

平成 20 年 2 月 4 日
各位

会社名 株式会社ジーンデザイン
代表者 代表取締役社長 湯山 和彦
問い合わせ先 学術部 佐藤 秀昭
電話番号 072-640-5180

部位特異的 DNA メチル化検出プローブ ICON プローブの発売を開始

-金属錯体形成を用いた配列選択的 DNA メチル化迅速定量プローブを製品化-

当社は、このたび部位特異的 DNA メチル化を迅速かつ定量的に検出するための、ICON プローブの発売を開始いたしましたのでお知らせ致します。

ICON プローブは、知りたい DNA メチル化部位に、化学反応である金属錯体反応と短い DNA を利用して特異的に結合します。この結合を定量的 PCR など測定することで、従来一晩かかっていたシトシンメチル化検出を最短 2 時間程度と大幅に短縮できます。また、従来法では難しいとされていたメチル化度の定量的解析も可能となりました。本製品は独立行政法人 理化学研究所 フロンティア研究システム 岡本独立主幹研究ユニットの岡本晃充独立主幹研究員による研究成果を基に製品化いたしました。

【背景】

DNA に対するシトシンメチル化・脱メチル化修飾は、ゲノム上の遺伝子発現の活性化・不活性化の鍵であることが知られています。“エピジェネティクス機構”と呼ばれるこの DNA 修飾は、細胞の分化やがん化など、細胞の機能を後天的に決めるさまざまな場面で重要な役割を果たし、生命を司る重要なメカニズムのひとつです。この DNA のシトシンメチル化が、DNA 配列のどこでどのくらいの確率で起こっているかを知ることは、例えばメチル化が原因で発生する細胞のがん化の機構を解く上で重要であると同時に、がん診断の有効な指標として活かすことができます。

しかし、従来の DNA メチル化の検出法では、DNA へのダメージ、実験誤差を最小化するための技術的な労力、実験に必要なサンプル量の多さなどの問題があり、長鎖 DNA 中での発生した任意の位置のメチル基の有無を生化学的に判定する為、新規技術の実用化が必要とされてきました。

【製品の特徴】

ICON プローブとは、独立行政法人 理化学研究所 フロンティア研究システム 岡本独立主幹研究ユニットの岡本 晃充先生の研究によって開発された、新規手法の部位特異的メチル化検出プローブの名称です。ICON プローブは DNA 配列部分（メチル化を調べたい DNA と相補する DNA 断片）と修飾ヌクレオチド部分からなります。標的配列に対して DNA 配列部分により位置取りされた後、修飾ヌクレオチドはオスミウムを介してメチルシトシンと結合し、DNA 鎖間クロスリンク体を形成します。メチル化していないシトシンとの間では、この反応の進行は 400 倍以上と極めて遅くなるため、この反応を使って明確にメチル化を区別出来ます（図 1）。

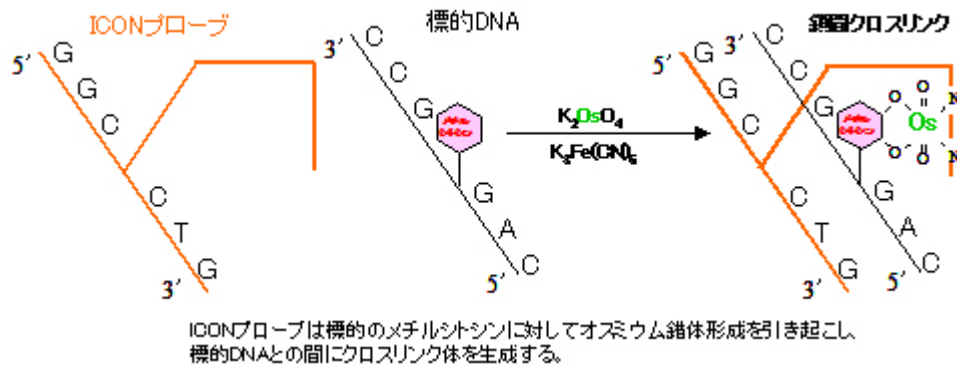


図1. ICON プローブの反応様式

今回は、長い DNA 配列の中から調べたい 1 箇所のシトシンに的を絞って、メチル化検出反応を引き起こすことができる「ICON プローブ」を、部位特異的なメチル化検出ができるように製品化しました。反応溶液をサンプルとして定量 PCR 法を行うことで、微量のゲノムサンプルから調べたい領域のメチル化率を定量化することができます。また、この部位特異的な反応性を利用した新規のアプリケーション開発用に、自由にオリゴヌクレオチドを設計できる製品も準備いたしました。

製品詳細は以下のホームページをご確認ください。

<http://www.genedesign.co.jp/products/icon.html>

【今後の展開】

ICON プローブは DNA 配列のメチル化シトシンを部位特異的にとらえることができることから、DNA 配列のメチル化が関与すると示唆されている、がん化や老化のメカニズムを調べる研究を効率的に推し進めるための研究ツールとして、時間、質、量のすべての点において大きな進展をもたらすこととなります。この技術を基盤として、医療現場で短時間に結果が出る簡便ながん診断システムの開発を目指して開発が進んでいくことが期待されます。

<ご参考>

—用語の解説—

1. DNA メチル化

DNA メチル化とは、DNA メチルトランスフェラーゼという酵素により DNA 中のシトシン塩基の 5 位にメチル基が付加されて 5-メチルシトシンができること。5 位メチル化は塩基対形成には影響しないため、5-メチルシトシンはグアニン塩基と塩基対を形成できる。このため DNA の複製は正常に起こるが、5-メチルシトシンは、遺伝子の発現を構造的に妨害する。このようなメチル化の有無が遺伝子の発現スイッチとして働くことが知られている。近年細胞のがん化などへの関連が注目されている。

2. 金属錯体

金属イオンを中心に、それを取り囲む有機分子から成る複合体。

3. 定量的 PCR

サーマルサイクラーと分光蛍光光度計を一体化した機器を用い、PCR での増幅産物の生成の過程をリアルタイムで検出し、解析する方法。

4. 従来のメチル化検出法

(1) 亜硫酸水素塩法

- ・ 現在最も一般的に用いられている方法
- ・ 原理は亜硫酸ナトリウム処理によって、シトシンをスルホニル化/脱アミノ化し、これを加水分解することでウラシルに変換する反応を用いている。この反応は5-メチルシトシンでは非常に緩徐にしか進まないため、適当な条件化ではメチル化されたシトシンはそのまま、メチル化されていなかったシトシンはウラシルに変換されている。
- ・ 反応後、PCR を行い、シーケンシングすることで検出。または、プローブのハイブリダイゼーションによる検出を行う。
- ・ 反応時間は一般的に16時間(一晚)程度
- ・ 非特異的切断反応が起こり、ほとんどのサンプルの断片化がおこる。

(2) 制限酵素法

- ・ 最も古典的な方法
- ・ 原理は制限酵素が認識配列中のシトシンがメチル化されていることにより、DNA を切断できなくなる現象を利用しています。
- ・ 反応は制限酵素の種類により異なるが、1~数時間程度。
- ・ 制限酵素を用いていることから、検出可能な配列が限られている。
- ・ 生じた DNA 断片の鎖長をゲル電気泳動を用いて判別することでメチル化部位を決定。

5. エピジェネティクス

DNA の塩基配列には変化を起こさないで、特定の遺伝子の働きを抑える仕組みのこと。現在この現象には主に DNA のメチル化修飾、ヒストンのアセチル化などが関与する機構が知られている。生物の正常な発生や分化などに関わる機構であり、特に個体発生に際してダイナミックな変化をし、次世代の細胞へと伝えられる。代表的なものとして、哺乳類ではゲノムインプリンティング(ゲノム刷り込み)やX染色体不活性化などが知られており、最近では細胞のがん化などにも関与していると考えられているため、注目されている。

6. オスミウム

原子番号76の元素。元素記号はOs。酸化物である四酸化オスミウムは炭素-炭素二重結合を酸化し、ジオール(2つのアルコール)を与える。

—会社概要—

株式会社ジーンデザイン (GeneDesign, Inc.)

本社：大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目7番15-306号

代表取締役社長：湯山 和彦

設立：2000年12月

資本金：167百万円(2008年1月末現在)

従業員数：21名(2008年1月末現在)

売上高：194百万円(2007年10月期)

事業内容：DNA/RNA/LNA受託合成・新規核酸合成技術の開発など

以上