

遺伝子関連機器の依頼解析について

共通機器部門 共通利用機器管理班
森原 なぎさ

1. 生命科学機器分析部について

自然科学研究支援開発センターは4つの部門から構成され、そのうち生命科学実験部門生命科学機器分析部は霞キャンパス霞総合研究棟1階部分(図1)にあり、分子生物・細胞・化学系の機器や顕微鏡などが共通利用できる。

機器の利用については利用者が各自で利用する機器(24台)と、依頼の形で担当者が操作する機器(4台)、またどちらかを選べる機器(6台)がある。今回は依頼測定のみ受け付けているマイクロアレイ(GeneChip)と次世代シーケンサー(Hiseq)について紹介する。

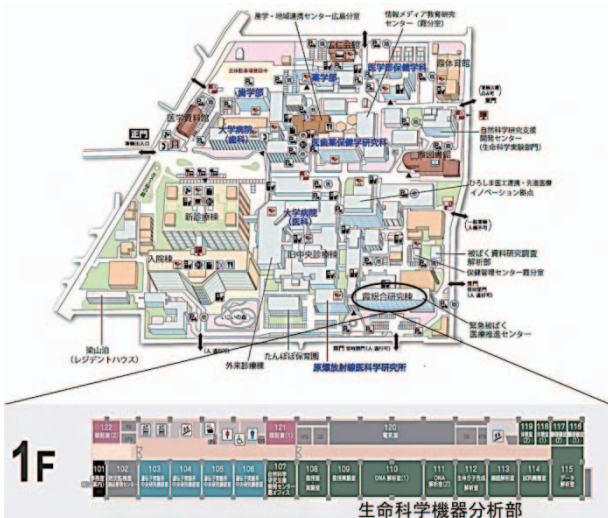


図1. 生命科学機器分析部

2. DNA からタンパク質まで

ヒト細胞1個には約2mのDNAが入っており、それが折りたたまれて染色体を形成している。DNAはA, T, G, Cの4文字で書かれており、ヒトの全DNA配列は約30億文字である。このうち遺伝子と呼ばれる部分は数%で、これは例えば皮膚や神経など、いろいろな働きタンパク質を作るための設計図である。この遺伝子部分がRNAと呼ばれるものにコピー

され、これをもとにそれぞれの役割のタンパク質が作られる(図2)。

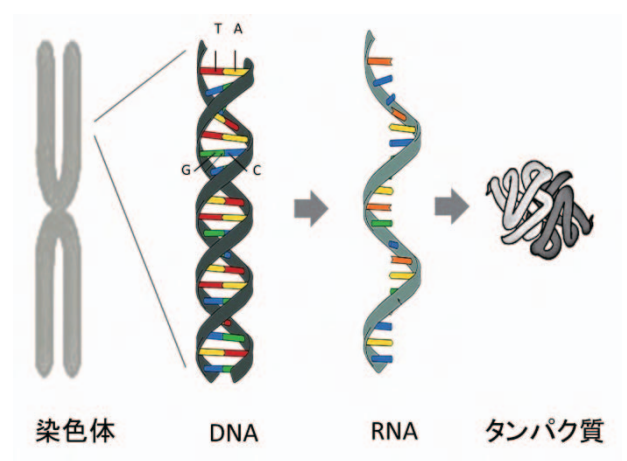


図2. DNAからタンパク質まで

今回紹介するマイクロアレイは、このRNAの量を測定することで、最終的にどの種類のタンパク質が多く作られるかを予測する機器である。また次世代シーケンサーはDNAの配列を読む機器である。例えば癌患者と健康な人では作られるタンパク質やDNA配列に違いがあり、それらの詳細を解析する場合等に使われる。

3. マイクロアレイの依頼解析

(1) マイクロアレイについて

マイクロアレイはRNAの量を測定する機器で複数のメーカーのものがあるが、当施設にはAffymetrix社のGeneChipという機種が導入されている。原理はガラス表面に遺伝子断片が多数のっているアレイというものの中にサンプルを入れ、サンプルと断片が結合した時の蛍光の強さでどの遺伝子の発現量が多いか測定する。

(2) 依頼解析の流れ

まず利用者にRNAを提出してもらい、質をチェッ

クする。問題がなければサンプルを手順通りに処理し(図3), アレイに注入する(図4)。このアレイを一晩オープンに入れてアレイ上の断片とサンプルを結合させ, 続いて染色・スキャンし(図5), 画像を取得する。

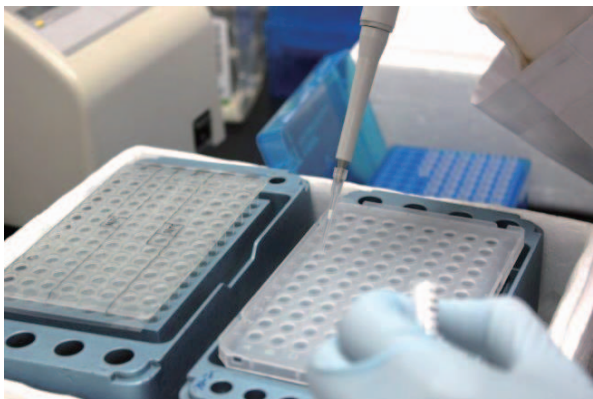


図3. サンプル処理

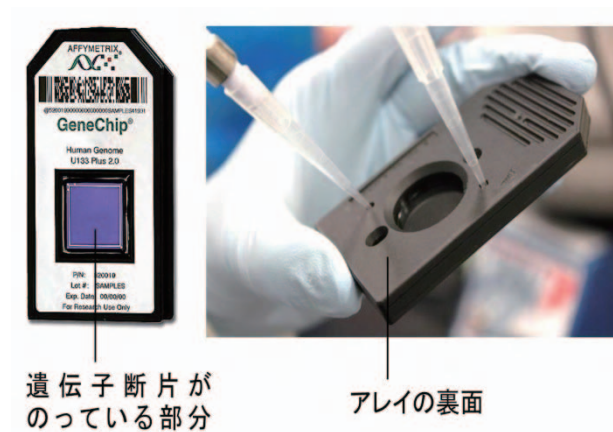


図4. アレイへのサンプル注入



図5. アレイの染色とスキャン

得られた画像の中のマス目1つ1つに遺伝子断片があり(図6), この光の強さを数値にしたテキストファイルを利用者へ返却する。テキストファイルには断片の番号・光の強さを数値にしたもの・対応する遺伝子名が書いてあり, 希望者には解析ソフトをインストールしたパソコンも貸し出している。またこちらのソフトは依頼解析も受け付けており, 利用者同席のもと論文掲載用の図(図7)やリストの作成も行っている。

スキャン画像取得までにかかる日数は3~5日, 24年度利用実績は50件283サンプル, 1サンプル57,000円から受け付けている。

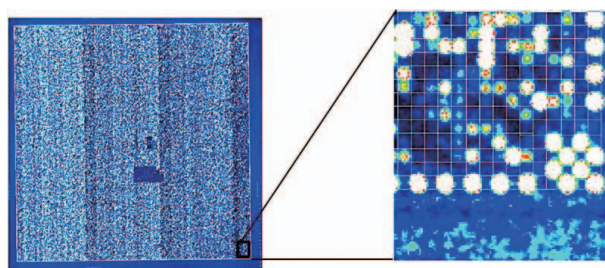


図6. スキャン後の画像

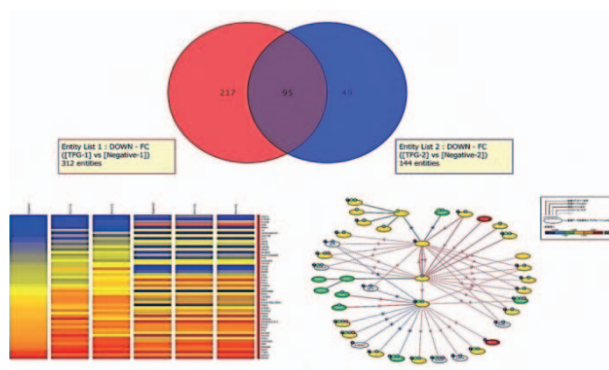


図7. 解析ソフトによる解析

4. 次世代シーケンサーの依頼解析

(1) 次世代シーケンサーについて

これまでのシーケンサーは800個程度のDNA配列を読んでいたが, 次世代シーケンサーはDNA断片をランダムに同時解析することで1回に数千万~十億個以上の配列を読むことができる。簡単な流れとして, 短く切ったDNAを一気にシーケンサーで読み, 読まれたたくさんの短い配列をデータベースなどの参照配列と照らし合わせ, 自分のサンプルの配列で変異が起こっている個所を特定する。

当施設には Hiseq (Illumina 社), Miseq (Illumina 社), ionPGM (Ion Torrent 社) という三台の次世代シーケンサーが導入されているが、今回は一番データ量の多い Hiseq について紹介する。Hiseq の原理はサンプルをガラスでできたフローセルというものに入ると、フローセル上に結合してブリッジしながら増え、同じものが 1000 分子ほどあるクラスタというものを作る。このクラスタの配列を一文字ずつ蛍光で読み取る (図 8)。

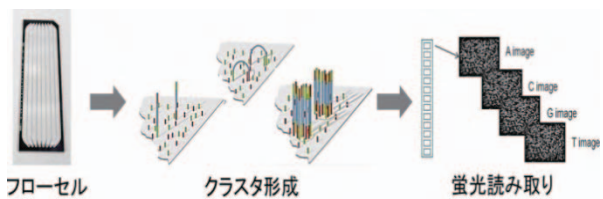


図 8. Hiseq の原理

(2) 依頼解析の流れ

まず利用者にサンプルを市販のキットで処理したものを提出してもらい、質と量をチェックする。問題がなければ試薬・サンプル・フローセルを機械にセットし、フローセル上にクラスタを形成する (図 9)。このフローセルを Hiseq 本体に試薬と一緒にセットし、蛍光を測定しながら配列を読んでいく (図 10)。利用者には配列情報を返却し、希望者には解析ソフトで解析支援も行っている (図 11)。

結果がでるまでにかかる時間は 1 日～2 週間、24 年度利用実績は 23 件、1 ラン 78,000 円から受け付けている (いずれも次世代シーケンサー 3 台分のもの)。

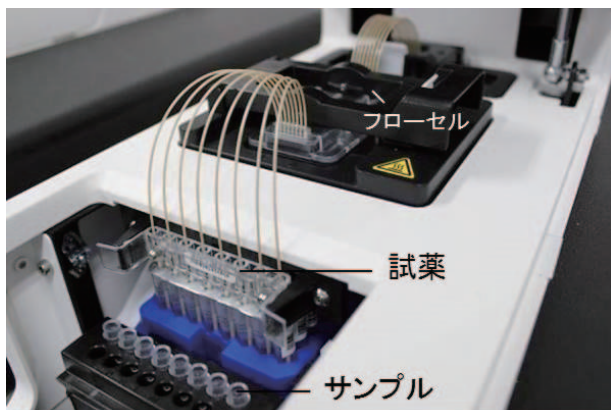


図 9. クラスタ形成

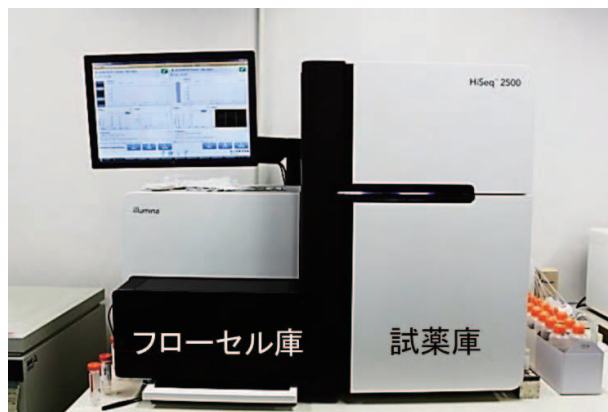


図 10. Hiseq によるシーケンス

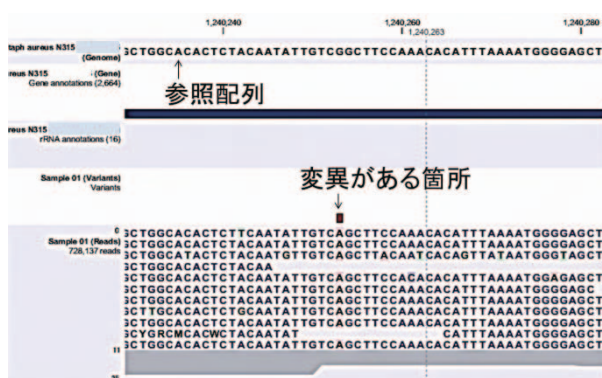


図 11. 解析ソフトによる解析

5. おわりに

生命科学機器分析部では、学内専用ホームページにて機器の基本的な情報や申込用紙などが閲覧できる (図 12)。

URL: <http://home.hiroshima-u.ac.jp/acols/>



図 12. 生命科学機器分析部ホームページ