

整理番号	12大-1
------	-------

育成試験の名称	遺伝子増幅現象の定量的解析に基づく高生産遺伝子組換え動物細胞構築法の開発
実施機関及び担当者	大阪大学 大学院 工学研究科 教授 菅 健一
育成試験の目的	
<p>遺伝子増幅系が組み込まれた動物細胞株は糖鎖などの修飾を必要とする生理活性タンパク質の生産において重要な役割を果たしている。当該研究者らはこれまで試行錯誤的に行われていた遺伝子増幅細胞株の構築において、蛍光標識を用いた細胞株の迅速選択方法を確立し特許出願した（平成11年事業団出願）。その後、増幅細胞染色体の画像解析によって、特定の染色体部位が増幅に関わっていることを見出し、この増幅領域の解析を行っている。育成試験ではこの解析に基づいた増幅細胞株の構築を行い、生理活性有用タンパク質の生産に使う新規で実用的な遺伝子増幅宿主ベクター系の開発研究を行う。</p>	
試験方法	
試験項目	内 容
不安定な核型を有する CHO 細胞の染色体の定量的ナンバリングと特定配列位置決定	不安定な核型を有する CHO 細胞の染色体画像解析システムを用いて、染色体のナンバリングを行い、この手法と、FISH を用いた蛍光標識を組み合わせることで、分類された染色体上の目的遺伝子増幅位置について検討し、染色体における遺伝子増幅位置を特定する。
特定配列を有したベクターの宿主細胞への効率的導入と機能評価	上記で特定した遺伝子増幅位置を持つ細胞株を選択し、これを用いて遺伝子増幅ユニットを解析し、その大きさ、性質を同定する。さらに、可能ならばこれを用いた宿主ベクター系を構築する。
予 算 額	250万円
試験結果	
<p>増幅細胞染色体に対する蛍光 <i>in situ</i>ハイブリダイゼーション解析を行い、特定の染色体末端近傍が効率的な増幅に関わっている可能性が高いことを見いだした。そこで、この知見に基づいて不安定な核型を有する CHO 細胞の染色体の定量的ナンバリングと特定配列位置決定を行い、不安定な CHO 細胞の染色体イデオグラムを作成した。さらに、増幅位置の特定を行い、特定の染色体上において増幅遺伝子のコピー数が増加していることを見いだした。さらに、サザンハイブリダイゼーション法を用いて、この増幅ユニットが単一であり、かつそのサイズが 25kb 以上であることを推定した。</p>	
現在の状況及び今後の展開方策	
<p>現在、増幅ユニットのクローニング化と配列のシーケンスを行っている。得られた配列に基づき、増幅可能ベクター系を構築した。遺伝子増幅が簡略化可能な組換え配列を組み込んだ細胞株も開発できたら製品化へ向けての他事業（モデル化など）へ展開。</p>	