

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：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
サブテーマリーダー（所属、役職、氏名）千葉県産業振興センター（研究員）今井 一英 テーマリーダー（所属、役職、氏名）東京大学分子細胞生物学研究所（教授）宮島 篤、 理化学研究所 グループディレクター（共同研究員）古関 明彦 研究従事者（所属、役職、氏名）東京大学分子細胞生物学研究所 教授（共同研究員）宮島 篤、 理化学研究所 グループディレクター（共同研究員）古関 明彦
<p>研究の概要、新規性及び目標</p> <p>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。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。目標は、動物培養細胞マイクロアレイの解析に適した純度・収量の全RNAを得ることにある。</p> <p>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DNA・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する。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、独自の方法である。</p> <p>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。</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して）</p> <p>動物培養細胞としては、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ー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 <math>3 \times 10^5</math> 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は使用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（宮島教授）。</p> <p>次に、約10倍量の処理量が期待出来る抽出キットおよびその自動化装置を富士写真フイルムが試作し、本目的に合った性能が得られるまで試作と評価試験を繰り返し実施した（古関グループディレクター）。これにより、約10倍量の処理量が可能となる抽出キットおよびその自動化装置開発を完了することが出来た。</p>
<p>主な成果</p> <p>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。そこで、約10倍量の処理量が可能となる大容量型DNA/RNA簡易抽出装置を開発した（H18商品化）①動物培養細胞から核酸抽出キットの商品化</p>
<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

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。

## 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。

	J S T負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合 計
	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小計	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小計	
人件費															
設備費															
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)											505			505	505
旅費															
その他															
小 計											505			505	505

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：細胞培養装置など

※ 複数の研究課題に共通した経費については按分する。