

◆医療・生命◆ 蛍光色素で遺伝子の異常をすばやく高感度に検出

最近、DNAの化学変化(エピジェネティクス)の中でも特にDNAのメチル化は、がんなどの重篤な疾患と関連があることが明らかとなってきた。DNAのメチル化を検出することによりがんの早期診断が可能となる。これまでのPCR法を用いた方法は煩雑で、微小な変化を検出することができなかった。本研究では、蛍光色素を使ってDNAの塩基の違いを容易に検出できる方法を開発した。DNAのメチル化を蛍光変化により判定し、大腸癌に関連する遺伝子異常(メチル化)を検出することができた。今後の研究により他のがんに関連する遺伝子異常の検出やメチル化数の定量などが期待される。

【F1009】

蛍光性ペプチドインターカレータによるDNAメチレーション検出

(九州工大院工) ○大塚圭一・佐藤祐介・佐藤しのぶ・竹中繁織

[連絡者: 竹中繁織, 電話: 093-884-3322, E-mail: shige@che.kyutech.ac.jp]

DNAの異常(化学的変化)が様々な病気に関係している。その中で後天的DNA変化(エピジェネティクス)によって引き起こされる病気の重要性が認識されてきている。この一つに”DNAメチレーション”が挙げられる。DNAメチレーションとはDNA構成成分であるシトシン(C)にメチル基(-CH₃)が修飾される現象のことである。近年、この僅かな化学変化と癌等の重篤な病気に相関があることが分かってきた。この関係は、DNAのメチレーションを検出することが癌の診断方法になることを意味している。さらに、癌化する細胞ではすでにDNAメチレーションが起こっていることもあり、早期診断やリスク診断の観点からDNAメチレーションは癌診断の有用な検査指標とされている。こういった背景から、これまでにDNAメチレーションを検出するための様々な手法が提案されてきた。その一般的な手法の一つとして、サンプルDNAの亜硫酸処理とそれに続く増幅処理(PCR)がある。この手法はメチレーションが起こったシトシンを選択的にチミン(T)に変換するものでメチル基修飾の有無という僅かな差を核酸塩基の違いといった大きな差にして検出できる。この手法は有用であり、多用されているが手作業の部分が多く煩雑であるのみならず増幅処理で精製したDNA(PCR産物)の内部に関する微小な変化は識別できない。

本研究では、DNAメチレーションを容易に検出できる手法の開発を目的としている。その概念を下図に示した。亜硫酸・増幅処理によって生じた核酸塩基の差を読み取るのに、我々がこれまでに開発した蛍光色素を用いることにした。この色素(FKA)はDNAサンプルの量をあらかじめ測ることなく塩基の違いを蛍光変化によって検出できる試薬である。亜硫酸処理後のサンプルDNAは塩基の変化を生じているのでFKAを加え蛍光測定するだけでDNAメチレーションの有無を判定できると期待される。実際に大腸癌と関連するCDH4遺伝子の異常メチレーションの有無を判定することに成功した。異常メチレーションによって癌が引き起こされる別の遺伝子への適用やPCR産物内部のメチレーション数の定量化についても検討しており、併せて発表する予定である。

