

# 光ライゲーションを用いた 高感度遺伝子解析システムの開発

育成研究：JSTイノベーションプラザ石川 平成18年度採択課題  
「光ライゲーションを用いた高感度遺伝子解析システムの開発」

代表研究者：北陸先端科学技術大学院大学  
マテリアルサイエンス研究科 教授 藤本健造



## ■ 研究概要

本研究では、(1) 光ライゲーション分子素子の開発、(2) 光ライゲーションを用いたメチルシトシン検出、(3) 光応答性遺伝子解析システムの評価、(4) 農作物ゲノムを評価系として用いた遺伝子解析の研究課題に取り組み、遺伝子解析システムの高速化や高機能化に成功した。

## ■ 研究内容、研究成果

### (1) 光ライゲーション分子素子の開発

遺伝子解析に用いる光ライゲーション分子素子は有機合成によって作製されており、その合成反応時間が長いことや導入する光応答性置換基によって収率の低下が見られるといった問題点があった。マイクロ波照射により修飾を行う本手法はオイルバスを使用した従来の手法と比較して、副反応が無く収率で最大1.5倍の効率化と反応時間では最大75倍の時間短縮を可能にした。本手法は、「光応答性核酸の製造方法(特許出願2008-33713)」として特許出願を行った。

### (2) 光ライゲーションを用いたメチルシトシン検出

DNA配列中におけるメチルシトシンを検出することは、病気の診断や生命現象を理解する上で重要である。亜硫酸水素塩を用いた手法ではすべてのメチルシトシンに作用し、さらにDNAを破壊するといった問題点があった。そこで、本研究ではDNA光ライゲーション反応を用いることでメチルシトシンとシトシンに対するライゲーション効率の差から迅速かつ正確に識別できる手法の開発を行った。本手法は、「Chem. Commun. (2008, 5996)」という論文に発表した。

### (3) 光応答性遺伝子解析システムの評価 (エスシーワールドとの共同研究)

光応答性遺伝子解析では、ハイブリダイゼーションを行うと共に光照射を行うことがオリジナルな点である。既存のハイブリダイゼーション装置の中で光照射とハイブリダイゼーションを同時に行うことが可能な性能を有する装置は存在しない。光ライゲーション装置は光照射とDNAチップの温度制御の機能を併せ持ち、光ライゲーションの性能を發揮し装置のシステム化に成功した。

### (4) 農作物ゲノムを評価系として用いた遺伝子解析 (石川県立大との共同研究)

DNAは二重らせん構造をとっており、汎用性のある遺伝子解析システムを構築する上ではターゲット配列として二本鎖DNAを用いる必要がある。そこで、本研究では農作物ゲノムを評価系として二本鎖DNAをターゲットとした一塩基多型検出を行った。二本鎖DNAをターゲットとした場合においても一本鎖DNAの一塩基多型検出と同様に、高感度な遺伝子解析に成功した。本研究は、「Sci. Technol. Adv. Mater. (2009, 10, 034603)」という論文に発表した。

## ■ 今後の展開、将来の展望

遺伝子解析に用いる光ライゲーション分子素子は事業化に向けて製品として販売することが可能である。光ライゲーション装置については、試作装置では、照射エネルギー密度の増強が課題となったが、照射素子や反射板の改良で解決できる見込みである。光ライゲーション素子および遺伝子解析システムを診断分野へ適用する具体例として、植物における細菌感染検出について、現在使用されている他の手法との比較評価を進めることで、企業化に際しての課題を抽出し、必要な対策を行う。将来的には、動物やヒトを対象とした診断分野への展開を推進していく。

Entry	R	従来法	マイクロウェーブ
1	COOMe ( <sup>15</sup> U)	65%, 120分間	98%, 4分間
2	CONH <sub>2</sub> ( <sup>15</sup> U)	-	85%, 4分間
3	CN ( <sup>15</sup> U)	70%, 180分間	54%, 4分間
4	H ( <sup>15</sup> U)	56%, 1500分間	56%, 20分間

図1. 光ライゲーション分子素子の開発

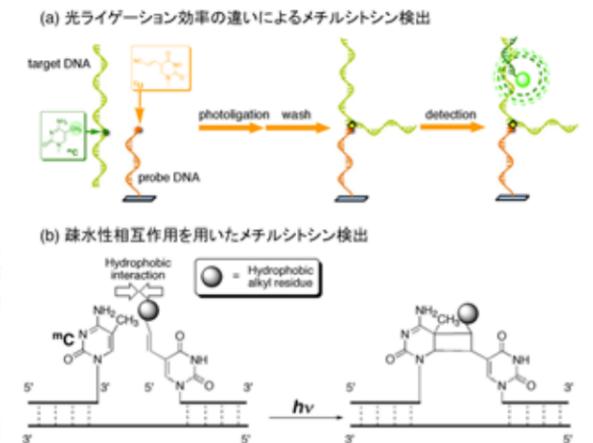


図2. 光ライゲーションを用いたメチルシトシン検出



図3. 光応答性遺伝子解析システムの評価

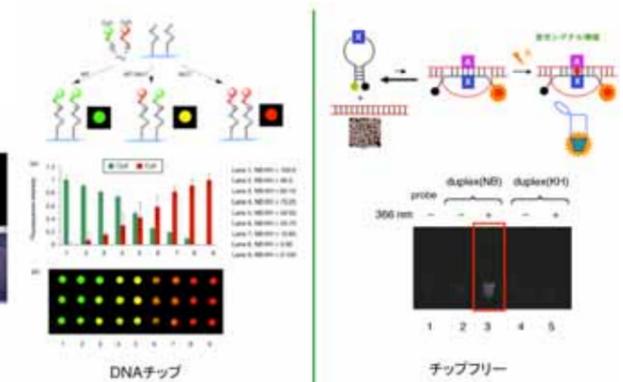


図4. 農作物ゲノムを評価系として用いた遺伝子解析

## ■ 研究体制

### ◆ 代表研究者

北陸先端科学技術大学院大学 マテリアルサイエンス研究科 教授 藤本健造

### ◆ 研究者

塚口直史 (石川県立大学) 森田敏樹 (エスシーワールド株式会社)

吉村嘉永 (科学技術振興機構) 能村信子 (科学技術振興機構)

坂本隆 (北陸先端科学技術大学院大学) 網健裕 (科学技術振興機構)

荻野雅之 (科学技術振興機構)

### ◆ 共同研究機関

(イネゲノム解析) 石川県立大学

(光ライゲーション装置開発) エスシーワールド株式会社

## ■ 研究期間

平成19年4月 ~ 平成22年3月