

染色体研究のブレークスルーを支援するDNA伸長固定技術の開発

イノベーションプラザ京都における育成研究 平成16年度採択課題

「染色体研究のブレークスルーを促進する電気浸透式スライドガラスの開発」

代表研究者 京都大学大学院 工学研究科 マイクロエンジニアリング専攻 助教

鈴木 孝明



ヒトゲノムの配列が報告された今、染色体をめぐる謎がいつそう深まっている。本研究は、細胞核の中に埋め込まれている長大な染色体DNAを一直線状の鎖に伸長することにより、生命の不思議を解き明かすためのツールの開発を目指してスタートした。細胞から染色体DNAを取り出し、末端を固定し、ずり応力を使って長く伸ばし、特定部位を観察するために種々の技術を開発した。遺伝子配列の転座の確認など、バイオや医療分野の研究開発支援ツールとして応用展開が期待される。

■ 研究内容, 研究成果

染色体DNAは遺伝子を担う情報媒体と見ることができる。臨床診断や基礎生命科学の先端では、この媒体上に発生する遺伝子の突然変異や染色体異常がどの位置にどのような状態で発生しているかを突き止めることが大きな研究課題となっている(図1)。ところが、ヒトの場合、総延長約1メートルもの染色体DNAが細胞核の中に密集し、絡み合った状態で存在しており、目的とする遺伝子の情報を取り出すことは容易ではない。本研究では、酵母からヒトに至るまで、様々な真核生物から染色体を取り出し、染色体DNAを直線状に伸長、顕微鏡下で高分解能観察する要素技術を種々検討し、DNA伸長キット(図2)を開発した。

<要素技術の研究開発>

1) 染色体DNA末端の固定と伸長

細胞内の染色体からDNAを取り出し、末端を固定、整列・伸長する手法を種々検討し、ヒト子宮頸癌由来細胞株HeLa細胞から採取した分裂期染色体DNAが1mm以上

の伸長を示すことを確認した(図3)。なお、伸長方法としては染色体懸濁液中の流れ場を利用したずり応力を基本原理として、電気浸透流を用いた「末端固定染色体の一樣場伸長」と遠心力を用いた「浮遊染色体の応力場伸長」の2種類の流体制御技術を開発した。

2) 伸長DNAの空間分解能の検証

伸長したヒト株細胞の染色体を用いて蛍光観察(FISH: Fluorescent in situ hybridization)し、偏在する繰り返し配列が高分解能で検出できることが検証できた。また、血球系腫瘍のヒト病理モデル細胞株において染色体の転座の生起のみならず、位置関係も高精度で同定した(図4)。

3) DNA伸長キットの開発

これらの研究成果をもとに遺伝子研究現場の支援ツールとして、誰もが、容易にあつかえる汎用DNA伸長キットの試作に成功した。

■ 今後の展開, 将来の展望

本プロジェクトは、1枚の基板上で染色体DNAの展開、伸長、固定し、観察する技術を構築し、バイオや医療の研究開発現場の強力な支援ツールの提供を目指してスタートし、汎用

キットを開発した。今後は、本法の特徴を活かす具体的な用途にターゲットを絞って実用化開発を展開する。

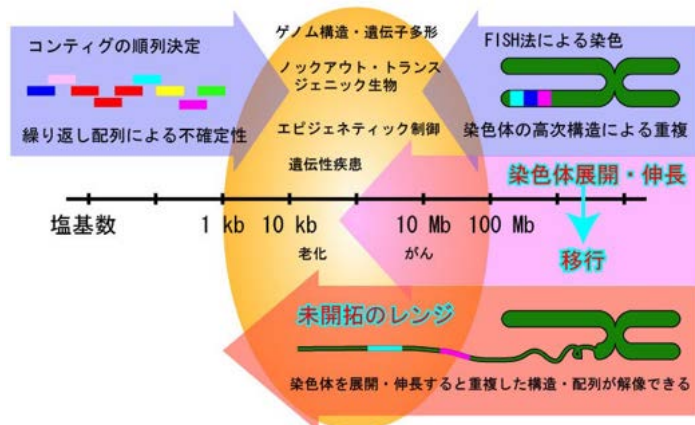
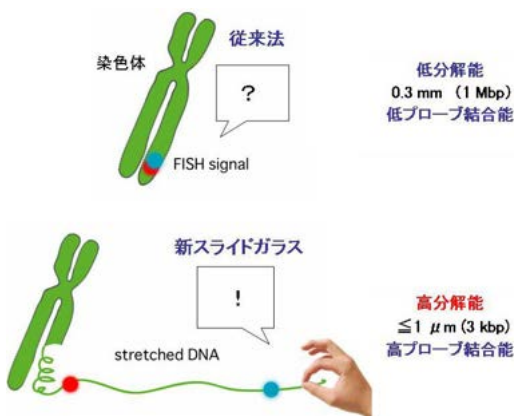
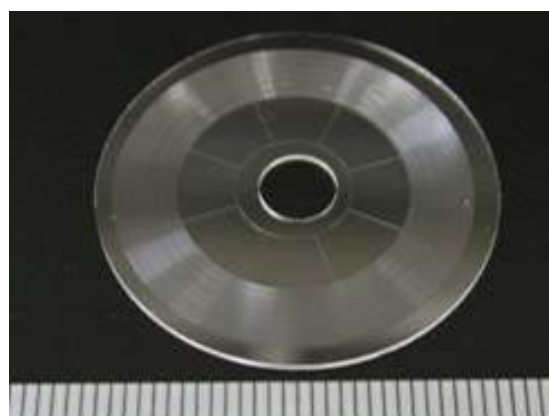


図1 染色体の形態観察からゲノム解析に移行するニーズ・市場





卓上型回転伸長装置



伸長固定用スライドガラス（直径約3cm）

図2 染色体DNA伸長固定キット

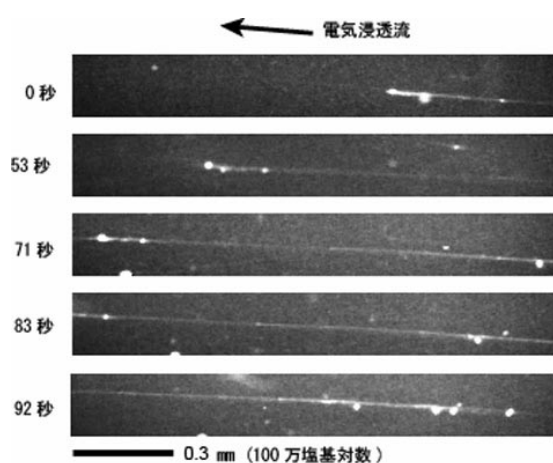
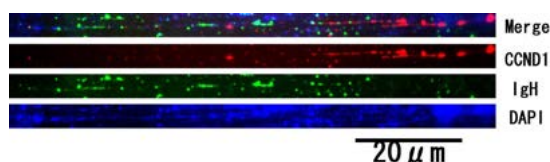
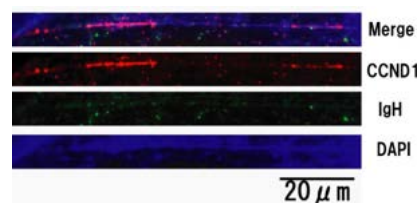


図3 ずり応力を用いた染色体伸長



マンツル細胞リンパ腫Mino細胞



バーキツリンパ腫Ramos細胞

図4 開発したスライドガラスの例証
非ホジキンリンパ腫の遺伝子異常（転座）

研究体制

代表研究者 京都大学大学院 工学研究科 マイクロエンジニアリング専攻 助教 鈴木 孝明

研究者 小寺 秀俊(京都大学), 竹内 実(JST イノベーションプラザ京都), 福家 有子(JST イノベーションプラザ京都), 仲間 健一(日本板硝子)

共同研究機関 京都大学, 日本板硝子株式会社

※所属などは、プロジェクト終了当時のものです。

研究期間

平成17年4月～平成20年3月