

合成 DNA マイクロアレイによる病態関連遺伝子発現解析法の開発

●渡辺 慎哉¹⁾ ◆片岡 浩介²⁾

1) 東京大学医科学研究所、2) 東京工業大学フロンティア創造共同センター

背景と目的

ウイルス感染に対する細胞応答のトランスクリプトーム解析に関して、スタンフォード大学などの先駆グループが最大約8,000 遺伝子について報告している。今後、さらに対象遺伝子の数を大きくし、大量の情報を得るべく国内外を含めて凌ぎを削っている状況にある。マイクロアレイの技術そのものがいまだに発展途上にあるため、技術的な問題をいかに早く克服して質・量ともに優れたデータを集積できるかどうかにか成成功の鍵があるといえる。

本研究では、HIV 及び日和見感染の病原体と宿主細胞の相互作用を明らかにしてエイズ発症機構の解明につなげるため、合成DNAマイクロアレイによるヒト遺伝子発現解析系を平成12年度内に確立することを目的とした。

検討結果

まず、オリゴDNAを市販のスライドガラス上に効率良く固相化する方法を開発した。次に、均質なマイクロアレイを一度に 84枚作製できるマイクロアレイ作製装置およびプログラムソフトウェアを開発した。さらに、2,708 ヒト遺伝子について 80merのヌクレオチドを設計・合成・アレイ化し、ヒトサイトメガロウイルスを対象としてウイルス感染に伴って変化する宿主遺伝子発現変化を解析し、今年度目標の達成を確認した。

以上の結果をもととして、合成 DNAマイクロア

レイ技術に関する下記の特許申請を行った。

考 察

本研究の最大の特徴は独自に改良・開発した技術を用いて自作の合成 DNA マイクロアレイを用いるところにある。この技術を用いれば、マイクロアレイ化する遺伝子を自由自在に選定、遺伝子数を容易に増加、低コストで大量のアレイを作製できる。

後述の出願特許をもとに大量のマイクロアレイを作製し、可能な限り数多くの各種ウイルス 非許容細胞に対する細胞応答を明らかにすることにより、比較対照となる各種ウイルス 許容細胞に特異的な遺伝子発現を同定することが可能となる。これらに関する遺伝子がウイルス感染を規定する宿主側因子であり、宿主-寄生体関係を解明する糸口を提供すると期待できる。

成果公表リスト

特許出願

1. 発明の名称：試料チップ作製用分注針の洗浄方法
願書番号：特願 2000-53109 号
2. 発明の名称：ポリヌクレオチドマイクロアレイの作製方法、作製装置ならびにポリヌクレオチドマイクロアレイ
願書番号：特願 2000-139926 号
3. 発明の名称：試料チップ作製方法
願書番号：特願 2000-147606 号
4. 発明の名称：核酸標識方法および核酸標識用キット
願書番号：特願 2000-254172 号

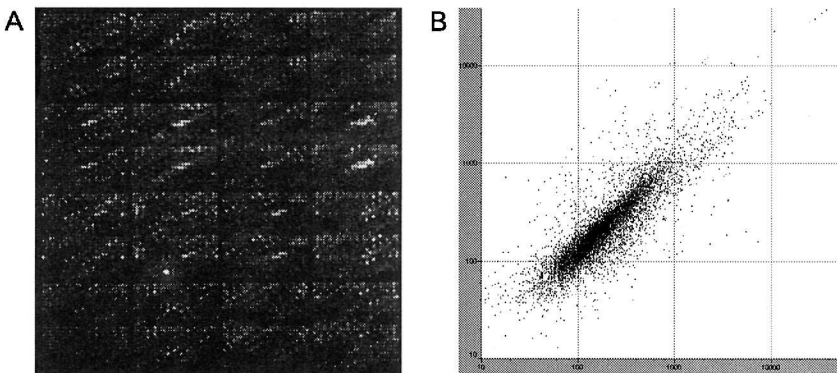


図1 合成 DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現レベルの解析。

10,000スポット (2,708 遺伝子) からなる合成DNA マイクロアレイを作製し、HIV 感染後長期未発症例の末梢血単核細胞の遺伝子発現レベルを U937 細胞を対照として調べた (山梨医大・照沼博士との共同研究)。A) マイクロアレイハイブリダイゼーションのシュドカラーイメージ。末梢血単核細胞、Cy5 (赤色蛍光) で標識；U937 細胞、Cy3 (緑色蛍光) で標識。B) 各スポットの蛍光強度の分布。縦軸、赤色蛍光強度；横軸、緑色蛍光強度。