

状況を定期的にまとめて抽出し考察できるようにする。

システムの試運転と使用機器の基本的な操作技術の習得を目的に、192人の末梢白血球由来ゲノム¹⁾を用いて、その811カ所のマイクロサテライトマーカー (ABI)²⁾を解析した (その詳細については本研究会の福島らの発表をお聞き下さい)。ゲノムや PCR 反応液の分注は全て Biomek 2000 (Beckman Coulter) を用いた。PCR 装置は、96穴プレートが1枚あるいは384穴プレートが2枚セットできる GeneAmp PCR System 9700 (ABI) を使用した。PCR 増幅後のマイクロサテライトマーカーの分離には、16本キャピラリーの電気泳動システムを備えた。ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (ABI) (以下3100と略記) を用いた。3100によるフラグメントデータは全て BioLims データベース (ABI) にイントラネットワークを介して自動転送され保管されるシステムになっている。フラグメントの正確な遺伝子型解析には GeneMapper (ABI) を使用した。

4/9から6/29の12週間で、192ゲノム811カ所のマイクロサテライトマーカー全てのPCR (計155,712反応)、及び3100で電気泳動を終えた。1カ所のマイクロサテライトマーカーの多型解析に25ngのゲノムDNAを用いたため、1検体811カ所のマイクロサテライトマーカーを調べるのに約、20.3μgのゲノムDNAを使用したことになる。現在フラグメント解析をGeneMapperで詳細に行ない、ミス反応の割合及びサンプルDNAの品質チェック、追加マーカーのプライマー設計、分析室の作業環境の見直し、並びにSNPs解析の戦略を練って本格稼動に備えている。

本研究会では主に当施設におけるゲノム網羅的な解析システムの概略を述べ、システムのフラグメント解析までの能率を中心に紹介する。

- 1) 神経内科の弧発性筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者と正常コントロール群の計192ゲノム。
- 2) ヒト染色体を約5cM間隔でカバーしている。

11) 悪性脳腫瘍症例の遺伝子発現プロファイル解析

山中	龍也・宇塚	岳夫	（新潟大学脳研究所） （脳神経外科）
森井	研・高橋	英明	
田中	隆一		
芥川	茂・西尾	和人	（国立がんセンター） （研究所薬効試験部）

DNA アレイ法は遺伝子を包括的に検索できる技術として登場し、ポストゲノム時代を担うものと考えられている。この技術を用いた遺伝子発現プロファイルから腫瘍の発生や進展機序が解明され、生物学的悪性度の診断や治療法に対する感受性、予後の推測に応用されるものと考えられる。脳腫瘍には数種の組織型が知られており、その組織型によって化学療法に対する感受性、予後は異なることが知られている。今回我々は、脳腫瘍から抽出した組織サンプルにおける、遺伝子発現の相違を cDNA expression array 法を用いて評価した。Oligodendroglioma, glioblastoma, 脳原発 malignant lymphoma, 比較対照として正常脳組織のサンプルを用いた。cDNA array 法を用いた解析によって、化学療法に対する感受性に関わる遺伝子群を推測できる可能性が示された。

12) 腎疾患における GeneChip™ による発現遺伝子の解析

坂爪	実・金子	佳賢	（新潟大学大学院） （医歯学総合研究所） （内部環境調節医学） （講座腎臓原病分野） （第二内科）
後藤	真・黒田	毅	
齊藤	徳子・成田	一衛	
下条	文武		

【目的】腎疾患の病態形成に関与する遺伝子発現の体系的なプロファイリングを目的として、巣状糸球体硬化症 (FGS) および微小変化型ネフローゼ症候群 (MCNS) 患者の末梢血単核球あるいはラット抗基底膜抗体腎炎の腎での発現遺伝子を Affymetrix 社製 GeneChip™ を用いて解析した。

【方法】文書による同意を得た後、FGS 患者1名、MCNS 患者2名の計3名から末梢血単核球を採取した。また抗ラット腎糸球体基底膜血清をラットに静注し、静注後1日目、3日目、7日目で各々2匹から腎を採取した。対照として、健康人末梢血単核球あるいは免疫前ウサギ血清を静注したラット腎を用いた。末梢血単核球およびラット腎から mRNA を抽出し、T7-oligo dT をプライマーとして cDNA を合成した。次に in vitro transcription 法によりビオチン化 cRNA を合成し