

課題番号 : F-19-WS-0091
 利用形態 : 機器利用
 利用課題名(日本語) : 磁気ビーズを用いたメッセンジャーRNA 精製法の検討
 Program Title (English) : Genetic analysis and spectroscopy of tissues, cells and bacteria
 利用者名(日本語) : 細川正人¹⁾、松永浩子²⁾、坂梨千佳子²⁾、高橋清文²⁾、鈴木直子²⁾、山崎美輝^{3,4)}、湯本真之³⁾、我妻竜太³⁾
 Username (English) : M. Hosokawa¹⁾, H. Matsunaga²⁾, C. Sakanashi²⁾, K. Takahashi²⁾, N. Suzuki²⁾, M. Yamazaki^{3,4)}, M. Yumoto³⁾, R. Wagatsuma³⁾.
 所属名(日本語) : 1) 早稲田大学理工総研, 2) 早稲田大学ナノライフ創新研究機構, 3) 早稲田大学先進理工学部, 4)産総研 CBBB-OIL
 Affiliation (English) : 1) Res. Inst. for Sci. & Eng., Waseda Univ. 2) Res. Org. for nano life innov., Waseda Univ. 3) Dept. Adv. Sci. & Eng., Waseda Univ. 4) CBBB-OIL, AIST-Waseda Univ.
 キーワード/Keyword : 分析、空間的トランスクリプトーム、磁気ビーズ、RNA

1. 概要(Summary)

生体組織の空間的トランスクリプトーム解析に向けて、高速に組織の微小領域を採取するシステムを開発してきた。一方で、採取した微小組織からの効率的な RNA 抽出において課題が存在するため検討を行った。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

環境維持・制御装置

【実験方法】

微小組織からの RNA 獲得における課題の 1 つとして、試料調製時の時間経過による RNA 分解が挙げられる。そこで RNA 分解を防ぐ組織固定法として 2 種類の脱水固定法(エタノール固定および風乾固定)の検討を行い、RNA シークエンス結果を評価した。また、微小組織からの効率的な RNA 精製を目的として、磁気ビーズを用いたメッセンジャーRNA の精製手法を検討した。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

マウス肝臓凍結組織切片について脱水固定を行い、室温に静置後 RNA 抽出および RNA シークエンシングを行った。得られた遺伝子発現プロファイルから、脱水固定による RNA 分解の抑制が確認された(Fig. 1)。

続いて脱水固定を行ったサンプルから磁気ビーズを用いたメッセンジャーRNA 精製(PP)を行い、従来のメッセンジャーRNA 精製法(TN)と比較した結果、より多くの遺伝子発現情報の取得が確認された(Fig. 2)。

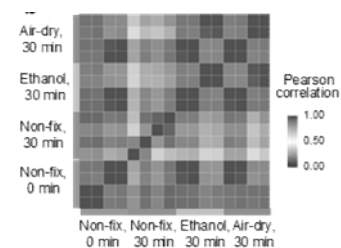


Fig. 1 Comparison of expression analysis results by tissue fixation method

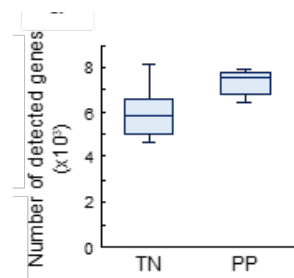


Fig. 2 Comparison of expression analysis results by RNA purification method.

4. その他・特記事項(Others)

・用語の説明

トランスクリプトーム解析: シークエンス解析によって DNA 配列上で遺伝子と推定された部分について細胞レベルで遺伝子転写産物の量を測定・解析し、生体細胞内における遺伝子の発現状況を網羅的に把握する解析方法。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

第 71 回 生物工学会、International Marine Biotechnology Conference 2019 にて学会発表。

6. 関連特許(Patent)

なし。