

56438・発明者：間野博行・名称
「慢性骨髄性白血病の分子診断方
法」・出願人：藤沢薬品工業株式会
社・出願日 2001 年 3 月 1 日

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）

分担研究報告書

プライマリーヒト肝・腎細胞を用いた薬剤曝露、遺伝子発現に関する研究
マイクロアレー実施・データ解析・精度管理

分担研究者 大島康雄 自治医科大学臨床薬理学助手

研究要旨

Affymetrix 社の DNA チップである GeneChip®を用いたデータ解析の信頼性の確認とその維持は一つの重要な課題である。平成 15 年 2 月までにデータ解析に供された 61 の GeneChip®スキャンデータを元にそのバックグラウンドノイズおよび今回の検体で恒常的に発現していると考えられた GAPDH および HSA のそれぞれの 5'末端と 3'末端発現量の比を検討することにより、当研究室におけるプロトコールに従った発現解析の信頼性を裏付けるデータを得た。

A. 研究目的

今後我々の研究で利用すデータの信頼性・再現性を担保することを目的とする。

たは当研究グループの倫理評価 WG が承認した方法で得た臨床検体である。

B. 研究方法

平成 15 年 2 月までにデータ解析に供された 61 の GeneChip®スキャンデータ（細胞株 4 検体・臨床検体由来ヒトプライマリーカルチャー 57 検体）の中で、バックグラウンドノイズおよび今回の検体で恒常的に発現していると考えられた GAPDH および HAS のそれぞれの 5'末端と 3'末端発現量の比を検討した。

C. 研究結果

バックグラウンドノイズは 54.08 ± 7.89 , GAPDH の 3'/5'比は 1.56 ± 0.39 , HSA の 3'/5'比は 1.66 ± 1.09 であった。これらの度数分布図を以下に示す（図 1～3）。

（倫理面への配慮）

本研究に用いた細胞はすべて、細胞株ま

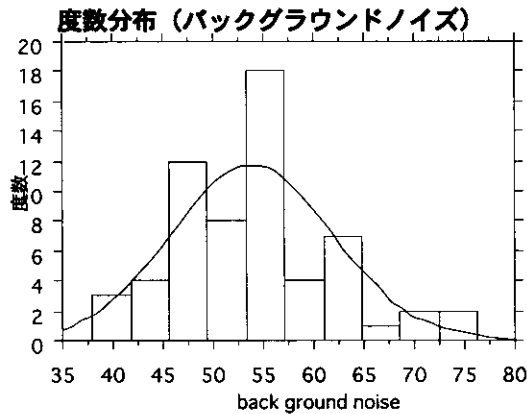


図 1. バックグラウンドノイズの度数分布図

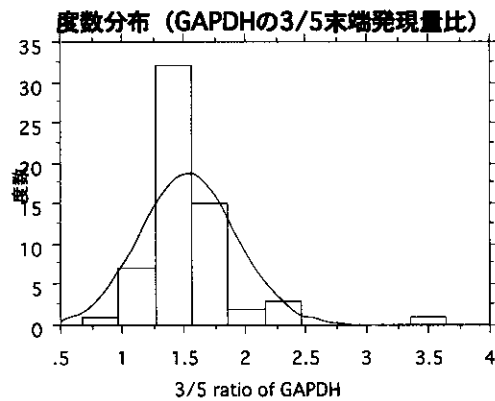


図 2. GAPDH の 3'/5'末端発現量比の度数分布図

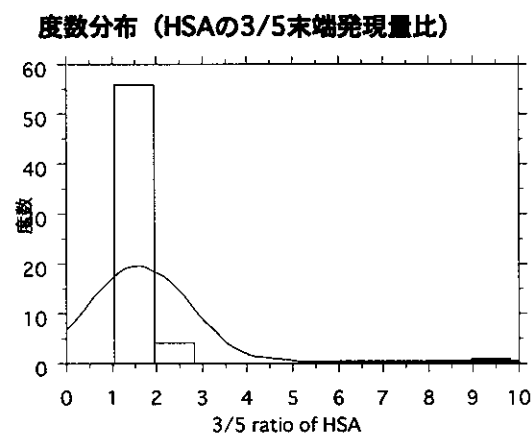


図 3. HSA の 3'/5'末端発現量比の度数分布図

D. 考察

バックグラウンドノイズについて： スキャナーのセッティングが正しく、サンプルの質が良好であった場合にはバックグラウンドノイズは 20~100 であることが期待されるが、我々の値は 54.08 ± 7.89 であり (図 1)、また 20 未満あるいは 100 以上の値はなかった。以上の結果よりサンプルの質およびスキャナーが安定していたものと考えられる。

3'/5'比について： GeneChip®システムでは、cRNA 合成に至るまではじめのステップでポリアデニレーションに対して相補的なオリゴ DNA を用いて T7 プロモーターを mRNA に付加する。従って、サンプルが何らかの理由で正しく分離・保管されておらず、RNA が崩壊していた場合には 3'/5'比が高くなるということが知られている。これまでの研究により、サンプルの信頼性はこの値が 3.00 未満であることが必要である。今回の我々のデータでは GAPDH が 1.56 ± 0.39 (図 2)、HSA が 1.66 ± 1.09 で (図 3)、1 検体をのぞき 3.00 未満であった。HSA および GAPDH で 3.00 を超えた検体は同一の検体であり、この検体は解析から除くことが適当と考えられた。

E. 結論

GAPDH および HSA の 3'/5'比およびバックグラウンドノイズの検討より、我々の使用している細胞を用いて本プロトコールで解析して得られたデータには信頼性があると考えられる。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

4. 論文発表

なし

5. 学会発表

なし

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

3. 特許取得

なし

4. 実用新案登録

なし

6. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Mano H	TEC KINASES		Wiley Encyclopedia of Molecular Medicine	John Wiley & Sons, Inc.	Heboken, NJ	2002	3107-3110

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yoshida K, Ueno S, Iwao T, Yamasaki S, Tsuchida A, Ohmine K, Ueda M, Yamashita Y, Ota J, Chayama K, Sato K and Mano H	Identification of pancreatic ductal carcinoma-specific genes by DNA microarray with ductal cells of normal- and cancer-origin	Cancer Sci	In press		
Suzuki N, Nakamura S, Mano H and Kozasa T	G α 12 activates Rho GTPase through tyrosine-phosphorylated leukemia-associated RhoGEF	Proc Natl Acad Sci USA	100	733-738	2003
Ohki R, Yamamoto K, Mano H, Lee RT, Ikeda U and Shimada K	Identification of mechanically induced genes in human monocytic cells by DNA microarrays	J Hypertens	20	685-691	2002
Makishima H, Ishida F, Ito T, Kitano K, Ueno S, Ohmine K, Yamashita Y, Ota J, Ota M, Yamauchi K and Mano H.	DNA microarray analysis of T cell-type lymphoproliferative disease of granular lymphocytes	Br J Haematol	118	462-469	2002

健康危険情報

なし

20020782

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.23の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。