件。 ②タンパクチップの開発 (H16-H18) 1) 研究の概要 (株)カケンジェネックス内で既に開発したタンパクチップ用スライドガラス (化学蛍光法) を用いて、改良により高性能なタンパクチップの開発を試みた。 2) 研究の独自性・新規性 ・独自タンパクチップ用スライドガラス (化学蛍光法) を用いて高性能タンパクチップを作製する。 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の期間に、(株)カケンジェネックス内で既に開発したタンパクチップ用スライドガラス (化学蛍光法) を用いて、タンパク質の固定化方法、タンパク質の濃度と固定化効率、およびタンパク質の活性の安定化について検討し、高性能タンパクチップを完成する。 ・数値目標： ① タンパク質の固定化方法：30種類のタンパク質の固定化を行なう ② タンパク質の濃度と固定化効率：10 $\mu\text{g/ml}$ ~ 800 $\mu\text{g/ml}$ ③ タンパク質の活性の安定化：スポット後の活性低下率2週間後2割低下以内 ③DNA/抗体アレイヤーのユーザーによる目的多様化に対する対応 担当者：田村 学 (H17-H18)、後藤征人 (H15-H18) フェーズⅡ 1) アレイフォーマットの多様化による専用ソフトウェアの開発 2) 窒素ガスを使用したアレイ中におけるサンプル失活防止機構の開発 3) 多種にわたるサンプルの高性能洗浄システムの開発</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況 (目標と対比して) 1) ハイブリダイゼーション自動化装置の開発 (H13-H16) ・目標に対する達成度：仕様決定1件、および試作品完成1件を完成 (目標を達成)。 詳細には、設計に先立ち、各種実験結果を総合してハイブリダイゼーション装置の仕様の決定を行う。 その結果、決定した仕様書を以下に示す。 「ハイブリダイゼーション装置の仕様書」 1. 処理サンプル数 : 1~12枚 2. ハイブリダイゼーション温度設定範囲 : 室温~80℃ 3. プローブ溶液量 : 100~300 μl/枚 4. プローブ液攪拌タイマー : 30sec 単位6時間 5. ハイブリダイゼーション時間設定範囲 : 1分単位18時間 6. スライドガラスの種類 : 長さ75~76 * 幅25~26 * 厚み1+-0.5 7. 装置の大きさ : 幅630 * 奥行き220 * 高さ520 また、ハイブリダイゼーション装置の実施設計及び製作、ソフト作成を行い、装置を完成させた。 「ハイブリダイゼーション装置の性能(従来比)」 1. ハイブリ時間:4時間(4時間の短縮)</p>

2. 感度 UP : S/N 比 : (1.3倍)
 3. 相関係数 : 98.5% (5%up)
 2) タンパクチップの開発 (H17-H18)
 ・ 目標に対する達成度 : タンパクチップを完成した (作製 1 件)
 平成 16 年度で商品化にも成功したタンパク/抗体アレイヤー (J 1) を用いて、タンパクアレイを作製し、平成 16 年度にテーマ 3 サブテーマ 2 (地域分) で完成した自動ハイブリダイゼーション装置を使用しタンパク濃度と固定化効率、活性の安定化を検討し、最も高い検出感度を得るタンパク質濃度を確認した。又、タンパク質とリガンドとの結合から得られる蛍光強度について経時変化を確認した。これにより、30種類のビオチン標識タンパク質のスライドガラス基板への結合をCy5-conjugated streptavidineにより検出した。その内25種類についてはELISA法との比較を行い良好な結果を得た。

3) DNA/抗体アレイヤーのユーザーによる目的多様化に対する対応
 担当者 : 田村 学 (H17-H18) 、後藤征人 (H15-H18)
 フェーズ II
 1) アレイフォーマットの多様化による専用ソフトウェアの開発
 2) アレイ中におけるサンプル失活防止機構の開発
 3) 多種にわたるサンプルの高性能洗浄システムの開発
 フェーズ III (H18. 11. 25事業完了日以降)

主な成果
 具体的な成果内容 :
 ・ ハイブリダイゼーション自動化装置の仕様を決定し、試作品を完成した。
 ・ タンパクチップを完成した (作製 1 件) (特許出願)
 ・ 窒素ガスを利用した抗体、タンパク活性劣化防止装置の開発 (特許出願)
 特許出願件数 : 2 (地域分) 論文数 : 0 口頭発表件数 : 2 受賞 : 2

研究成果に関する評価
 1 国内外における水準との対比
 ハイブリダイゼーション自動化装置については、国内外の機器はオリゴDNA, cDNAといった材用の違いにより再現性、また、効率が十分でなかった。本試作機では、ハイブリ時間:4時間(4時間の短縮)、感度 UP : S/N 比 : (1.3倍)、また相関係数 : 98.5% (5%up) と安価で性能が良いことが判明した。また、高い検出感度が得られるタンパクチップを試作した。
 2 実用化に向けた波及効果
 ハイブリダイゼーション自動化装置は安価で性能が良いこと、また、高い検出感度が得られるタンパクチップが開発できたので、先に商品化したDNA/抗体アレイヤー (J 1) を組み合わせてマーケティングを行うことが可能となり、大きな波及効果が期待できる。

残された課題と対応方針について
 1) 酵素、レクチン、ペプチドなど創薬研究分野への実用化に向けた営業展開
 2) 重ね打ち・狙い打ち精度を生かした分野 (電極チップやマイクロリアクターなど) への横展開
 3) JSTシーズイノベーション化事業への応用

	J S T 負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合計
	H13	H14	H15	H16	H17	H18	小計	H13	H14	H15	H16	H17	H18	小計	
人件費								817	2,552	3,166	3,078	3,204	1,701	14,518	14,518
設備費									7,340					7,340	7,340
その他研究費 (検品費、検費等)								1,040		2,769	2,505	763	482	7,559	7,559
旅費															
その他															
小計								1,857	9,892	5,935	5,583	3,967	2,183	29,417	29,417

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]
 J S T 負担による設備 : なし
 地域負担による設備 : 機器設計用コンピューターシステム、チップ作製・解析用クリーンルームなど

※ 複数の研究課題に共通した経費については按分する。