

機動性とコストパフォーマンスに優れた遺伝子定量法 ウイルスなどの定量的検出への応用に期待



野田 尚宏

のだ なおひろ

noda-naohiro@aist.go.jp

生物機能工学研究部門
バイオメジャー研究グループ
研究員
(つくばセンター)

2005年の入所以来、蛍光色素のON/OFFを利用した核酸解析技術の研究開発を行っています。特に近年はDNAの定量だけでなく、DNA/RNAと結合したり、DNA/RNAを分解したりする酵素や蛋白質の活性を定量的に評価する技術の開発を行っています。開発した技術を環境、食品、医療などのさまざまな分野における遺伝子検査へ応用することに取り組みつつ、ほかの研究機関や企業との共同研究体制の下、早期の実用化を目指しています。

関連情報：

● 共同研究者

常田 聡、谷 英典、森下 総司（早稲田大学）、市川 康平、蔵田 信也、中村 和憲（株式会社 J-Bio21）、関口 勇地、宮田 亮（産総研）

● 参考文献

H. Tani et al.: *Analytical Chemistry*, 81, 5678 - 5685 (2009).

遺伝子を定量する技術

遺伝子を定量する技術は、ヒトの病気診断などを目的とした遺伝子発現解析、新型インフルエンザやC型肝炎ウイルスの検出・定量、あるいは遺伝子組み換え食品の混入率検査などに利用されており、社会的必要性の高い技術です。これまで、微生物や動植物に含まれる遺伝子の定量にはリアルタイムPCR（Polymerase Chain Reaction）法が用いられてきました。中でも、標的遺伝子のDNA配列に特異的に結合する蛍光DNAプローブを利用した検出技術は、定量の精度が高いことから遺伝子の定量技術として広く用いられています。しかし、標的遺伝子ごとに異なる蛍光プローブを設計・合成する必要があるため、複数の標的遺伝子を定量するには、コストがかかる、機動性がないという問題点がありました。

機動性と優れたコストパフォーマンス

新たに開発した技術では、測定しようとする標的遺伝子とグアニン塩基により消光する蛍光DNAプローブのほかに、ジョイントDNAを用いたリアルタイムPCR法により標的遺伝子の

定量を行います（図）。ジョイントDNAは標的遺伝子ごとに設計・合成する必要がありますが、蛍光色素を結合しないため、合成時間とコストが大幅に節約できます。また複数の標的遺伝子の場合でも1種類の蛍光DNAプローブで定量が可能です。これまでの蛍光プローブ法と比べて1/5から1/10程度にコストを抑えられます。

この技術によるPCRでは、サイクル進行によって標的遺伝子量は増大し、それに比例して蛍光強度が減少（蛍光が消光）していくので、その値をグラフ化することによって、対象の遺伝子を定量することができます（図）。

β -アクチン、アルブミン、 β -グロブリンの3種類のヒトの遺伝子を定量した結果、1種類の蛍光プローブでこれら3種類の遺伝子を10コピーという低コピー数から 10^8 コピーという高コピー数の広い範囲で定量できました。

今後の展開

ヒトの病気診断などを目的とした遺伝子発現解析やウイルスなどの定量的検出も可能になるよう、この技術の応用を進めていきます。

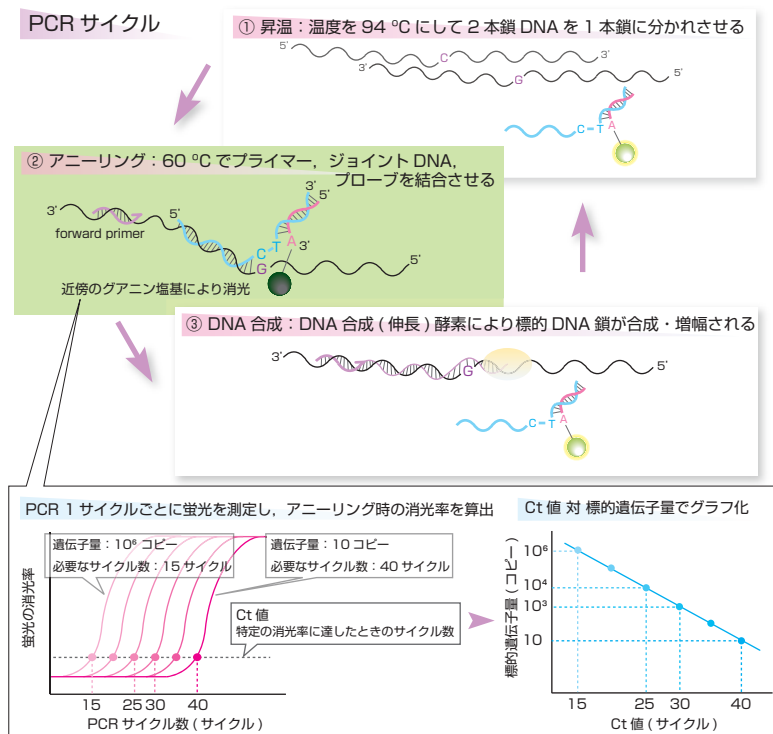


図 新技術による遺伝子定量法の概要