

いろいろインスピレーションが湧いてくる論文でした。



野島 高彦 (のじま たかひこ) 九州大学大学院工学研究院応用化学部門助手

<http://www.takenaka.cstm.kyushu-u.ac.jp/takahiko/nojimtcm@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp>

昨年春より九州大学大学院工学研究院の竹中繁織助教授のグループに加わり、生体分子アレイ技術をはじめとする種々のバイオ分析研究に携わっています。よろしくお願ひします。

生体分子アレイは、生命現象を包括的に理解するために必要な技術です。最初に実用化された DNA アレイに続き、現在は蛋白質や糖鎖、それに細胞をアレイ化したシステムも開発されています。今回はこのような生体分子アレイ技術に関する報告で目にとまったものを紹介します。

(1) Synthesis of Protein-Nucleic Acid Conjugates by Expressed Protein Ligation

Marina Lovrinovic, Ralf Seidel, Ron Wacker, Hendrik Schroeder, Oliver Seitz, Martin Engelhard, Roger S. Goody & Christof M. Niemeyer, *Chem. Commun.* **2003**, 822-823.

蛋白質アレイを作製するためには、固相表面に蛋白質分子を配列・固定しなければなりません。しかし固定化に伴って蛋白質分子の立体構造に影響が生じることがあり、これを回避する技術が求められています。このための一つの方法は、蛋白質を直接固体表面に固定せず、適切なリンカーを介して固定するというものです。この報告では遺伝子工学的に調製した蛋白質に一本鎖ペプチド核酸(PNA)を共有結合させたコンジュゲートを調製し、これを DNA アレイにハイブリダイゼーションさせることによって、蛋白質アレイを構築する手法が紹介されています。アレイ化された蛋白質が機能を失うことなく固定化されたことも確認しています。

(2) Self-Assembling Protein Arrays Using Electronic Semiconductor Microchips and in Vitro Translation

Andrew V. Oleinikov, Matthew D Gray, Jun Zhao, Donald D. Montgomery, Andrey L. Ghindilis, and Kilian Dill, *J. Proteome Research*, **2003**, ASAP article 10.1021/pr0300011.

同じく核酸を介して蛋白質分子をアレイ化する手法が報告されています。アレイ化される蛋白質は無細胞翻訳反応で調製され、この際にリジン残基の アミノ基にピオチンを導入しています。これを利用してストレプトアビジンを経由してピオチン化オリゴ DNA が連結されることにより、蛋白質と DNA とのコンジュゲートが構築されます。このオリゴ DNA と相補的配列が固定化された DNA アレイにコンジュゲートが与えられることにより、蛋白質アレイが構築されます。無細胞蛋白質合成系は、遺伝情報を実際の物質に変換することのできる非常に有用な手法です。以前は反応効率が非常に低く、ライジオアイソトープレベルでの検出感度が一般的な分析手法でしたが、この数年間で技術が大幅に進歩した結果、一般的なバイオ実験の一つになりつつあります。ここで述べられている一連の実験には生細胞を用いるステップは含まれておらず、遺伝子組換

え施設では無い通常の化学実験室で行えるという点でも注目に値します。

(3) Prediction of Feature Spread for Microarray Printing Using Protein and DNA Solutions

Jason T. Smith and Monty Reichert, *Langmuir*, **19**, 3078-3080 (2003).

生体分子アレイを自前で作製する際、もっともシンプルな手法は、ピンで試料溶液をガラス板に打ち付けるものです。アレイ上の液滴の直径は 100 マイクロメートルから 200 マイクロメートルの微小スケールなので、この直径はガラス表面の状態や溶液の組成に大きく影響されます。生体分子アレイを用いた実験において信頼性を高めるためには、できるかぎり液滴の大きさにばらつきが無いことが求められます。この報告では、種々の組成の生体分子試料溶液を、種々の市販アレイ用ガラス板にスポットした際の、液滴のサイズとばらつきに関して詳細に検討しています。経験的に液の組成からスポット径をある程度は予測できることが示されていますが、各種パラメータと液滴との関連性に関しては未知の部分が多く残されています。

(4) Arrays of Mobile Tethered Vesicles on Supported Lipid Bilayers

Chiaki Yoshina-Ishii and Steven G. Boxer, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, ASAP article 10.1021/ja029783+

ベシクルを固定化したアレイも報告されています。ベシクルから 24 残基のオリゴヌクレオチドが外部に伸びており、これと相補的配列のオリゴヌクレオチドが基板上の脂質二重膜から伸びています。両者をオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションで結合させることにより、固体表面上にベシクルをアレイ化させることに成功しています。膜蛋白のアレイ化などへの応用が考えられる興味深い手法です。

(5) Direct Detection of Single Nucleotide Polymorphism (SNP) with Genomic DNA by the Ferrocenylnaphthalene Diimide-based Electrochemical Hybridization Assay (FND-EHA)

Takahiko Nojima, Kenichi Yamashita, Makoto Takagi, Atsuko Takagi, Yasuyuki Ikeda, Hiroki Kondo, and Shigeori Takenaka, *Analytical Sciences*, **19**, 79-83 (2003).

最後に筆者の所属する講座からの報告を。生体分子アレイ技術では、アレイ作製技術に加えて、アレイ上の生体分子計測技術も鍵となります。電気化学的な検出法には様々なメリットがあり、微量サンプルの検出に適しています。ここでは染色体 DNA 上の一塩基多型の検出に電気化学的手法を用いています。血液から染色体 DNA を精製し、PCR もラベル化も施すことなく、そのまま金電極上に固定されたプローブオリゴヌクレオチドとハイブリダイゼーションさせることによって、一塩基多型の違いを確実に判別可能であることを示しました。

