

- ジウム2004 (2004. 11) つくば
- 100) 伊佐間和郎、齋島由二、長谷川千恵、小園知、佐々木和夫、土屋利江：「ガンマ線照射天然医療材料の生体適合性評価」日本バイオマテリアル学会シンポジウム2004 (2004. 11) つくば
- 101) 伊佐間和郎、土屋利江：「ガンマ線照射ポリ乳酸のアパタイト形成能」日本バイオマテリアル学会シンポジウム2004 (2004. 11) つくば
- 102) 五十嵐良明、鹿庭正昭、土屋利江：「マウスを用いたタンパク材料の即時型アレルギー性評価」日本バイオマテリアル学会シンポジウム2004 (2004. 11) つくば
- 103) 中岡竜介、長幡操、寺本彰、阿部康次、土屋利江：「高分子電解質錯体上での骨芽細胞の機能変化とその安全性の予測」日本バイオマテリアル学会シンポジウム2004 (2004. 11) つくば
- 104) Toshie Tsuchiya: Evaluation of Cell and tissue Based Products in Japan. The 2nd KFDA-KRIBB Joint International Symposium International Harmonization on Biopharmaceuticals. 2004 10. Korea
- 105) 土屋利江：「前臨床試験としての動物モデル（特徴と限界）総論」第2回医療機器フォーラム 医療機器・細胞組織医療機器の前臨床試験等について (2004. 10) 東京
- 106) 土屋利江：招待講演「国内における医療用具の安全性対策について」第42回日本人工臓器学会大会 (2004. 10) 東京
- 107) 土屋利江：招待講演「金属材料等の評価について」第44回日本歯科理工学会学術講演会 (2004. 9) 京都
- 108) 土屋利江：「期待される材料開発」交流連携推進委員会 医療準備会 (2004. 8) 東京
- 109) 土屋利江：「医療機器としての人工臓器の開発」みらいせらい展健康系イベントシンポジウム 人工臓器とファイバー (2004. 8) 東京
- 110) 土屋利江：「再生医療デバイス実用化のために」みらいせらい展健康系イベントシンポジウム 再生量を切りひらくファイバーエンジニアリング (2004. 8) 東京
- 111) 五十嵐良明、鹿庭正昭、土屋利江：「マウスを用いた医用材料のアレルギー性評価法に関する検討」日本トキシコロジー学会学術年会 (2004. 7) 大阪
- 112) 土屋利江：「医療用具の安全性」第35回バイオメディカルカリキュラム講義 (2004. 7) 東京女子医科大学
- 113) 土屋利江：「医療機器、医療材料の薬事法改正による安全性確保対策等について」第20回日本人工臓器学会 教育セミナー (2004. 7) 東京
- 114) Nasreen Banu, Toshie Tsuchiya, Saifddin Ahmed, Rumi Sawada: Studies on the efficacy, safety and quality of the tissue engineered products: Influence of a catalyst used in the synthesis of biodegradable polymer on chondrogenesis of human articular cartilage. 第7回日本組織工学会 (2004. 7) 東京
- 115) Saifddin Ahmed, Toshie Tsuchiya, Yutaka Kariya: Studies on the efficacy, safety and quality of the tissue engineered products: Effect of new polysaccharides in Human mesenchymal stem cells. 第7回日本組織工学会 (2004. 7) 東京
- 116) 澤田留美、伊藤友実、松田良枝、土屋利江：「細胞組織医療機器の有効性・安全性・品質評価に関する研究(2) 遺伝子発現解析によるヒト間葉系幹細胞とポリ乳酸の相互作用について」第7回日本組織工学会 (2004. 7) 東京
- 117) 伊藤友実、澤田留美、松田良枝、松岡厚子、土屋利江：「胞組織医療機器の有効性・安全性・品質評価に関する研究(3)- ヒト間葉系幹細胞における TGF- β の遺伝子発現解析について」第7回日本組織工学会 (2004. 7) 東京
- 118) 長幡操、柳楽勤、土屋利江、阿部康次「採取年齢の違いによるヒト骨芽細胞の分化の顕著な違いと硫酸化ヒアルロン酸にตอบสนองする細胞内シグナル伝達分子の探索」第7回日本組織工学会 (2004. 7) 東京
- 119) 土屋利江：「なぜ医療機器は海外で開発されるのか？-日本の現状と課題」次世代医療システム産業化フォーラム 2004

- (2004. 6) 大阪
- 120) Toshie Tsuchiya, Nasreen Banu, Sadami Tsutsumi : Different action on the chondrogenesis of human articular chondrocytes with hyaluronic acid and collagen matrix. 7th World Biomaterial Congress (2004, 5) Sydney
- 121) Toshie Tsuchiya: Recent Activities of Standards of Medical Devices and Tissue Engineered Products in Japan. International Conference on Biomaterials and Tissue Engineering 2004 (2004, 5) Kuala Lumpur. (invited lecture)
- 122) Toshie Tsuchiya: Overview on Biological and Clinical Evaluation. International Conference on Biomaterials and Tissue Engineering 2004 (2004, 5) Kuala Lumpur. (invited lecture) .
- 123) 土屋利江:「医療機器、細胞組織医療機器の製品化のための規制環境の整備について」東京大学医科学研究所 講演(2004. 4) 東京
- 124) 土屋利江:「再生医療に関わる評価技術とその標準化」第3回 CERES 研究会・講演会 (2004. 4) 東京
- 125) 早川堯夫: バイオ医薬品の製法変更における諸問題: 日本動物細胞工学会研究会 (2003. 4)
- 126) 高 建青, 形山和史, Soares, A. L., 水口裕之, 早川堯夫, 中山隆志, 義江 修, 堤 康央, 真弓忠範, 中川晋作: ケモカイン及びサイトカイン発現アデノウイルスベクターの併用による癌遺伝子治療の最適化, 日本薬剤学会第 19 年会 (2003. 4)
- 127) 小泉直也, 増山 茜, 近藤昌夫, 藤井まき子, 水口裕之, 早川堯夫, 中島恵美, 宇都口直樹, 渡辺善照: ヒト胎盤由来細胞へのアデノウイルスベクターによる遺伝子導入効率の検討, 日本薬剤学会第 19 年会 (2003. 4)
- 128) 川崎ナナ, 早川堯夫: LC/MS を用いた糖鎖のプロファイリングと構造解析. 第 53 回電気泳動学会シンポジウム (2003 年, 大阪)
- 129) 川崎ナナ, 伊藤さつき, 蜂須賀暁子, 橋井則貴, 澤田純一, 川西 徹, 早川堯夫: 2次元電気泳動及び LC/MS を用いたグライコム解析. 科学研究費補助金特定領域研究「糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節」第一回夏期シンポジウム (2003 年, 浜松)
- 130) 川崎ナナ: 糖タンパク質の質量分析. 横浜バイオテクノロジー懇談会平成 15 年度第 1 回リカレント講座「マスマスプロトリーとプロテオミクスー蛋白質研究の最前線」(2003 年, 横浜)
- 131) Nana Kawasaki, Noritaka Hashii, Jin Yuan, Satsuki Itoh, Akira Harazono, Akiko Ishii, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Isotope tag method for quantitative oligosaccharide analyses by LC/MS. 第 76 回日本生化学会大会 (2003 年, 横浜)
- 132) Noritaka Hashii, Nana Kawasaki, Satsuki Itoh, Masashi Hyuga, Toru Mawanishi, Takao Hayakawa: Oligosaccharide profiling of cell membrane by LC/MS. 第 76 回日本生化学会大会 (2003 年, 横浜)
- 133) Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Akiko Hachisuka, Reiko Teshima, Jun-ichi Sawada, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa: Analysis of IgLON family protein in rat brain by gel electrophoresis and capillary LC/MS. 第 76 回日本生化学会大会 (2003 年, 横浜)
- 134) Kayoko Takagi, Reiko Teshima, Haruyo Okumuki, Satsuki Itoh, Nana Kawasaki, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa, Jun-ichi Sawada: Digestive stability and allergenic potential of chicken egg white ovomucoid and their pepsin-fragments. 第 76 回日本生化学会大会 (2003 年, 横浜)
- 135) Akiko Ishii-Watabe, Edwin Chang, Nana Kawasaki, Toru Kawanishi, Takao Hayakawa, John Cooke: Transcriptional profiling in nicotine-treated human microvascular endothelial cells. 第 76 回日本生化学会大会

- (2003年, 横浜)
- 136) 藤野智史、宇根瑞穂、豊田淑江、山口照英、井上和秀、最上(西巻)知子: 表面プラズモン共鳴センサーを用いた核内受容体 FXR リガンド結合の測定. 日本薬学会 123 年会. (2003. 3. 23、長崎)
- 137) Kanayasu-Toyoda, T., Oshizawa, T., Suzuki, T., Uchida, E., Hayakawa, T. and Yamaguchi, T: Role of PKC ϵ on G-CSF signaling pathway in differentiating HL-60 cells into neutrophils. The 6th World Congress on Inflammation. (2003. 8. 5 Vancouver, Canada).
- 138) Kanayasu-Toyoda, T., Oshizawa, T., Suzuki, T., Uchida, E., Hayakawa, T. and Yamaguchi, T Role of PKC ϵ on G-CSF signaling pathway in differentiating HL-60 cells into neutrophils. 第 76 回 日本生化学大会. (2003. 10. 16、横浜)
- 139) Fujino T, Sato Y, Une M, Kanayasu-Toyoda T, Yamaguchi T, Shudo K, Inoue K and Nishimaki-Mogami T.: In vitro FXR ligand sensor assay using surface plasmon resonance and based on ligand-induced coactivator association. 第 76 回日本生化学大会. (2003. 10. 17、横浜)
- 140) 有川稔多加、豊田淑江、山口照英、小村健、早川堯夫、森田育男; 血管内皮細胞化に伴う各種コネクシンの発現変化 第 24 回日本炎症・再生医学会. (2003. 11. 26、京都)
- 141) Watanabe, K., Ono, K., Miyazawa, H., Kikuchi, Y., Yamaguchi, T., Shimizu, S., and Sato, Y. : Myosin isoform expression in murine embryonal carcinoma cells after cardiac differentiation. 第 76 回日本薬理学会年会 (2003 年 3 月)
- 142) Mori, S., Ishida, S., Shinozaki, Y., Sawada, J., Miyazawa, H., Yamaguchi, T., Inoue, K. and Sato, Y. : Microarray analysis of thyroid hormone actions in rat aortic smooth muscle cells. 第 76 回日本薬理学会年会 (2003 年 3 月)
- 143) 渡邊圭、小野景義、宮澤宏、木内祐二、山口照英、清水俊一、佐藤陽治: 心筋へ分化した胎児性癌化細胞の表現型の検討 第 123 回日本薬学会年会 (2003 年 3 月)
- 144) 宮澤宏、山口照英: P19 細胞神経分化誘導時のタンパク質プロファイルの解析 第 26 回日本分子生物学会年会 (2003 年 12 月)
- 145) Niimi S, Oshizawa T, Yamaguchi T, Harashima M, Seki T, Ariga T, Kawanishi T, Hayakawa T, Specific expression of annexin III in rat small hepatocytes. 第 76 回 日本生化学会大会 (2003 年 10 月)
- 146) Harashima M, Nagaoka Y, Niimi S, Seki T, Ariga T, Kawanishi T, Hayakawa T, The mechanism of inhibition of dexamethasone-dependent induction of tyrosine aminotransferase activity by lactacystin, a proteasome specific inhibitor. 第 76 回 日本生化学会大会 (2003 年 10 月)
- 147) 新見伸吾、押澤 正、山口照英、原島 瑞、関泰一郎、有賀豊彦、川西 徹、早川堯夫、ラット肝細胞におけるアネキシンⅢの特異的な発現 第 10 回 肝細胞研究会 (2003 年 7 月)
- 148) 原島 瑞、新見伸吾、長岡陽子、関泰一郎、有賀豊彦、川西 徹、早川堯夫、初代培養ラット肝細胞においてプロテアソーム特異的阻害剤であるラクタシスチンはグルココルチコイド依存的なチロシンアミノトランスフェラーゼの誘導を阻害する 第 10 回 肝細胞研究会 (2003 年 7 月)
- 149) 鈴木寿子、土屋利江、吉原なみ子: コラーゲンスポンジを用いたバイオヒト皮膚モデルにおける HIV-1 検出法の検討 第 17 回日本エイズ学会 平成 15 年 11 月
- 150) 松岡厚子、配島由二、長谷川千恵、土屋利江: 医療材料関連物質による核内倍加の誘発 第 32 回日本環境変異原学会 平成 15 年 11 月 津

- 151) Sadami Tsutsumi and Toshie Tsuchiya: Recent Japanese regulations for tissue engineered medical products and trials for evaluation of their mechanical properties. 2nd Japanese-Swiss Workshop on Biomaterials 2003. 11. Tsukuba
- 152) 土屋利江:「組織工学材料と細胞組織医療機器の標準化:国際的な動向とわが国の現在・近未来について」第3回日本バイオマテリアル学会シンポジウム 平成15年9月 札幌
- 153) 伊佐間和郎、配島由二、土屋利江:ガンマ線照射コラーゲンの骨芽細胞に及ぼす影響 第25回日本バイオマテリアル学会大会 平成15年12月 大阪
- 154) Saifuddin Ahmed, Toshie Tsuchiya: The different effects of PLLA plates on surrounded tissues between two strains of mice 第25回日本バイオマテリアル学会大会 平成15年12月 大阪
- 155) Nasreen Banu, Toshie Tsuchiya, Sadami Tsutsumi: Different action on the chondrogenesis of human articular chondrocytes with two types of hyaluronic acid 第25回日本バイオマテリアル学会大会 平成15年12月 大阪
- 156) 柳楽勤、土屋利江、阿部康次、長幡操:陰イオン修飾ヒアルロン酸による正常ヒト表皮角化細胞の分化促進及び細胞間連絡機構抗進効果 第25回日本バイオマテリアル学会大会 平成15年12月 大阪
- 157) バヌーナスリン、土屋利江:起源の異なるヒアルロン酸のヒト軟骨細胞の増殖と分化に及ぼす相反する効果 第6回日本組織工学会大会 平成15年6月 東京
- 158) 柳楽勤、スーザンマチュー、山越葉子、土屋利江:正常ヒト皮膚繊維が細胞のギャップ結合細胞間連絡機能に及ぼす温度応答性ポリ-N-イソプロピルアクリルアミドの促進効果 第6回日本組織工学会大会 平成15年6月 東京
- 159) 柳楽勤、土屋利江、阿部康次、長幡操:陰イオン修飾ヒアルロン酸による正常ヒト表皮角化細胞の分化促進効果 第6回日本組織工学会大会 平成15年6月 東京
- 160) 土屋利江:医療機器に関連した薬事法改正と有効性・安全性・品質確保の考え方について 第133回日本金属学会2003年秋季大会 平成15年10月 札幌

G.知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得予定

特願 2003-8855 ギャップ機能抑制剤

特願 2004-1932332 ギャップ機能抑制剤、

細胞増殖促進剤および硫酸化ポリフコース

特願 2004-167632 生体吸収性を有する新規材料、の製造方法、及びその用途

特願 2004-330417 生体組織補填材および生体組織補填体

表 1. プライマー及びプローブ

Sindbis virus

5'-CAGGACGTCTATAACGCTCC-3'

5'-GAGAACCTGAACTGGGTGGTGTC-3'

HSV-1

5'-GCGTCATGGTACTGGCAAG-3'

5'-TTGACTCTACGGAGCTGGCC-3'

5'-TGGAGCTGATGCCGTAGTCGG-3' (TaqMAN Probe)

SV-40

5'-GACATTCCTAGGCTCACCTCAC-3'

5'-ACCTTGCCAAACTGTCCCTTAAA-3'

5'-CTTGAAAGAAGAACCCAAAGA-3' (TaqMAN Probe)

Adenovirus

5'-TCCGGTCCTTCTAACACACCTC-3'

5'-ACGGCAACTGGTTTAATGGG-3'

TGAGATACACCCGGTGGTCCCGC-3' (TaqMAN Probe)

Poliovirus

5'-CCCGAGAAATGGGACGACTA-3'

5'-TGGAGCTGTTCCGTAGGTGTAA-3'

5'-ACATGGCAAACCTCATCAAATCCATCAATC-3' (TaqMAN Probe)

PPV

5'-AACAACTACGCAGCAACTCCAATA-3'

5'-ACGGCTCCAAGGCTAAAGC-3'

5'-AGGAGGACCTGGATTT-3' (TaqMAN Probe)

Real-time PCR/TR-PCR で用いたプライマーとプローブ。Sindbis virus の場合は Syber green を用いた。

表5. PEI 磁気ビーズによって濃縮されるウイルス

ウイルス	宿主	ウイルス ゲノム	脂質膜	PEI磁気 ビーズ濃縮
ヘルペスウイルスI型(HSV-1)	ヒト	DNA	+	+
ポリオウイルス	ヒト	RNA	-	-
ブタパルボウイルス(PPV)	ブタ	DNA	-	-
水疱性口内炎ウイルス(VSV)	ウシ	RNA	+	+
Sindbisウイルス	ヒト	RNA	+	+
SV-40ウイルス	サル	DNA	-	+
サイトメガロウイルス	サル	DNA	+	+
マウス白血病ウイルス	マウス	RNA	+	+
アデノウイルス	ヒト	DNA	-	+
B型肝炎ウイルス(HBV)	ヒト	DNA	+	+
C型肝炎ウイルス(HCV)	ヒト	RNA	+	+
ヒト免疫不全ウイルス(HIV)	ヒト	RNA	+	+
A型肝炎ウイルス(HAV)	ヒト	RNA	-	-

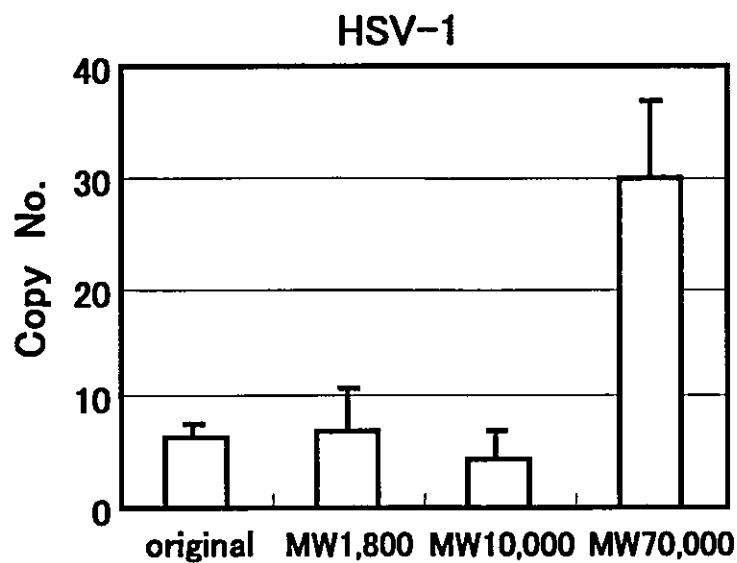


図1 ポリエチレンイミンの分子量とウイルス濃縮効率

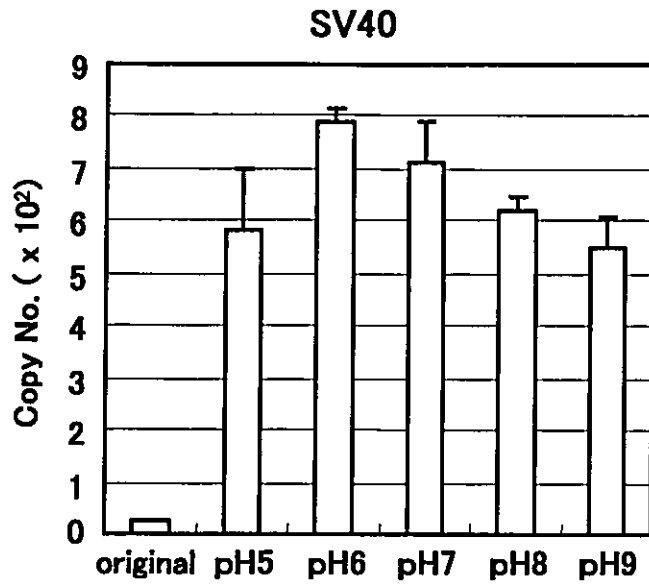


図2. PEI 磁気ビーズによるウイルス濃縮効率の pH による変化

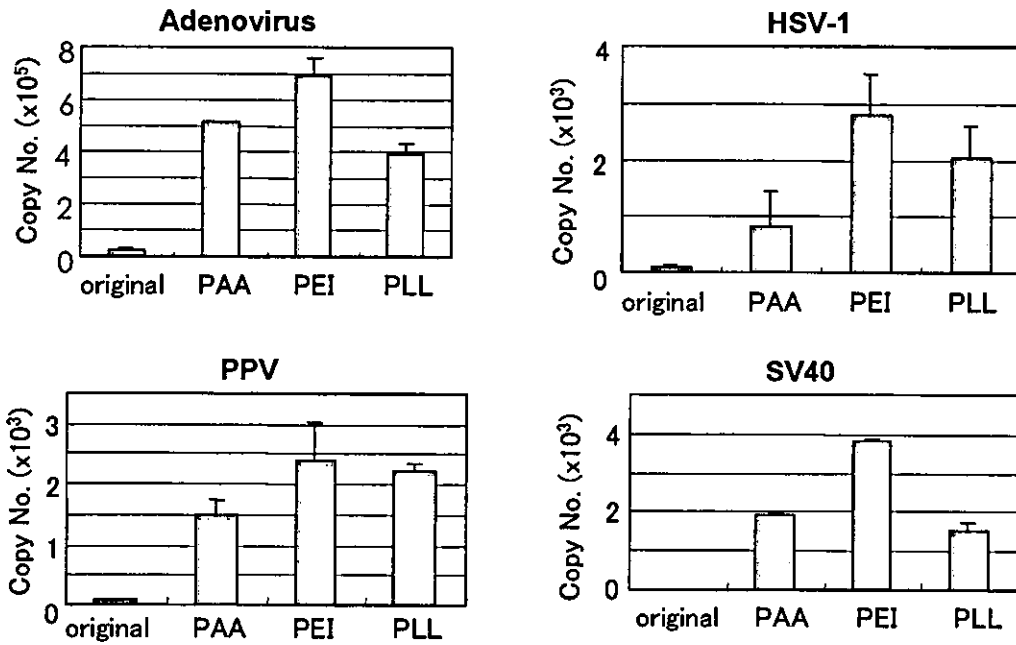


図3. 磁性粒子に結合するカチオン性ポリマーの違いによるウイルス濃縮効率の変化

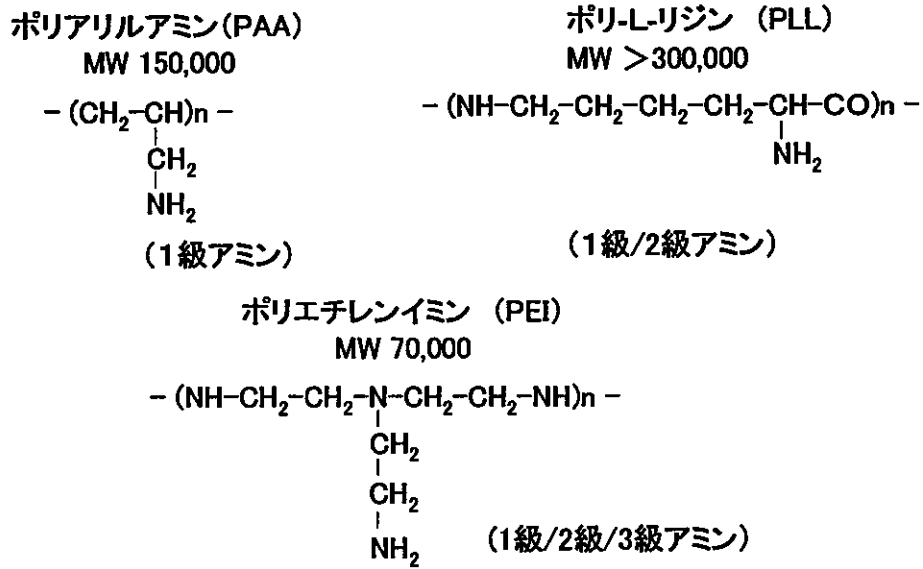


図4. ウイルス濃縮に用いたカチオン性ポリマーの構造式

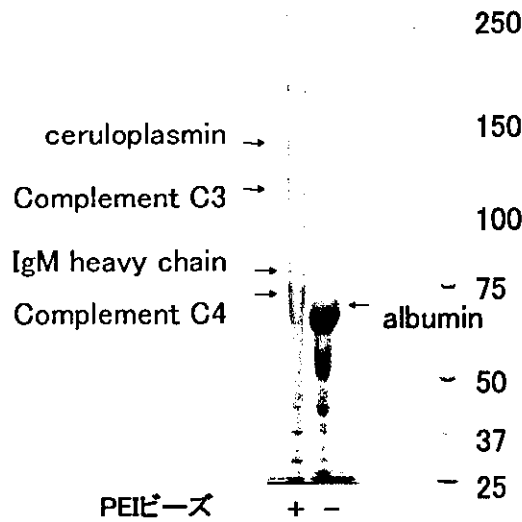
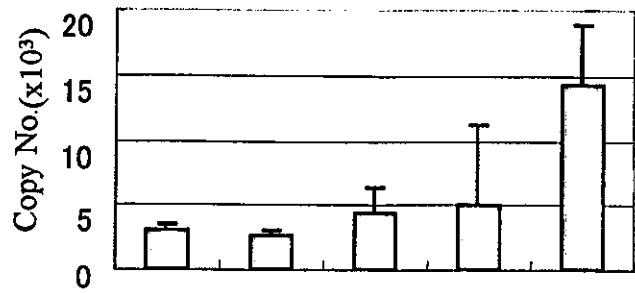


図5. PEI 磁気ビーズにウイルスとともに濃縮される血清成分中の蛋白質の MS/MS による同定



PEI-beads	-	+	+	+	+
Anti Poliovirus MoAb	-	-	+	-	+
Anti mouse Ig GP IgM	-	-	-	+	+

図6. 抗体存在下での PEI 磁気ビーズによるポリオウイルスの濃縮

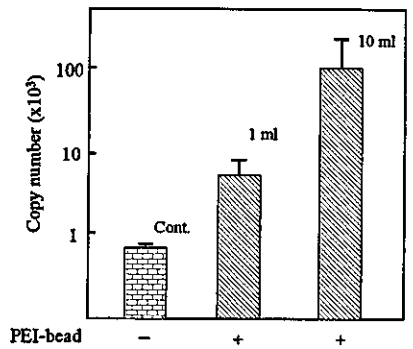


図7. PEI 磁気ビーズによる HCV の濃縮

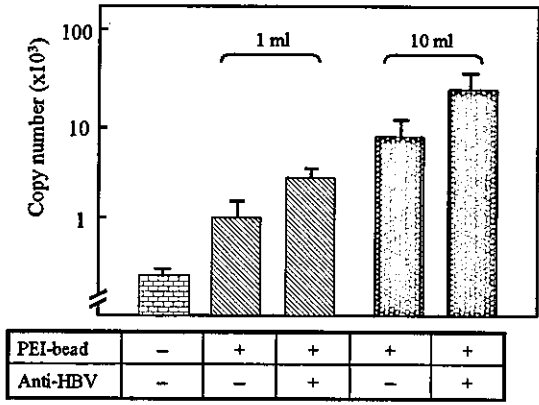


図8. PEI 磁気ビーズによる HBV の濃縮と抗 HBV 抗体の影響

図9 STR マーカーを使った DNA 多型の検出法

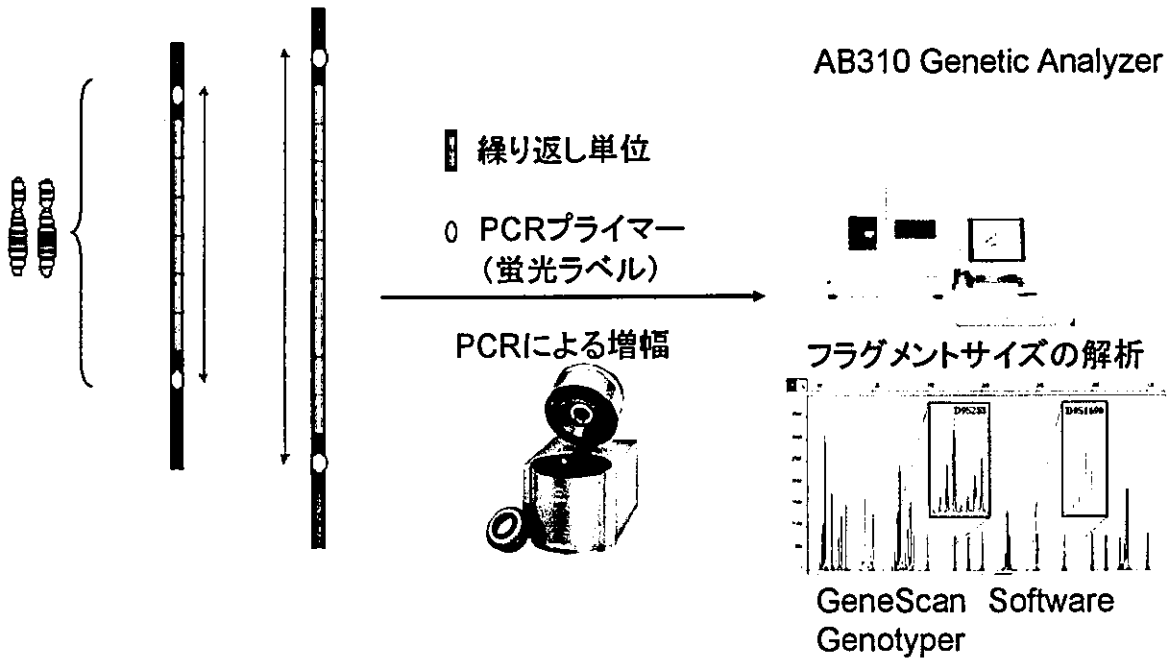


表2 PowerPlex16 STR マーカーの種類と染色体上の位置

Dye	Fluorescein				
STR marker	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	PentaE
Chromosomal location	3p	11p15.5	21q11-21q21	18q21.3	15q

Dye	JOE					
STR marker	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1P0	Penta D
Chromosomal location	5q23.3-32	13q22-q31	7q11.21-22	16q24-qter	5q33.3-34	21q

Dye	TMR				
STR marker	Amelogenin	vWA	D8S1179	TPOX	FGA
Chromosomal location	Xp22.1-22.3 and Y	12p12-pter	8q	2p23-2pter	4q28

表3 17番染色体上のオリジナルなSTRマーカー

Dye	6-FAM			
STR marker	115B3	THRA1	42D6	AFM044 xa3
Chromosomal location	17p13.3	17p11.2-12	17p21.3-22	17qter

Dye	HEX		
STR marker	CHLC	AFM234 xc9	AFM210 xa5
Chromosomal location	-	17q	17qter

Dye	TET		
STR marker	AFM248 ya9	AFM107 yb8	AFM049 xc1
Chromosomal location	17q21	17q	17q

表4 17番染色体STRマーカー増幅に用いたプライマー

		primer	primer sequence
Teromere	1	115B3-ca	AAAGATCCTTATTGCCACTTTACTG
		115B3-qt2	CTCTTACCTTGCTGGTGAGATTG
Centromere	2	THRA1-AC	CTGCGCTTTGCACTATTGGG
		THRA1-TG	CGGGCAGCATAGCATTGCCT
	3	CHLC forward	GCCAACAGAGCAAGACTGTC
		CHLC reverse	GGAAACAGTTAAATGGCCAA
	4	AFM248ya9a	GGATGGCCTTTTAGAAAGTGG
		AFM248ya9m	ACACAGACTTGTCTACTGCC
	5	42D6-CA	CCTGGTCTAGGAAGAGTGTC
		42D6-GT	GTGTAAGCATCTGTGTATACTAC
	6	AFM234xc9a	TCCACCTGTCCTGGTAAA
		AFM234xc9m	AGTGCTGCGTCTTACAACCT
	7	AFM107yb8a	ACTCCAAATCAAGTTTGTACTGAGA
		AFM107yb8m	CTGCATACGAAGGGTAGGAC
	8	AFM049xc1a	ATCCCTGGAGAGTGAAAATG
		AFM049xc1m	AAGGCCAACCTGAAAACCTAA
TK-1 (17q23.2)	9	AFM210xa5a	GCCACCTGCCCTCAA
		AFM210xa5m	CTGCCAGCAGAGGCCA
	10	AFM044xa3a	GAGTCTCCTAAATGCTGGGG
AFM044xa3m		AGCTCCTGCACAGTTCTTAAATA	

表6 PowerPlex 16 を用いた各種細胞株の STR マーカーレポート数の解析結果

A. The fluorescein- labeled allele designations

	D3S1358	TH01	D21S11	D18S51	PentaE
HL60-1	16	7,8	29**, 30	14, 15**	13, 14
HL60-2	16	7,8	29**, 30	14, 15**	13, 14
HL60-RG-1	16	8	29**, 30	14, 15	13, 14
FLC-4	15**, 16	6**, 8*, 9	31, 2, 32, 2	13	12
WTK1	16	8, 9, 3	29	11, 15	5, 7
TK6	16	8, 9, 3	29	11, 16	5, 7

* smaller peak than **

** a half of allele peak

B. The JOE- labeled allele designations

	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSE1P0	Penta D
HL60-1	12, 13	8**, 11	11, 12	11	13, 14	10, 12
HL60-2	12, 13	8**, 11	11, 12	11	13, 14	10, 12
HL60-RG-1	12, 13	8**, 11	11, 12	11	13, 14	10, 12
FLC-4	9**, 13	11*, 12	10*, 12	12**, 13	11, 12*	9, 12*
WTK1	12, 13	11	9, 12	11, 12	11, 13	11, 12
TK6	12, 13	11	9, 11	11, 12	11, 12	11, 12

* smaller peak than **

** a half of allele peak

JOE = 6- carboxy- 4',5'- dichloro- 2',7'- dimethoxyfluorescein

C. The TMR- labeled allele designations

	Amelogenin	vWA	D8S1179	TPOX	FGA
HL60-1	X	16	12, 13	8, 11	22, 24
HL60-2	X	16	12, 13	8, 11	22, 24
HL60-RG-1	X	16	12, 13	8, 11	21*, 22, 24
FLC-4	X	14, 16**, 17	17	8, 11	22
WTK1	X, Y	16**, 17, 20	10, 13	8, 11	22, 24
TK6	X, Y	16**, 17, 20	10, 13	8, 11	22, 24

* smaller peak than **

** a half of allele peak

TMR = carboxy- tetramethylrhodamine

図10 STR マーカー解析例

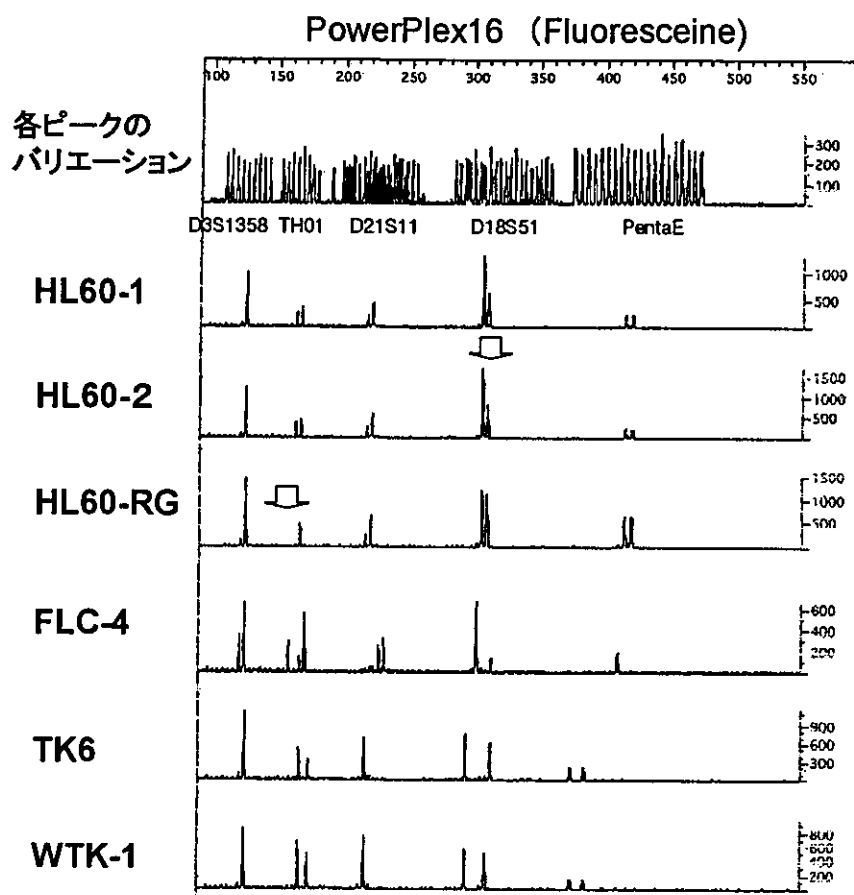
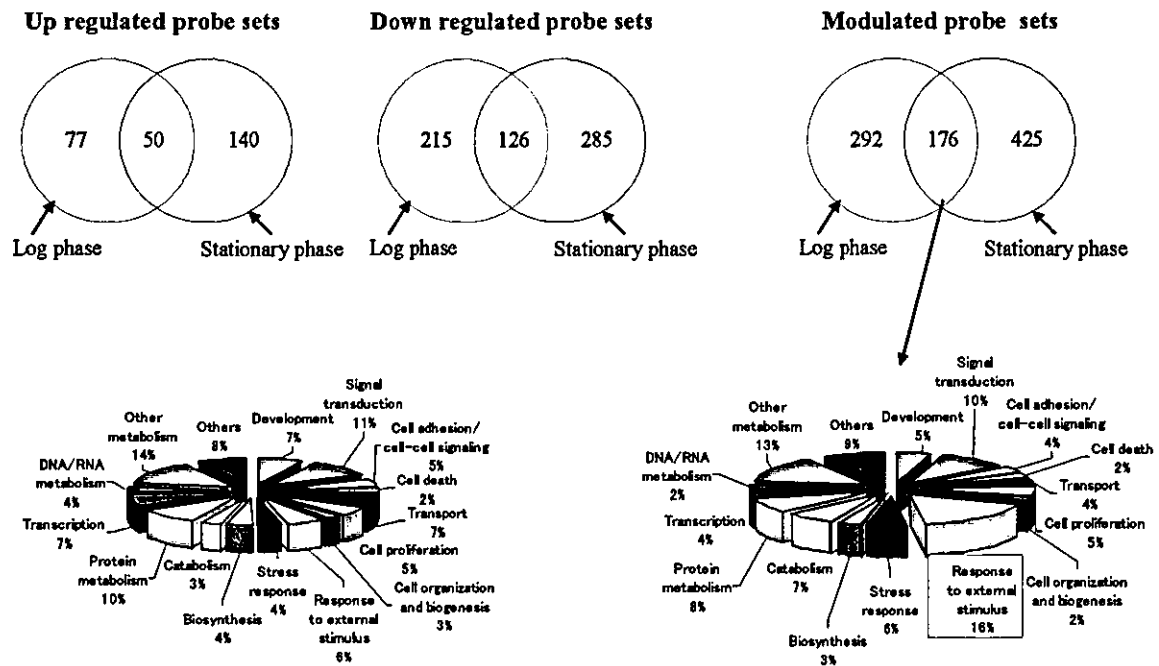


表7 17番染色体上のSTR マーカーを用いた解析結果

STRマーカー	label	サイズ範囲		TK6		HL60/HL60-RG	
		min	max	allele-1	allele-2	allele-1	allele-2
115B3	6FAM	179	209	189-190	198-200	189	-
THRA1	6FAM	158	176	165-166	173-176	165	169
CHLC	HEX	200		195	199	196	200
AFM248yg9	TET	143	155	143	147	148	154
42D6	6FAM	154	174	138	155	138	-
AFM234xc9	HEX	114	138	109	130	116	-
AFM107yb8	TET	154	170	151-153	157-161	156	164
AFM049xc1	TET	181	207	183-185	187-189	-	192
AFM210xa5	HEX	166	188	172	180	-	-
AFM044xg3	6FAM	226	238	225	235	236	238 (RG 237)

- ; no peak

図 1 1 HL60 と HL-60RG 細胞間で発現差のあった遺伝子と、対数増殖期と定常において共通性のあった遺伝子の機能による分類



HG-U133A アレイ全体の機能別分類 (12304/22283)

共通性を持って差のあった遺伝子(129/176)

表 8 対数増殖期、定常期で共通性を持って差の見られた遺伝子 TOP20

(HL60-RGで発現が高い遺伝子)

Gene	Ratio	
	Log	Stationary
Natural killer cell transcript 4	469.1	157.7
Jun dimerization protein P21sntf	27.1	13.3
Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase	14.7	20.3
Ubiquitin carboxyl-terminal esterase L1	17.0	11.7
Apolipoprotein C-II	5.5	18.0
Charot-Leyden crystal protein	12.3	10.9
Melanoma antigen, family B, 2	10.5	11.6
Neurogranin	13.5	8.3
Protein tyrosine phosphatase, receptor type, F	14.1	6.1
Amino-terminal enhancer of split	12.1	7.0
TNF receptor superfamily, member 8	9.6	6.3
Galectosylceramidase	7.7	6.3
Interferon induced transmembrane protein 1	6.5	5.3
Potassium voltage-gated channel, subfamily H member 2	6.3	4.5
T cell receptor delta locus	4.7	5.7
Fibroblast growth factor receptor 1	4.0	6.2
Hepatocyte growth factor	5.0	5.0
Galarin	5.6	4.2
Serine proteinase inhibitor, clade B, member 2	5.9	3.8
Lectin, galactoside-binding soluble, 1	5.5	4.2

(HL60-RGで発現が低い遺伝子)

Gene	Ratio	
	Log	Stationary
Bactericidal/permeability-increasing protein	0.01	0.01
Bastase 2, neutrophil	0.01	0.01
Chromosome 20 open reading frame 103	0.01	0.01
S100 calcium-binding protein A8 (calgranulin A)	0.01	0.02
Poly(A) binding protein, cytoplasmic 4	0.02	0.01
Defensin, alpha 1, myeloid-related sequence	0.01	0.02
Chitinase 3-like 1	0.01	0.02
Coagulation factor Chromog coctin	0.04	0.02
S100 calcium-binding protein A9 (calgranulin B)	0.04	0.02
Prostaglandin E receptor 4	0.08	0.03
Mesoderm specific transcript homolog (mouse)	0.05	0.07
Major histocompatibility complex, class I, B	0.05	0.07
TYRO protein tyrosine kinase binding protein	0.08	0.06
Hypothetical protein FLJ10849	0.07	0.08
Fatty acid desaturase 2	0.07	0.08
Heavy chain, Human MHC class I HLA-J gene	0.11	0.05
t-complex-associated-testis-expressed 1-like	0.06	0.10
Cytochrome b-245, beta polypeptide	0.06	0.12
Grancalzin, EF-hand calcium binding protein	0.10	0.08
Megaloencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts	0.07	0.12

図 1 2 HL-60RG 株にて発現変化の見られた遺伝子の染色体上の分布

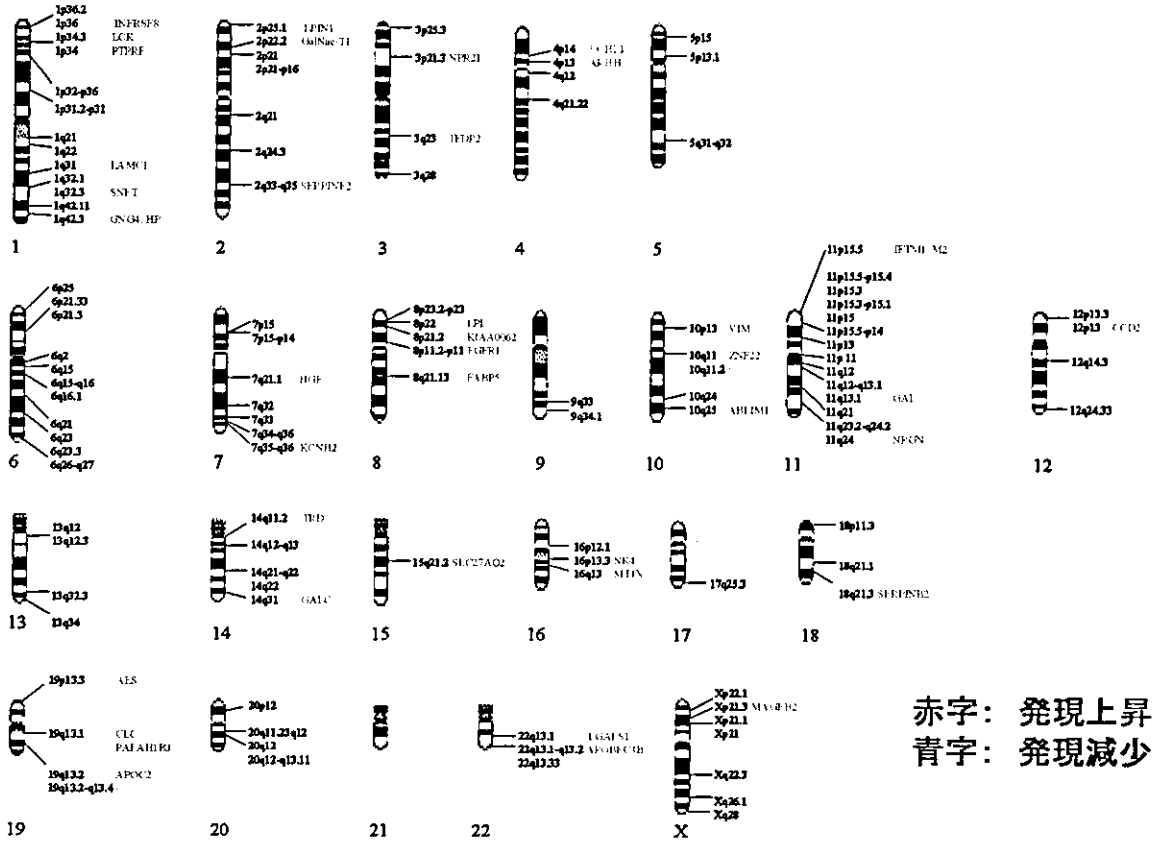


図 1 3 各種細胞 (培養状態) 間での遺伝子発現強度の比較

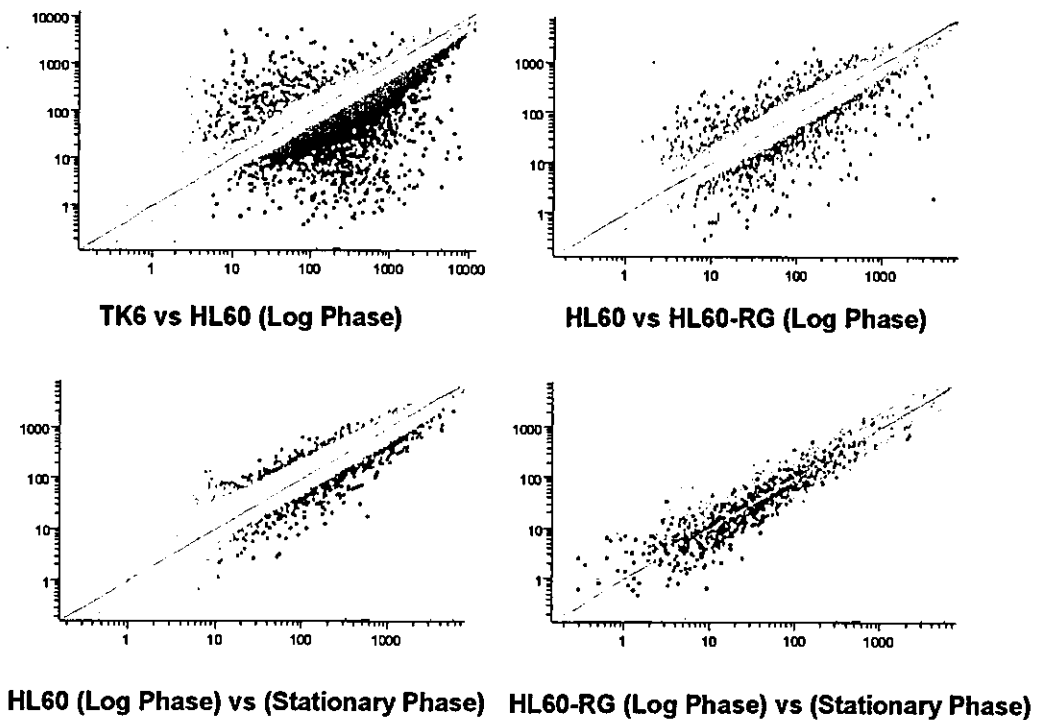
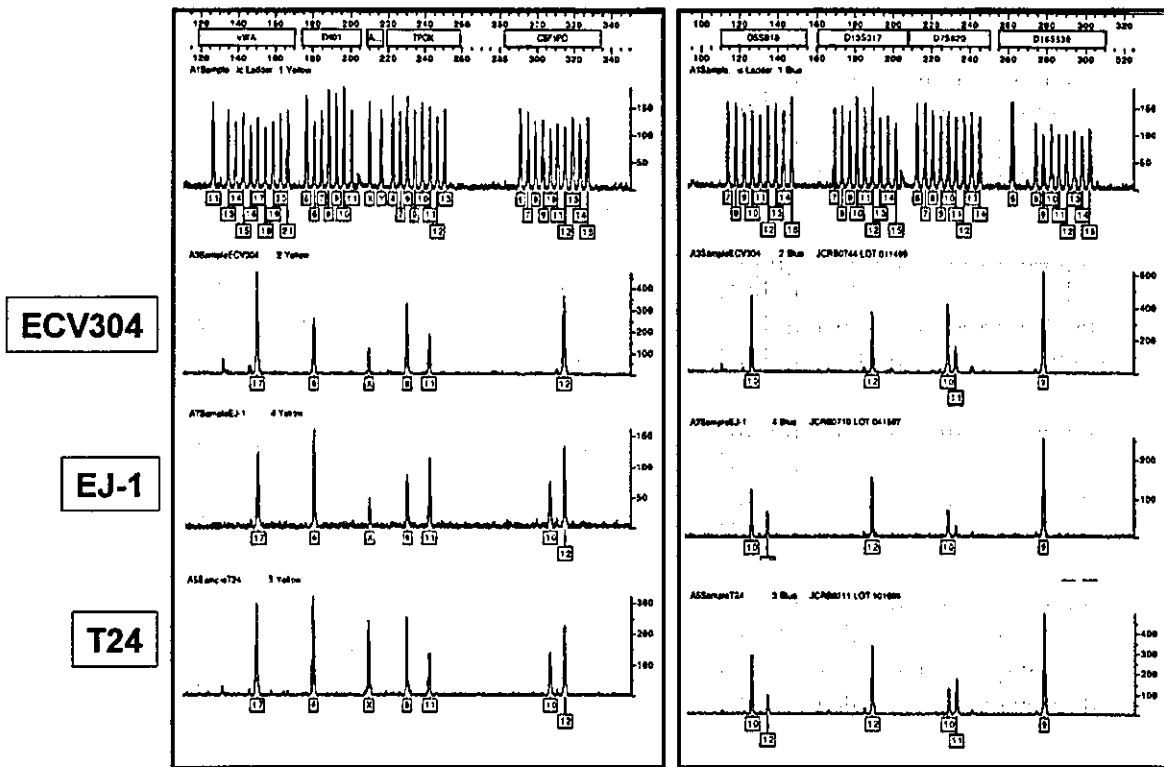


図14 3つの細胞間での9種類のSTRマーカーの一致



* 国立医薬品食品衛生研究所細胞バンクホームページより

図15 ECV304、EJ-1、T24 細胞株の位相差顕微鏡像

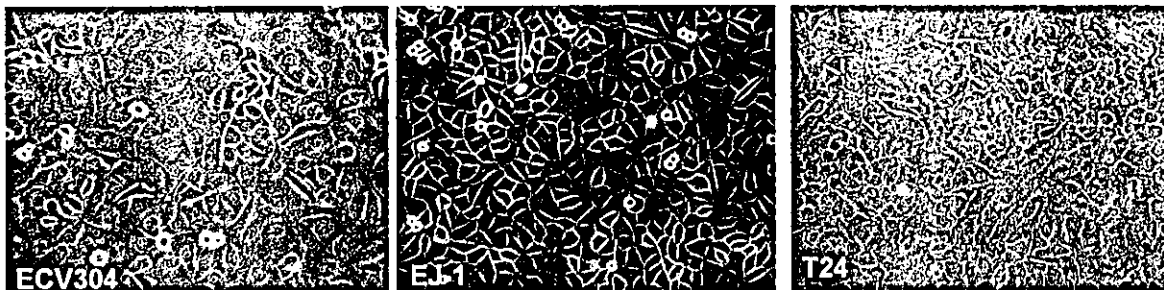


図 1 6 細胞間の遺伝子発現強度の比較

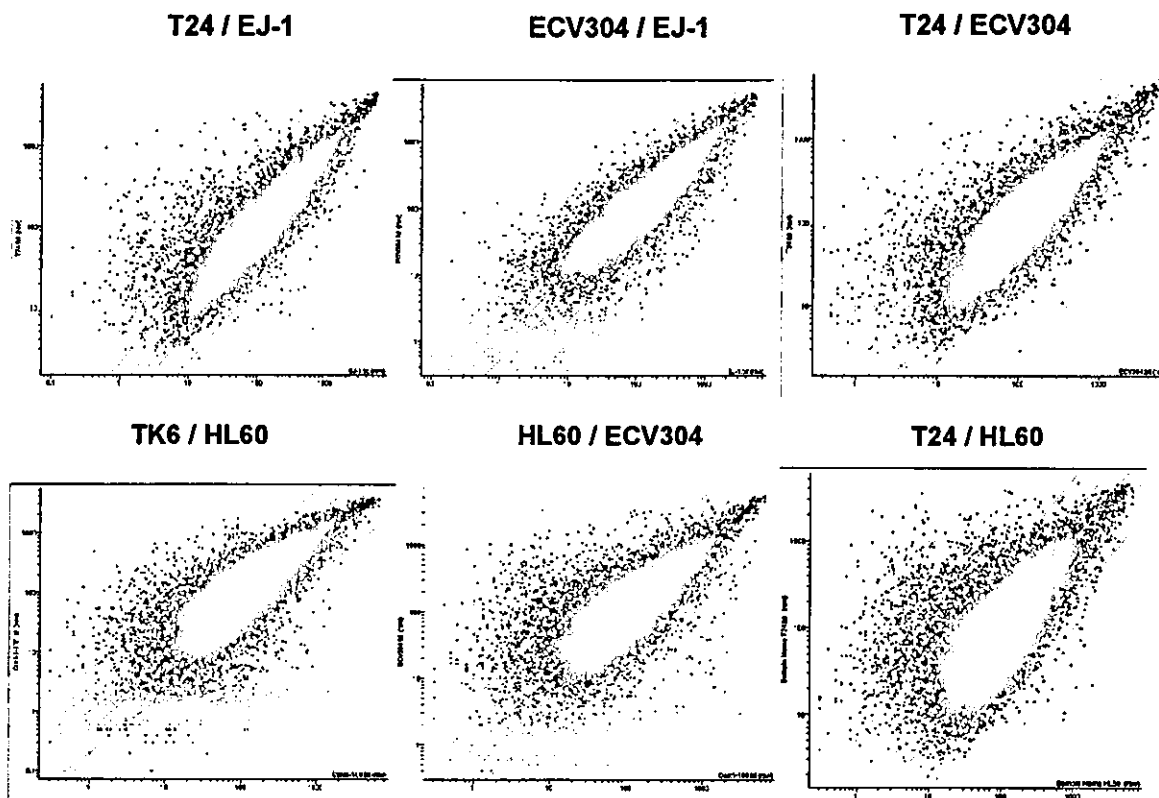


表 9 細胞間の比較により差が見られた遺伝子数

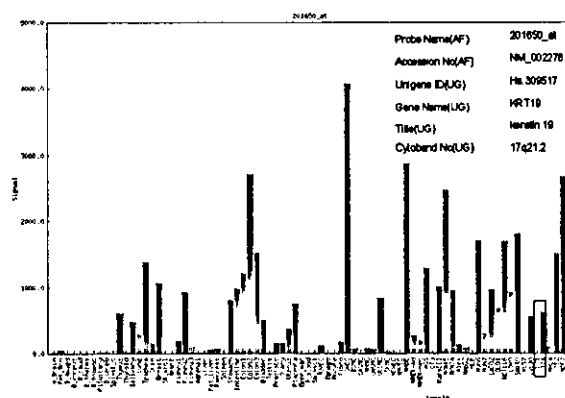
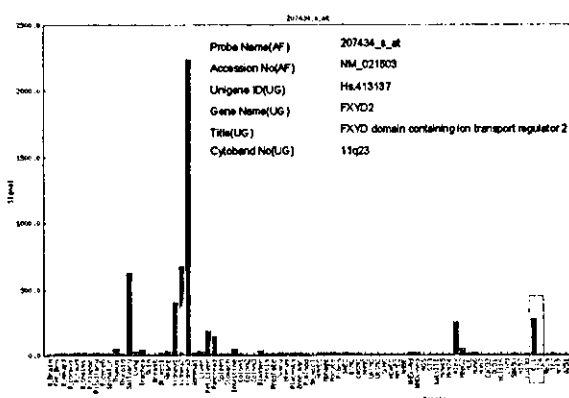
Fold difference	T24-EJ1	ECV304-EJ1	T24-ECV304	TK6-HL60	T24-HL60	ECV304-HL60
2	2648	2821	3310	4498	5305	4381
6	398	305	405	817	1228	936
10	255	128	198	453	720	562

表 1 0 各種細胞間の遺伝子発現強度の相関係数と膀胱特異的遺伝子の発現

	ECV304	EJ-1	T24	HL60	HL60-RG	TK6	膀胱特異的遺伝子発現数 (/53)
ECV304	1	0.88	0.82	0.71	0.72	0.68	46
EJ-1	0.88	1	0.84	0.67	0.67	0.68	45
T24	0.82	0.84	1	0.62	0.63	0.65	53
HL60	0.71	0.67	0.62	1	0.89	0.78	37
HL60-RG	0.72	0.67	0.63	0.89	1	0.83	41
TK6	0.68	0.68	0.65	0.78	0.83	1	41

図 1 7 T24 と EJ-1 にて発現が異なることが知られている遺伝子

(公開データベース上のデータ)



<http://www.lsbm.org/database/index.html> より

(今回の GeneChip 解析データ)

Probe ID	ECV304		EJ-1		T24		Gene title	Description
	Intensity	Call	Intensity	Call	Intensity	Call		
207434_s_at	25.6	P	663.9	P	5.5	P	FXN2 domain containing ion transport regulator 2	ion transport potassium ion transport sodium ion transport
201650_at	0.7	A	0.6	A	952	P	Keratin 19	structural constituent of cytoskeleton structural molecule activity

図 18 tk 変異体の tk 遺伝子座における LOH (deletion) 解析

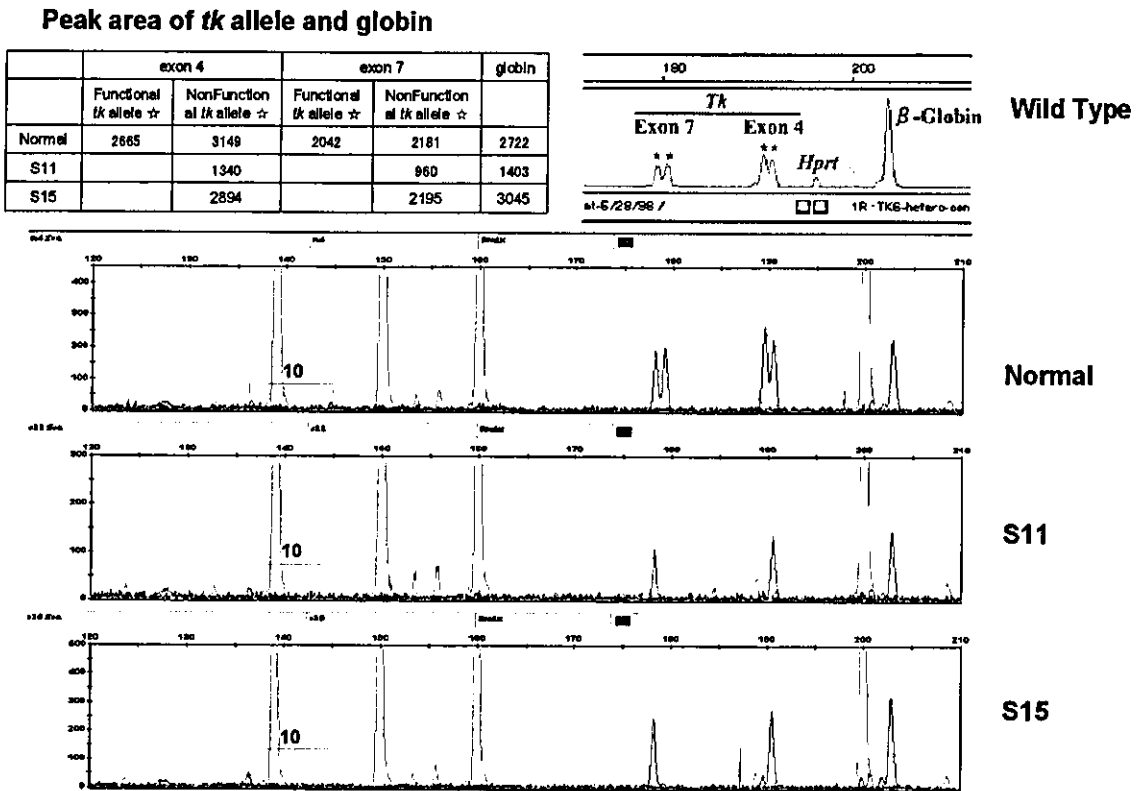


図 19 tk 変異体の 17 番染色体上の多型性マーカーを使った LOH 解析

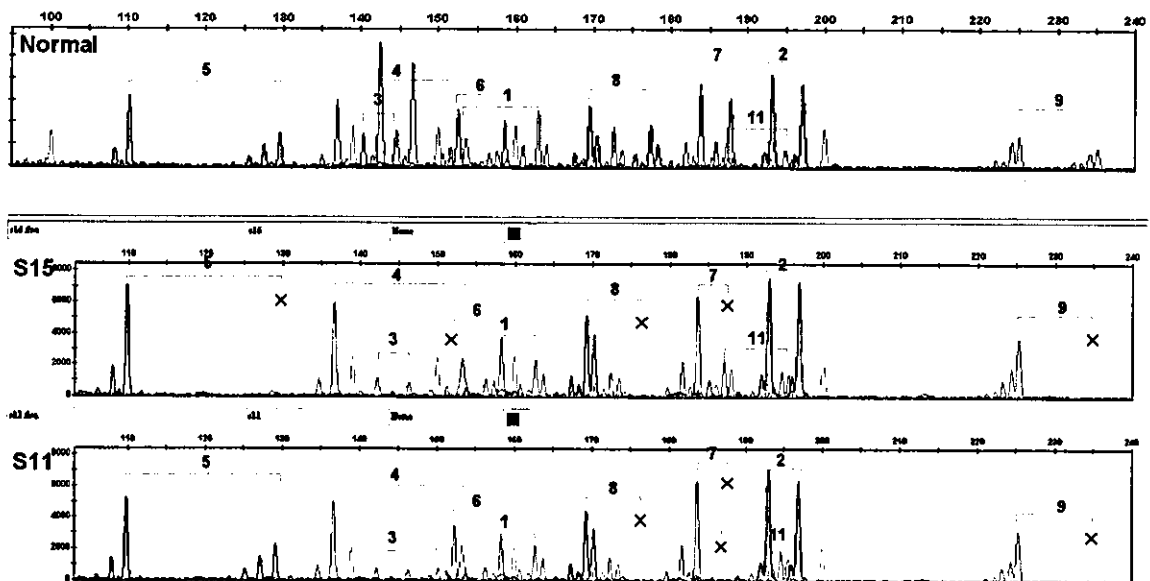


図20 CGHアレイのハイブリダイゼーションイメージ

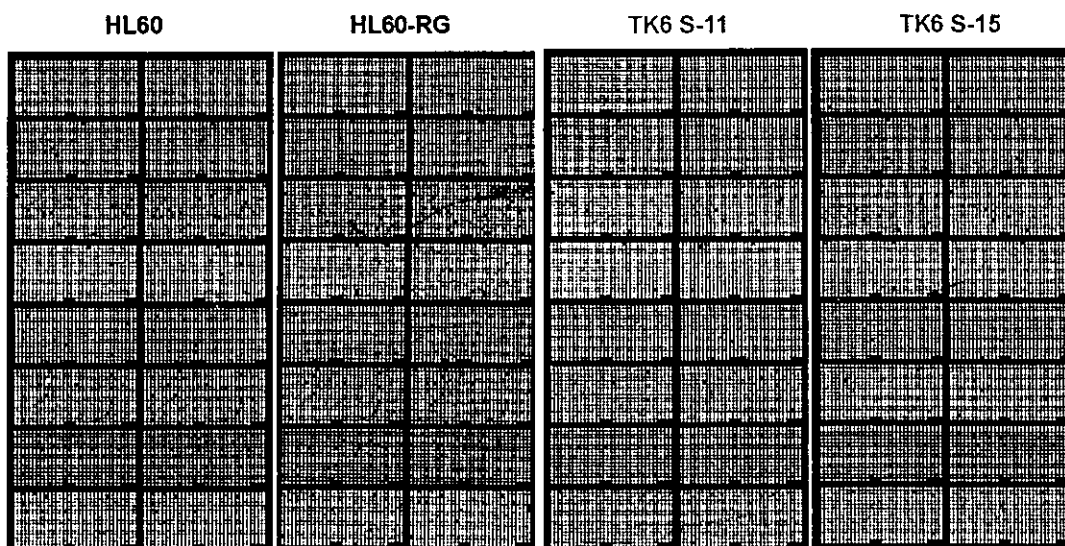


図21 CGHアレイによる染色体増幅、欠失領域の解析結果

