

●Bioplex 200 を用いた蛍光マイクロビーズ法による mRNA 発現解析

TN391

Analysis of mRNA Expression by Fluorescent Labeled Microbead Assay using Bioplex 200

【概要】

本アッセイ法はフローサイトメトリーの原理を利用して Luminex 社¹⁾が開発した技術で、蛍光マイクロビーズを使うことで多項目同時測定が可能です。蛍光マイクロビーズに抗体やオリゴヌクレオチドプローブをカップリングすることで、タンパク質またはオリゴヌクレオチドを検出することができます。

当社では Luminex 社の技術を利用した QuantiGene Plex 2.0²⁾を用い、mRNA 発現解析を行うことが可能です。mRNA 発現解析でよく用いられる方法は Real-time PCR ですが、Real-time PCR は組織・細胞などから total RNA の抽出・精製、逆転写反応を行った後に解析するため、各工程でのサンプルのロスや逆転写反応効率の影響を受けることがあります。一方、QuantiGene Plex 2.0 を用いた mRNA 発現解析は組織・細胞のライセートを用いるため、サンプルのロスや逆転写反応の効率の影響がなく、実験操作による誤差がほとんど生じず、最大 36 項目の同時測定が可能です。また、本方法は、FDA により先導された MAQC (Micro Array Quality Control) プロジェクトで、Real-time PCR による mRNA 発現解析の結果と同等の結果が得られたことが報告³⁾されています。

本方法は、遺伝子バイオマーカー探索の際のマイクロアレイ後、セレクトされた遺伝子が多い場合、薬効評価で複数遺伝子の変動を確認したい場合、薬物相互作用の要因となり得る遺伝子変異の確認などで用いることができ、サンプル形態としては Dried Blood Spot、全血、パラフィン切片、動物組織、培養細胞からの分析が可能です。当社では、Bioplex 200 を用いた mRNA 発現解析の評価サービスを提供しており、測定法確立からバリデーション、検体測定まで信頼性基準及び GLP に対応したサービスを承ります。

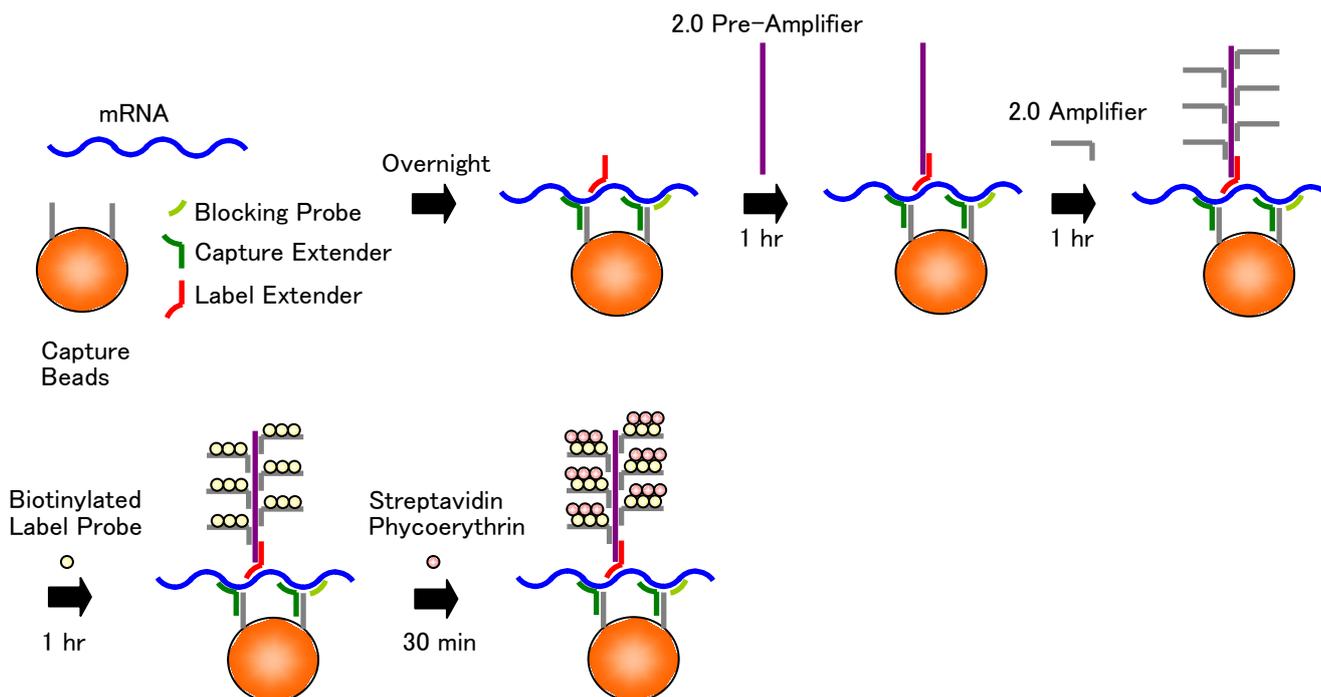


図1 QuantiGene Plex 2.0 の概略

表 1 2手法における mRNA 測定までの工程比較

	RNA 抽出・精製	逆転写反応	反応様式	同時測定項目数	検出までの日数
QuantiGene Plex 2.0	不要	不要	Hybridization	3 - 36	2
Real-time PCR	必要	必要	PCR	1 - 4	2

[実施例] 誘導剤処置による CYP mRNA 発現解析

肝細胞に CYP1A2 の誘導剤であるオメプラゾール、CYP2B6 の誘導剤であるフェノバルビタールおよび CYP3A4 の誘導剤であるリファンピシンを処置後、QuantiGene Plex 2.0 を用いてアッセイし、Bioplex 200 により mRNA 発現解析を実施しました。その結果を図 2 に示します。本アッセイ法で、各誘導剤処置群において、mRNA の誘導を確認することが出来ました。

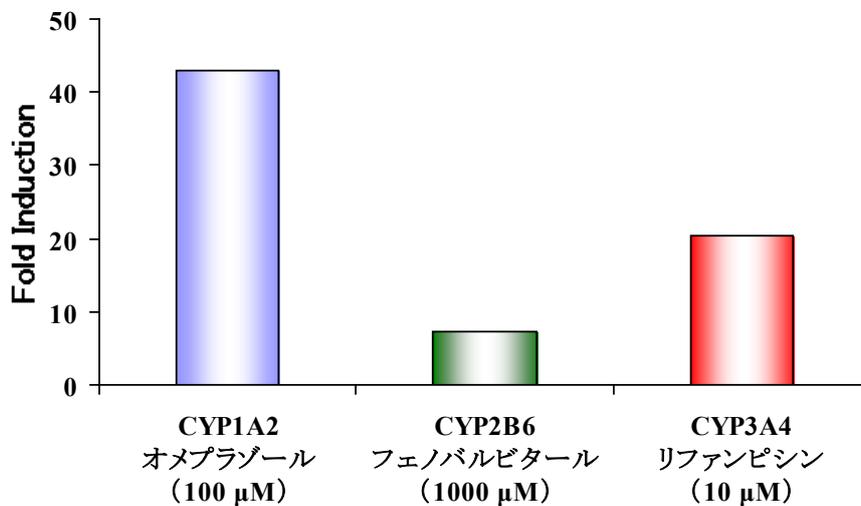


図 2 誘導剤処置による各 CYP 分子種の誘導 (n = 2)

[引用]

- 1) Luminex 社ホームページ: <http://www.luminexcorp.com/TechnologiesScience/xMAPTechnology/index.htm>
- 2) Affymetrix 社ホームページ: http://www.panomics.com/index.php?id=product_6
- 3) Roger et al. (2006) Evaluation of DNA microarray results with quantitative gene expression platforms. *Nat. Biotechnol.* 24 : 1115-1122.

[キーワード]

多項目同時測定、マルチプレックス、mRNA、サイトカイン、Bioplex、Luminex

作成: バイオ (TI1203) 3-M0-(24)