

## 別紙7 (補足資料)

<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装置の開発</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）</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>① 研究の概要</p> <p>1) DNA・抗体マイクロアレイにおけるハイブリダイゼーション操作を自動化し検出系の高度な再現性を実現する。</p> <p>2) ラベリング cDNA 溶液使用量を最小化しハイブリダイゼーションのコストダウンを図ると共にそれらの結果をフィードバックした装置を製作する。</p> <p>② 研究の独自性・新規性</p> <p>1) 温度、湿度等の環境条件をコントロールできるクリーンルームを設置して外乱の要因を一掃することにより早く正確なデータを蓄積する。</p> <p>2) 自社のサイトカイン・ケモカインチップ(販売中)を使用できるのでチップの品質管理から研究を行うことができ、正確なデータを得るとともにコストも安くできる。</p> <p>3) 弊社はチップの製作、ハイブリダイゼーション、スキャニングまでの解析受託を行っており、多くのハイブリデータとの比較が可能であり、其のことに伴い検出系の中の1部であるハイブリダイゼーションの問題点を全体の中から探ることが出来る。</p> <p>③ 研究の目標</p> <p>フェーズⅠ</p> <p>1) 蛍光検出法におけるハイブリダイゼーションの高度な再現性を実現。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・バックグラウンド：50 以下              (検出器：Genepix4000B、レーザー強度：100%、PMT：600、)</li> <li>・バックグラウンドの3倍以上データの相関係数=0.99</li> </ul> <p>2) TotalRNA：min10<math>\mu</math>gでハイブリダイゼーションを可能にする。</p> <p>フェーズⅡ</p> <p>1) ウェットラボでのハイブリダイゼーション成果の検証とそれに伴う装置仕様見直し、設計実施</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して）</p> <p>既存のハイブリダイゼーションマシンの問題点を抽出し改良を加えたものを検討してきたが、弊社のウェットラボでのハイブリダイゼーションの研究が進むにつれ、機械のスペックのみにとらわれ本質を捉えてない事が判明、加熱方式や攪拌方式がハイブリチャンバー内およびチャンバー毎の差がメカニズムのみに依存するものではなく、チャンバー内プローブのミキシングや伝熱など化学工学的要素もハイブリ品質、時間、再現性に大きく関与することがわかり、装置の設計仕様を途中で大きく見直した。結果的にバックグラウンドと相関係数は目標値を達成したが、ハイブリダイゼーションの一連の操作である洗浄、乾燥を同一装置内で行うという目標を犠牲にせざるを得なくなった。また多数のチャンバーの均一伝熱加熱のため温水攪拌浴を採用したが、水を使用することで取り扱いに幾分煩わしさが増えたのも当初の想定外である。またプローブ量の目標値であるmin10<math>\mu</math>gは未達成であり、現状では100<math>\mu</math>g程度が必要であることも今後の課題。</p>
<p>主な成果</p> <p>具体的な成果内容：</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・バックグラウンド：50 以下(検出器：Genepix4000B、レーザー強度：100%、PMT：600、)</li> <li>・バックグラウンドの3倍以上データの相関係数=0.985を達成</li> </ul> <p>特許件数：0                      論文数：0                      口頭発表件数：0</p>

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

国内外の機械はチップにラベリング cDNA 溶液をかけてハイブリ、洗浄を行うプロトコルを機械化しただけの物でこれらは高度な再現性を実現することは困難である

2 実用化に向けた波及効果

研究の目標値が達成できれば蛍光検出法の精度が飛躍的上昇し、しかもコストが現在の1/2程度で済み遺伝子チップの診断応用への道が開ける。

残された課題と対応方針について

TotalRNA : min 10  $\mu$ g を達成するためにはハイブリチャンバー内の容積の縮小およびミキシング効率（アレイとプローブの接触効率）に拡大が必要であるため、チャンバーの回転機構に加えてナノボールなどのミキシング担体の利用を今後自社で検討していく。

加熱方式については伝熱媒体として水を使用せず、水以上の伝熱係数が期待できる方式として100℃以下の減圧蒸気（大気圧以下）を利用した加熱方式の可能性を研究開発していく。

また、チャンバーの回転機構に代わる方式として揺動回転方式や磁石原理を利用した内部ミキシング担体の非接触揺動機構を自社で継続開発する。これができることと上記の蒸気加熱方式と組み合わせれば洗浄、乾燥操作を含めた一連のハイブリダイゼーション操作が同一装置内で行える一体型自動オペレーション装置の可能性が再度生まれる。

代表的な設備名と仕様 [既存（事業開始前）の設備含む]

JST負担による設備：なし

地域負担による設備：アレイヤー（カケンジェネックス製）、設計用CAD（カケン所有：クボタ製）、ハイブリチャンバー（カケン製）など