

## 「日本人BACを用いた革新的染色体異常解析基盤技術開発」

- 1) BACを用いた高精度全ゲノムアレイの開発
- 2) 染色体異常を解析する革新的要素技術の開発

実施部門：(独)産業技術総合研究所  
平野 隆

1/10

### 1) BACを用いた高精度全ゲノムアレイの開発

産総研

### 日本人BACライブラリー構築の研究開発



#### ・日本人の証明

4遺伝子座 (HLA領域)

#### ・ゲノムの安定性

EBウイルス不死化なし

→ゲノム損傷最少

#### ・33万クローンの大規模ライブラリー

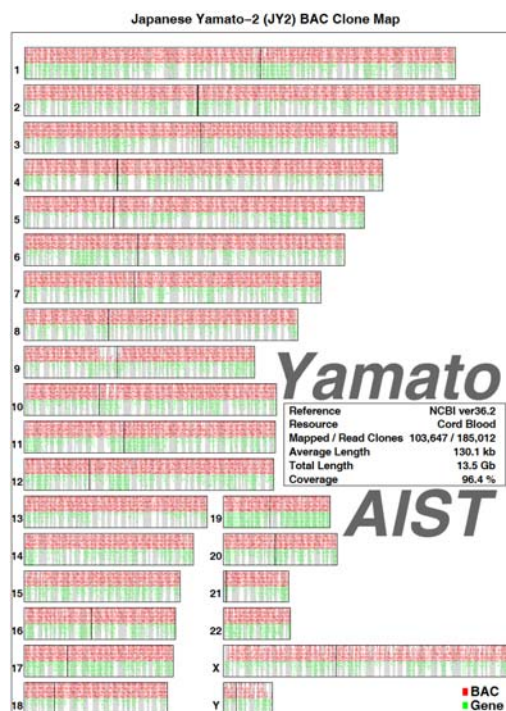
→重複度14.3、カバー率96.4%

ヒトゲノム重複度14.3の大規模ライブラリー  
(330K)

物理的地図完成 (カバー率96.4%)

#### 論文

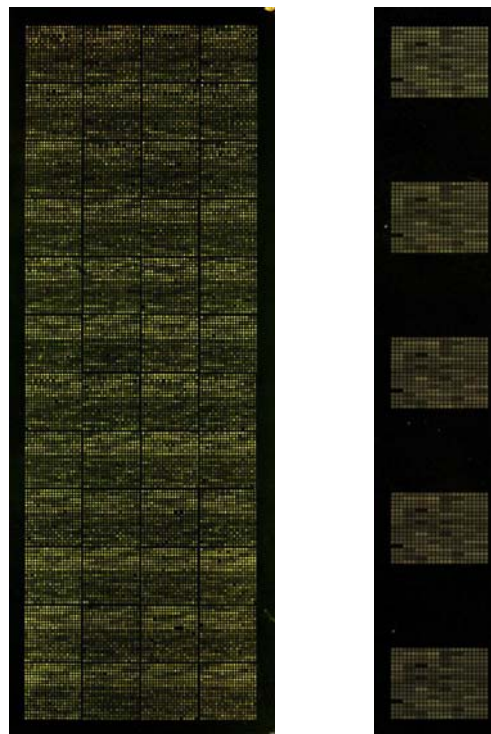
- 1) Saito S, Morita K, Kohara A, Masui T, Sasao M, Ohgushi H, Hirano T. Hum Cell. (2011) 24:2-8
- 2) Terabayashi Y, Morita K, Park JY, Saito S, Shiina T, Inoko H, Ishiwata I, Fujimori KE, Hirano T. Hum Cell. 2011 (Electronically published)



産総研 **日本人BACを用いた高精度全ゲノムアレイの開発**



- ・全ゲノム領域をカバーする  
17Kタイリングアレイの作製  
(日本人BACクローン抽出DNA)
- ・全ゲノムタイリングアレイの作製  
現行製品を大きく上回る解像度 (0.16MB)  
(従来型4K: 解像度0.76MB)
- ・日本人BACを用いた  
疾患別臨床診断用ミニアレイの作製  
(山口大学医学部共同研究)
- ・全ゲノムタイリングアレイと疾患別ミニアレイによる  
癌細胞培養株および臨床検体由来DNA  
同時解析による有用性実証



トヨーエテック **高精度表面加工修飾技術の研究開発**



**特徴**

- ①高精度パターニング
- ②DNAの特異結合機能

⇒ 高精度DNAチップ基板の開発

**開発製品**

**開発技術** DNA結合性を高める独自表面処理技術

結晶配向性(XRD) ● (111) ■ (200)

強度 (a.u.)

2θ (°)

独自技術

Conventional

表面粗さ: Ry < 3nm

表面粗さ Ry > 3nm

⇒ 高い結晶配向性と緻密な結晶形態

**結果**

**精度評価**

高精度

誤差σ	
ピッチ	0.7 μm
直径	1.0 μm

200 μm

**強度(γ3)輝度評価**

高輝度

明瞭な境界

バックグラウンドノイズが少ない

⇒ 市販品をしのぐ高精度かつ高輝度なDNAチップ基板の実現

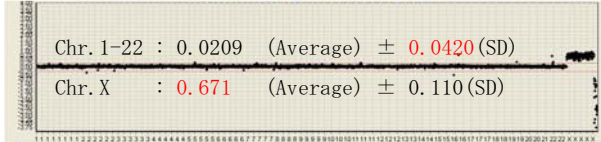
和光純薬 **新規ゲノムアレイ用蛍光標識化技術の研究開発**



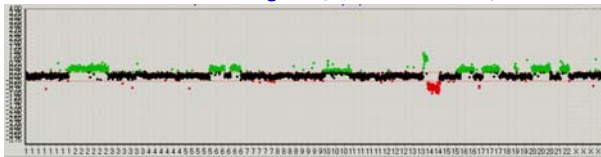
Genomic DNA Labeling Kit 2007年2月発売



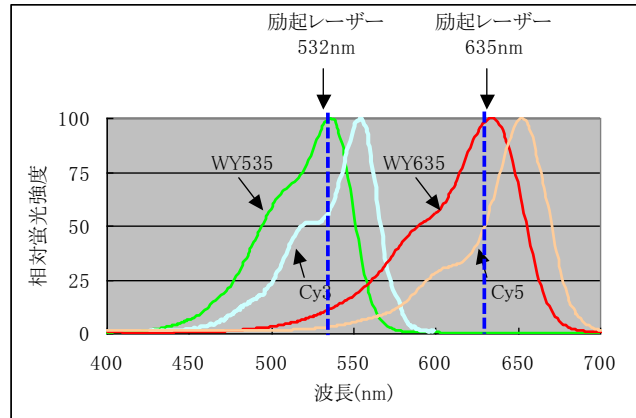
Genomic DNA Labeling Kit (WY547, WY647) 使用  
正常ヒトMaleとFemaleのCGH解析例



Genomic DNA Labeling Kit使用 肝癌細胞株解析例



既存のレーザースキャナーの励起波長にあった  
**新規蛍光標識ヌクレオチド**を開発



	分子量	MASSデータ (m/z)	極大吸収波長 (λ max)	極大励起波長 (Ex max)	極大蛍光波長 (Em max)
WY535	825	824(nega)	536nm	536nm	557nm
Cy3			550nm	550nm	570nm
WY635	851	850(nega)	634nm	635nm	655nm
Cy5			649nm	649nm	670nm

特許出願 (PCT JP2008/051215)  
ゲノムDNA断片の増幅または欠失の検出方法

産総研開発の日本人BACを用い、トヨエテック社製基板で作製した胃癌診断用ミアレイについて、本蛍光標識試薬と横河電機社製ハイブリ装置とスキャナーで解析、良好な結果が得られた。

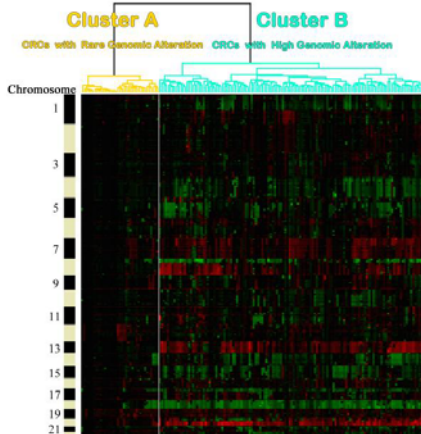
日本人BACを用いた革新的染色体異常解析基盤技術開発

九州大学

**大腸発癌関連遺伝子多型とアレイCGH解析**



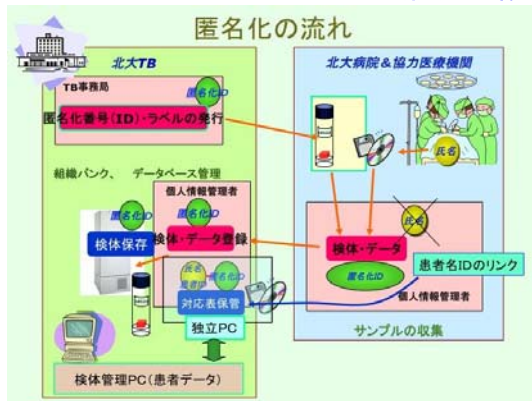
- ・ Affymetrix 500K全ゲノム相関解析
- ・ GWASを使用した日本人の大腸癌 (1758(症例)、2962(対照)) 感受性遺伝子多型解析
- ・ 大腸癌におけるaCGH (大腸癌細胞157例)



Cluster A: MSI	Cluster B: MSS
8q24 non-risk	8q24 risk
染色体安定	染色体不安定

- リンパ節転移と有意に相関( $q < 0.01$ ); 8p12
- 静脈侵襲と有意に相関( $q < 0.01$ ); 8p11.23
- リンパ管侵襲と有意に相関 ( $q < 0.01$ ); 8p11.23
- 右にくらべ左側に有意に多い( $q < 0.01$ ); 18q23
- 腹膜播種に関する領域; 8p12

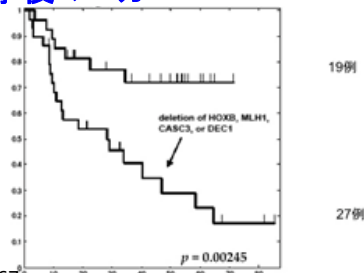
癌組織バンクにおける個人情報保護



北大癌組織バンク実績

施設名	甲状腺癌	乳癌	食道癌	胃癌	大腸癌	HCC	CCC	胆嚢癌	胆管癌	膵臓癌	その他	症例数
北大	84	366	9	138	308	575	38	19	49	48	182	1816
A	0	0	0	12	23	0	0	0	0	0	0	35
B	0	0	6	16	22	0	0	0	0	1	4	49
C	0	6	0	15	45	5	0	0	0	0	1	72
D	0	10	2	19	30	1	0	0	0	0	0	62
E	0	6	0	27	71	2	1	0	0	0	0	109
F	0	10	0	25	86	4	0	0	0	0	2	127
G	0	51	4	83	170	1	0	0	1	0	3	313
H	0	5	0	19	86	25	1	0	0	0	5	141
I	2	42	0	40	86	2	0	0	0	0	1	173
J	0	9	0	15	20	2	0	0	0	0	4	50
K	0	7	0	10	41	0	0	0	0	0	0	58
L	2	31	0	44	100	13	0	0	0	2	8	200
M	0	10	0	13	28	0	0	0	0	0	1	52
N	0	10	0	30	63	7	3	0	0	2	4	119
O	2	9	1	49	165	1	0	0	0	0	2	229
P	0	10	1	5	6	1	0	0	0	0	1	24
Q	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0	1	25
計	90	582	23	560	1374	639	43	19	50	53	221	3654

BAC CGH解析により見出された胃癌予後マーカー



事業原簿 p163-p167

胃癌関連領域選択 (50症例)

- ・リンパ節転移
- ・癌深達度 (早期癌、進行癌)
- ・肝転移
- ・腹膜播種
- ・組織型

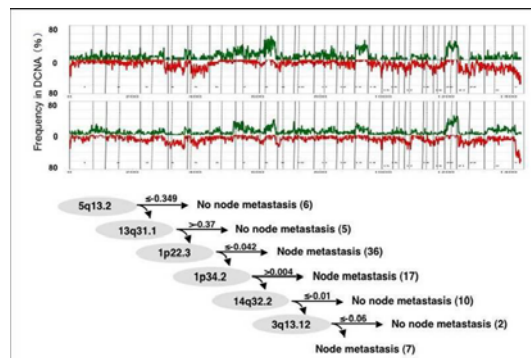
該当領域日本人BACクローン選択

- ・該当領域 60
- ・コントロール 84
- 計 144



診断用ミアレィ作製

有用性評価 (30症例)

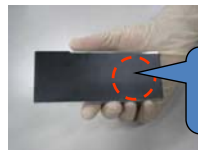


症状	検出率
リンパ節転移	66.7%
肝転移	86.7%
腹膜播種	86.7%
癌深達度	96.7%



効率的な物理攪拌によるハイブリを実現するハイブリシステムと、深い焦点深度の読取装置を連携させた、実用的なサイズのシステムが完成

**物理的ハイブリシステム**  
物理的な強制攪拌によりチップ上の核酸濃度分布や反応を制御



チップ内蔵

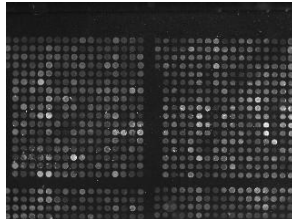
**深い焦点深度の読取装置**  
物理的ハイブリシステムによるハイブリ結果を測定するための、高感度測定システムを開発



ハイブリ処理装置  
240(W) x 400(H) x 500(D) mm

手のひらサイズ

物理ハイブリユニット  
54(W) x 123(D) x 11(H) mm



物理攪拌ハイブリ画像(液中Cy5)



読取装置  
210(W)  
500(H)  
420(D) mm

物理攪拌によりハイブリ光量への約2倍の効果を確認

2色の液中計測が可能

マルチビーム・ディスク方式により、深い焦点深度、高感度、高S/Nを確認

日本人BACを用いた革新的染色体異常解析基盤技術開発

日本人BACゲノムライブラリーに基づく癌の個別化診断・医療

