

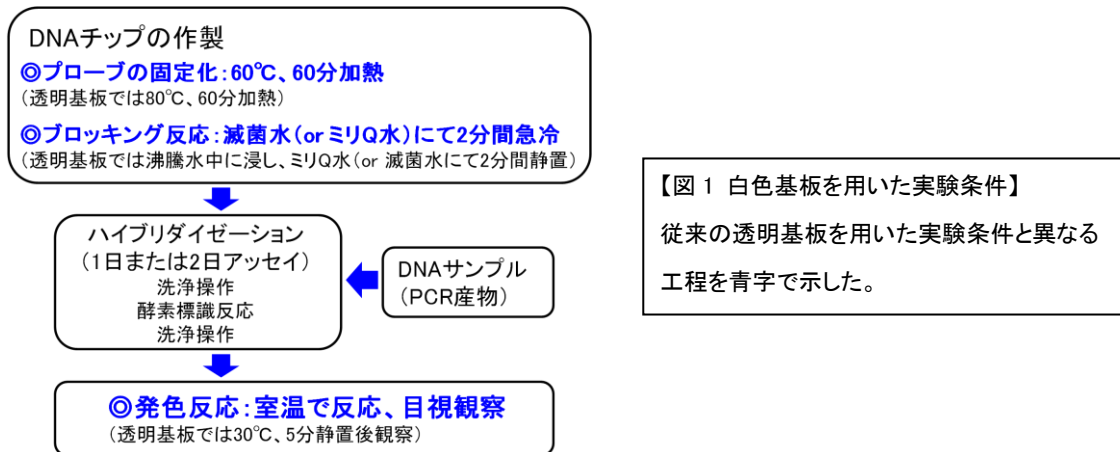
～白色基板を用いた『ハイブリ先生』実施例報告～

東京テクニカルカレッジ バイオテクノロジー科
大藤 道衛

「ハイブリ先生[®]」を用いたPCR-DNAチップ解析は、DNAチップ作りから解析までが手作業で実施でき、結果は発色シグナルを目視判定できるため、遺伝子解析の基礎であるハイブリダイゼーションならびにDNAチップ技術を学べる最適な教材である。しかしながら、透明な基板を用いた従来のキットでは、発色シグナルが弱い時には目視判定が難しい場合があった。今回、目視判定が容易な白色基板(S-BIO基板;住友ベークライト株式会社)を用いた実習実施例を紹介する。

<実験条件>

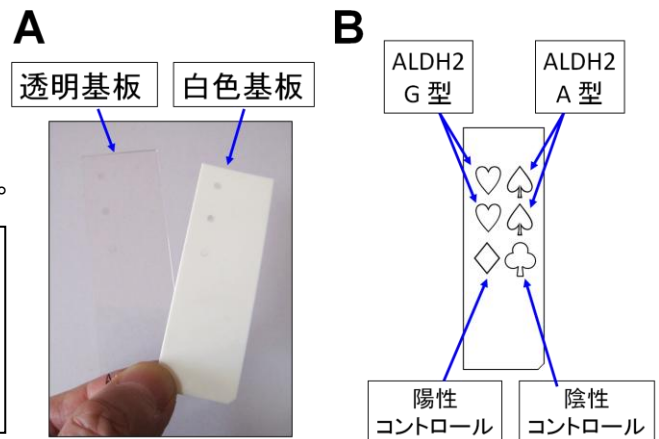
白色基板は熱に弱いため、DNAチップ作製において若干の違いがある。また、酵素反応速度が速く、発色シグナルを室温で目視観察できる(図1)。



<実験結果>

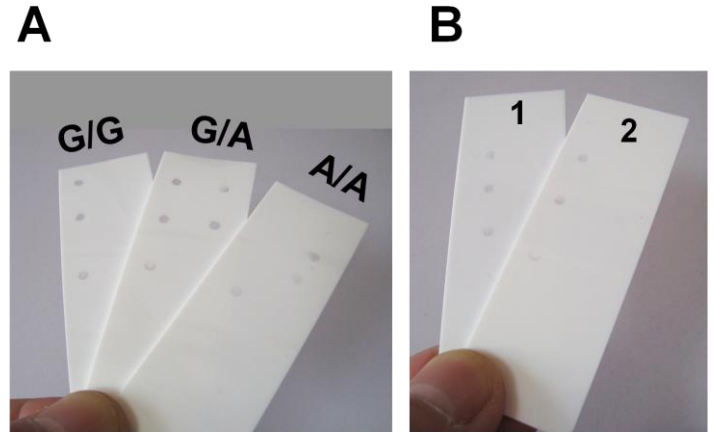
従来の透明基板に比べ白色基板を用いた場合、室温で発色の進行状態を目視観察でき2-3分で十分な発色シグナルが得られた(図2、3)。また、1日、2日アッセイともに同等の結果が得られた。

【図2 透明基板と白色基板の比較】
 A: 透明基板と白色基板の発色結果
 (DNAサンプルのSNPは、G/G型)
 B: 基板上的の吸着しているプローブの種類



【図3 白色基板を用いた実験結果】

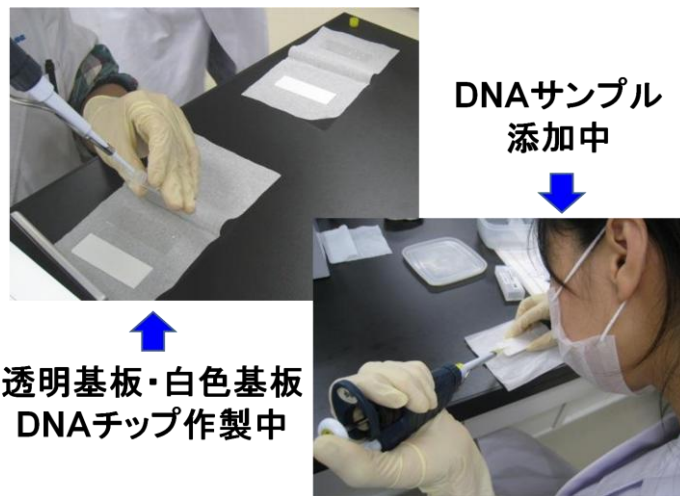
A: 異なる SNP 型をもつ DNA から得られた発色結果。
 B: 2日アッセイ法(1)、1日アッセイ法(2)による発色結果。



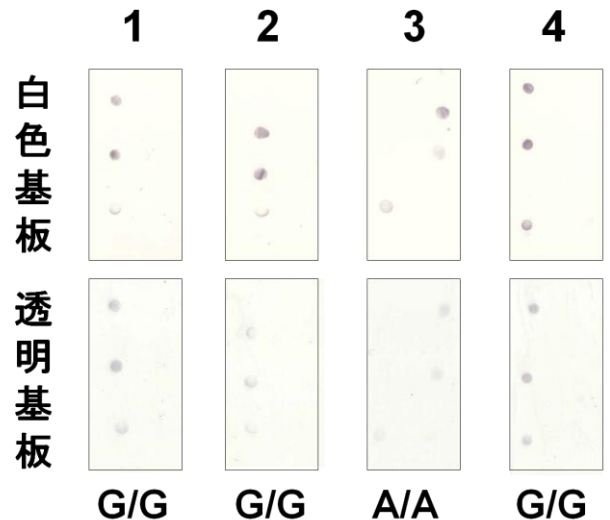
<実施例報告>

実施例1: 学生実習 (於: 東京テクニカルカレッジ バイオテクノロジー科)

この実習は、学生自身のゲノムを抽出し、PCR-RFLP、PCR-DNA chip (白色基板) という原理の異なる2つの方法でSNP型を判定し各方法の比較を行うとともに、パッチ法にてアルコール感受性を調べ表現型との関連も考察するものである(参加学生: 11名)。4例について透明基板を用いた実験も行い結果を比較した。4例ともに透明基板、白色基板による判定は同等であった(図4、5)。また、いずれもPCR-RFLPでの判定と一致した。



【図4 実験スナップ】



【図5 白色基板と透明基板による結果(4例)】

ドット位置はサンプル識別のため各々異なっている。

実施例2: 理科教員研修会 (於: 東洋大学生命科学部)

東洋大学生命科学部主催によるヒトゲノムDNAを対象とした実験教育研修会(参加者40名)にて、PCR-RFLP および「ハイブリ先生」を用いたPCR-DNA chip(透明基板)を実施した。この際、参加者6名の協力により白色基板を用いた実験を行った(図5)。6例いずれの白色基板でも、明確な発色シグナルによりSNP型が判定され、PCR-RFLPの判定結果と一致した。

協力: 東洋大学生命科学部 一石昭彦先生、道久則之先生、高品知典先生



研修風景



白色基板使用例



図6 研修風景ならび白色基板による判定結果

<考察>

従来の透明基板をもちいた方法では、目視による反応停止の機会を逃してしまい、非特異的発色により G/A 型と誤って判定されることや、発色シグナルが弱い時には、判定が困難な場合があった。しかし、白色基板を用いることで、このような場合でも観察が容易になると思われる。一方、白色基板は熱に弱いので、DNA チップ作製時の温度が 60°C を大きく超えた場合 (70–80°C) には、基板が湾曲しその後の操作に支障をきたす場合がある。筆者も温度管理の不善から基板を湾曲させた経験があったが、ハイブリダイゼーション反応には支障はなかった。教育目的でゲノム DNA を解析する場合、実験操作に不慣れなためゲノム DNA の抽出率が低い場合や、材料に依存した PCR の阻害物質 (例えば毛髪を材料とした場合のメラニン) の混入により PCR 反応効率が低い場合では発色シグナルが弱いことがある。このような場合でも白色基板を用いることで「ハイブリ先生®」が容易に使用できると考えられる。

<実習実施における倫理的な配慮>

本実施例の実施に当たっては、文部科学省、厚生労働省、経済産業省が合同で定めた倫理指針「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(三省指針) を踏まえ、参加者は自らのゲノム DNA に含まれる個人遺伝情報を実験に用いる同意書を作成し実験に臨んだ。また、実験終了後、用いたゲノム DNA は 1M HCl にて加水分解することで個人遺伝情報を保護した(1, 2)。

<参考文献>

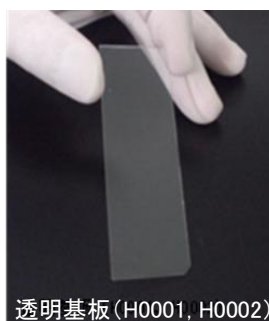
1. 笹川 由紀、佐々 義子、大藤 道衛、小野道之: 教育目的ヒトゲノム・遺伝子解析実験の普及と実施指針についての検討 生物教育 49, 90-107(2009)
2. 大藤道衛: リテラシーとしての遺伝子教育③「実験を含むヒトゲノム教育」 バイオテクニシャン 14, 27-33 (2006)



【ハイブリ先生 製品ラインナップ】

製品名	実験可能人数	型番	価格(税別)
白色基板 3枚セット	3名	H0003	¥20,000
白色基板 10枚セット	10名	H0004	¥39,800

*「ハイブリ先生®」は住友ベークライト社製のオリゴ DNA 固定化基板(S-BIO®)を採用しています。



透明基板 (H0001, H0002)



白色基板 (H0003, H0004)

【お問い合わせ】



株式会社DNAチップ研究所

〒105-0022 東京都港区海岸 1-15-1 スズエベイディアム 5階

技術サポートセンター

TEL: 03-5777-1688

E-mail: dnachip-support @dna-chip.co.jp

受付時間: 平日 9:30~17:30(土、日、祝日はお休みをいただいております)

(製品ホームページ: <http://www.dna-chip.co.jp/products/sensei/>)

