

総合生命解析システム(2007 年度購入)

物質生命理工学科 細胞分子デバイス研究室 久富 寿 , 江頭 サツキ

はじめに

生命は生体内で化学物質を相互連携させ、独立したエネルギー産生、消費システムを維持している。有機化合物の塊である生命における制御システムの解明は、物質生命理工学科としての研究分野において、重要なテーマの1つである。生命を解析する学問は生命化学、生化学、分子生物学、構造生物学など多岐にわたり、応用化学としての薬学、生物工学などもこれにあてはまる。かつては生命の設計図であるDNAを解析することが研究の基本路線とされていたが、現在では生命現象を総合的に解釈する手法が必要とされている。DNA(genome)を解析するgenomics, mRNA(transcriptome)を解析するtranscriptomics, さらに protein(Proteome)を解析する proteomics の末尾(-omics)が同じことから、これら3種類を総合的に解析することはOmics(Omix)と呼ばれる。Omixでは必ずDNA, mRNA, proteinの3種類を解析する必要があるわけではなく、例えば、ある遺伝子DNAの変異があっても、タンパク質のアミノ酸配列が変異していても、その活性には何ら影響がない、という現象もあるため、3種類のうち何か1つだけで生命現象を解釈しないようにしよう、という研究者の心構え的な印象が強い。ただし、この心構えは非常に重要で、我々の研究室でもmRNA量とprotein量が必ずしも相関関係にない現象を確認しており、Omixベースの解析が必要不可欠であった。今回購入して頂いた総合生命解析システムが、そのOmixベースの研究の中心を担うことになる。

装置の概要

装置は大きく分けて2つのユニットから構成されている。いずれもコンピューターで制御し、解析の途中経過も含めて画面上で解析結果の確認が可能である。1つ目は生命の最小単位である細胞を解析する装置であるハイレゾリューションフローサイトメーター Cell Lab Quanta SC (Beckman Coulter)である。この装置により、細胞の大きさ、細胞内部の複雑さ、細胞の表面構造の違いなどが解析可能である。つまり、細胞の表現型が判別さ

れる。Omixベースの解析では初期段階の解析に用いられるが、生命現象としては最終段階のproteinによる細胞構造の変化を観察している。2つ目のユニットはDNAやmRNAの塩基配列を決定するABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)である。この装置は基本的に上記のCell Lab Quanta SCで異常が確認された細胞集団のDNAおよびmRNAの解析に用いられる。2つのユニットが連動して稼働することにより、相乗的なデータ解析が可能となり、Omixベースの研究を網羅する。

装置の特性

1つ目のユニットであるCell Lab Quanta SCは、従来のフローサイトメーター(前方散乱光)では不可能な、高分解能な形態情報(粒度分布データ)が得られることに加え、シリンジ吸引方式採用により、細胞数などの絶対数測定が内部標準粒子を使わずに可能である。これら機能により、高感度に細胞の表現型の変化を解析できる(図1 A)。ABI PRISM 3130 Genetic Analyzerは一度に4サンプルの同時解析が可能なキャピラリーベースのDNA sequencerである。自動化により、データ取得後の解析にも手間がかからない。必要に応じて16本キャピラリーやフラグメント解析のオプションを追加できる(図1 B)。



図1. 総合生命解析システムのユニット

A: Cell Lab Quanta SC,

B: ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer

研究成果

本システムの設置後、現時点で約半年が過ぎようとしているが、初期段階ながら既にいくつかの研究成果が出て来ている。まずは、真性多血症(PV)患者における *JAK2* 遺伝子の変異が、健常人血液中の顆粒球においても存在することを世界で初めて発見した(投稿中)。PV 患者の *JAK2* 遺伝子変異は数種類確認されているが、我々は新たな変異を発見し、さらに別の変異が健常人にも存在することを示すことに成功し、第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会合同大会(神戸)にて発表した。この研究において、細胞表面を解析することで血液中の顆粒球数を測定することに Cell Lab Quanta SC が、*JAK2* 遺伝子の変異同定に ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer が用いられている。

また、薬剤を目的の臓器や腫瘍に直接届けるドラッグデリバリーシステム(DDS)における候補化合物の評価にも役立っている。数種類の DDS 候補化合物を培養細胞に投与すると、表面上は変化がないものの、細胞内部で変化が誘導されることが本システムにより明らかとなった。その変化は細胞にアポトーシスを誘導する引き金となることも判明し、DDS 候補化合物による抗腫瘍効果への相乗効果も期待された。この研究の詳細は、第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会合同大会(神戸)にて発表した。この研究において、細胞表面、細胞内部の複雑さ、細胞周期の解析に Cell Lab Quanta SC が、アポトーシス関連遺伝子の発現解析に ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer が用いられている。

さらに、ミトコンドリア関連遺伝子の変異の同定や活性酸素種との関連調査にも役立っており、第8回日本ミトコンドリア学会(東京)にて発表した。

まとめ

本システムの利用により、生命現象を Omix ベースで研究可能となった。生命現象は様々な要因で成り立っており、それを DNA, mRNA あるいは protein のみで解析するのは現象の一面しか観察していない危険がある。総合的に解析する試みはまだ始まったばかりだが、生命科学分野では既に常識の域に達していると考えている研究者の方が多いのではないだろうか。本システムの各々のユニットは、それぞれ単独での利用にも充分耐え得る高性能な機器であるが、それらを組み合わせることで相乗的な成果が得られると確信している。当研究室では、本システムに protein 解析の代表である二次元電気泳動や

ウエスタンブロット、共焦点顕微鏡、mRNA 発現に real-time PCR, DNA chip あるいは *in situ* hybridization, DNA 解析に bisulfite sequence などを組み合わせることで、さらに網羅的かつ詳細に生命現象を解析する工夫をおこなっている。