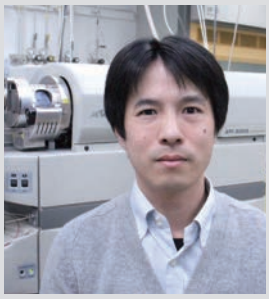
定量解析用核酸標準物質の開発

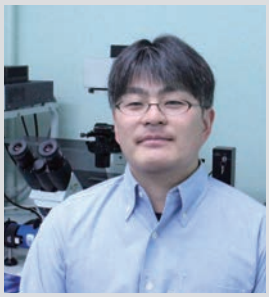
DNAマイクロアレイの標準化を目指して



藤井 紳一郎
ふじい しんいちろう
s-fujii@aist.go.jp

計測標準研究部門
有機分析科
バイオメディカル標準研究室
主任研究員
（つくばセンター）

2005年に標準・計測分野とライフサイエンス分野の分野融合枠で採用され、バイオ計測に関する計量標準の整備や標準化に向けた技術開発を進めています。特にDNAやRNAといった核酸分子の標準物質開発を担当しており、標準物質開発に必要な分析技術について、関係者の協力を得ながら研究開発を進めています。



関口 勇地
せきぐち ゆうじ
y.sekiguchi@aist.go.jp

バイオメディカル研究部門
バイオメジャー研究グループ
研究グループ長
（つくばセンター）

バイオ計測技術、特に核酸を対象とした定量技術開発とその医療、産業分野での応用に関する研究を行っています。蛍光消光現象を利用した遺伝子定量技術の開発、次世代シークエンサーを利用したマルチプレックス定量技術の開発や、それらの精度管理技術の開発に関心があります。

関連情報：

参考文献

[1] 藤井 紳一郎：*ぶんせき*, 432, 674-675(2010).

[2] 藤井 紳一郎、関口 勇地、高津 章子：*臨床化学*, 41(4), 363(2012).

開発の背景

デオキシリボ核酸（DNA）やリボ核酸（RNA）といった核酸分子は、遺伝情報を司り、タンパク質の合成に関与するなど、生体内における極めて重要な分子の一つです。特に最近では、ガン検査などのバイオマーカーとしての発現遺伝子を対象に、遺伝子発現解析が盛んに行われています。また、感染症の検査や遺伝子組換え食品の検査などにも核酸分子の定量分析が用いられています。

近年ではこれらの分析にDNAマイクロアレイと呼ばれる装置が使われることがありますが、異なる装置間の測定結果の互換性向上や解析技術の精度管理のための標準物質が望まれていました[1]。中でも、濃度が定められた核酸標準物質は世界的にも例がなく、私たちはこれらの要望に応えるべく、国際単位系（SI）へのトレーサビリティが確保された定量解析用核酸標準物質として、2011年に定量分析用DNA標準物質（NMIJ CRM 6203-a）を開発（2012年12月に頒布を中断。次期ロットについては現在準備中。）し[2]、今回、定量解析用RNA標準物質（NMIJ CRM 6204-a）を新たに開発しました。

核酸標準物質の調製と認証方法

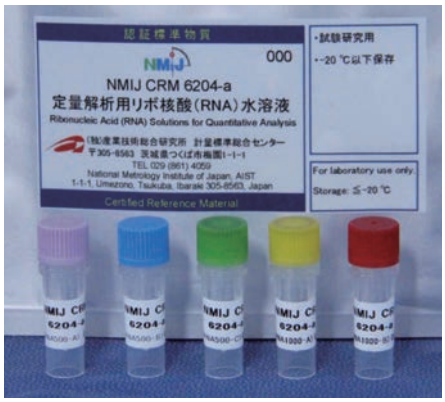
開発したRNA標準物質は、自然界に存在する既知の真核生物由来ゲノム配列などとの類似性が低い人工的な塩基配列を持つRNAとして設計しました。533塩基と1033塩基からなる5種類の塩基配列で、遺伝子発現解析において、濃度を変化させたスパイクインRNA標準として利用できるよう5種類の設計と精密な濃度評価を行いました。

核酸濃度の値付けには、同位体希釈質量分析法によるヌクレオチド測定と、誘導結合プラズマ質量分析法による核酸分子内りん測定の二つの測定法を開発し、適用しました。認証標準物質の開発に要求される高精度な分析が実現できるように、詳細な分析技術・条件を検討し、これらの測定方法を用いることにより、核酸濃度のSIへのトレーサビリティを確保しました。

今後の展開

開発したRNA標準物質は、分析装置や分析方法の妥当性評価や精度管理のための基準として利用できます。特にDNAマイクロアレイや次世代DNAシークエンサーを使用した遺伝子発現解析の精度管理を目的として、スパイクインRNA標準として利用できるよう設計したため、DNAマイクロアレイによる遺伝子発現解析の標準化に役立つと期待されます。

今後も、核酸計測の標準化に貢献するため、標準物質の開発やそれに必要な測定技術の開発を進めていく予定です。



定量解析用リボ核酸（RNA）水溶液（NMIJ CRM 6204-a）

定量解析用リボ核酸（RNA）水溶液（NMIJ CRM 6204-a）の認証値および拡張不確かさ

試料名称	質量濃度 (ng/μL)	拡張不確かさ (ng/μL, k=2)
RNA500-A	30.6	3.1
RNA500-B	27.3	2.4
RNA500-C	32.4	3.2
RNA1000-A	58.3	4.9
RNA1000-B	59.5	5.3