

安心の受託サービスとは？

研究者のための、研究者による、  
日本国内での受託サービス

# かわら版

Promega

KAWARABAN

2018年 秋号

## “日本の研究者”を応援する 受託サービス特集

オミックス解析、セルベース解析など新たなニーズに対応する受託サービスを開始！

- ・プロメガの新規受託サービスについて：オミックス解析からの仮説創出とセルベース解析による実証サイクルの必要性 2 ページ
- オミックス解析受託**
- ・NGS から第3世代シーケンシングへ：DNA シーケンシングはかずさ DNA 研究所のお家芸！ 4 ページ
- ・次世代プロテオミクス解析そしてマルチオミックスへ：網羅的プロテオーム解析があるからオミックス解析だ！ 6 ページ
- ・様々な分野で活用されているメタボローム解析：代謝産物を見ずして、生体システムを語るなかれ！ 8 ページ
- セルベース解析受託**
- ・細胞内だから見える真の結合：生細胞内でのキナーゼ：阻害剤の結合解析（ターゲットエンゲージメント） 9 ページ
- ・TrueSTABLE Cell とは？：HAC & 新規 lox テクノロジーによる超効率的な安定発現細胞作成システム 10 ページ
- ・ヒト細胞認証試験：細胞実験のマスト（must）になったヒト細胞認証試験による細胞管理 12 ページ

# オミックス解析からの仮説創出とセルベース解析による実証サイクルの必要性



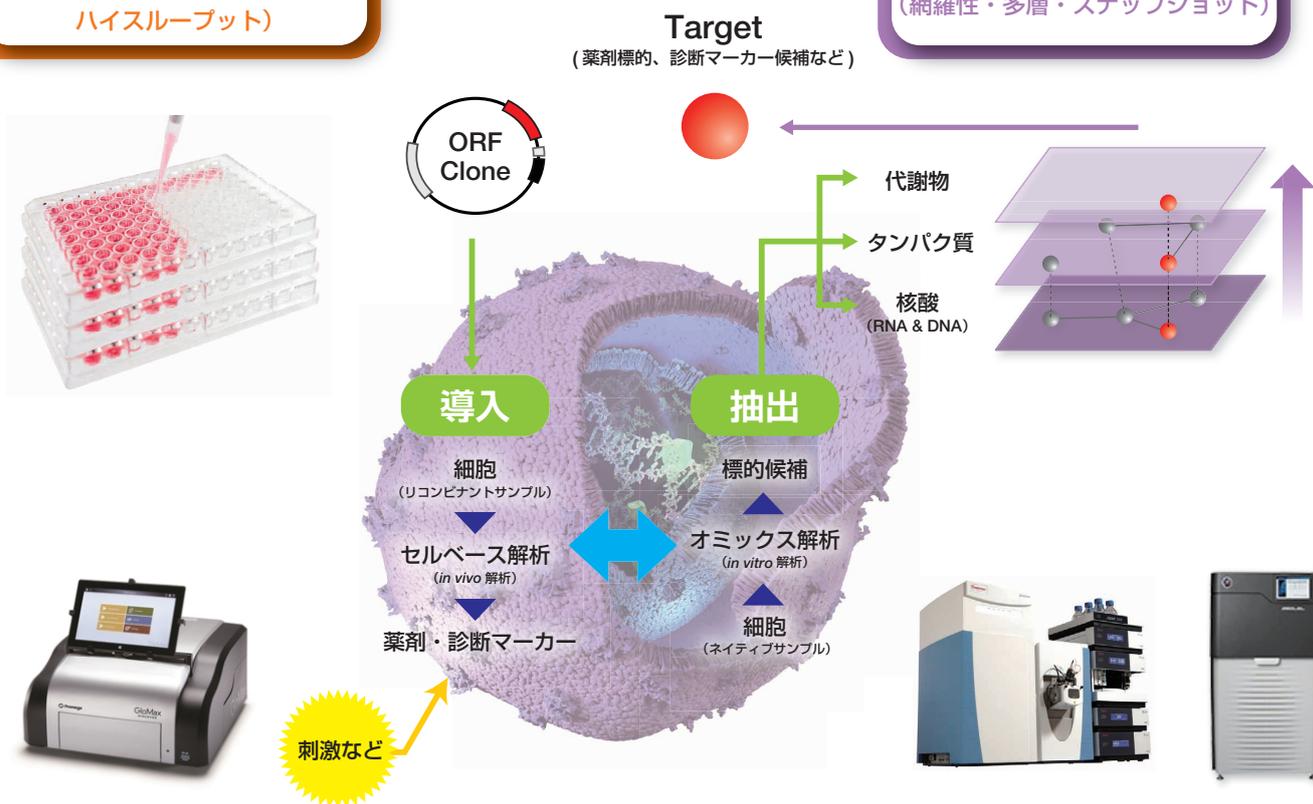
公益財団法人かずさ DNA 研究所  
副所長  
ゲノム事業推進部長  
小原 收先生

近年のライフサイエンスの研究活動ではオミックス解析など仮説創出型のアプローチが多くとられています。しかし、これらの手法から網羅的で大量のデータが得られたとしても生物学的な意味が即座に得られる訳ではなく、細胞など生きた生体システムを用いた仮説検証型のアプローチとの両輪をうまく回転させることが非常に重要です。

現在汎用されている次世代シーケンサーや質量分析装置によるオミックス解析は、技術の進歩による恩恵を受け、従来個々の「点」を深く探る解析から「面」としてとらえる解析へとシフトし、生成される情報量も桁違いに増加し、多くの新しい知見を得ることができるようになりました。しかし、これらの手法は細胞を破壊し、その時点での生体分子を網羅的にプロファイリングできるという利点がある一方で、それぞれの系の「スナップショット」しか得られないという致命的な弱点もあります。こうしたオミックス解析の知見を細胞内の動的な反応と結びつけて仮説検証を進める上で、セルベース解析は一つの重要なツールとなります。プロメガは発光・蛍光タンパク質をレポーターとした様々な革新的な測定技術を保有されており、特にそのレポーターをなるべく内在性に近い状態で測定できるようにしたセルベース解析サービスを開始されました。これにより、細胞のターゲットを絞った動的挙動を発光・蛍光レポーターで測定し、細胞内でどのような生体分子の量的プロファイルの変化が生じているかをオミックス解析するという一つのサイクルが完結します。これら実験サイクルを回す上で多くの研究者の方がこれまで大きなフラストレーションを感じてこられた様々なギャップ（マンパワー、一時的に必要な機器、高額装置と運用スキル、専門的な解析技術）を埋める、様々なサービスをプロメガが創出し、日本の研究者の皆様にお届けしていただくことに期待したいと思います。

**セルベース解析**  
(生体応答性、フェノタイプ検証、ハイスループット)

**オミックス解析**  
(網羅性・多層・スナップショット)



プロメガの受託サービスの概要

第 41 回日本分子生物学会年会バイオテクノロジーセミナー  
「次世代」は今！  
「知恵」しか持たざる者のオミックス解析

発表日：11月29日(火) 11:40～12:30  
会場：第16会場 (パシフィコ横浜 会議センター 502)  
かずさ DNA 研究所 小原 收先生にオミックス解析およびセルベース解析の重要性についてご講演いただきます。  
詳細については以下をご覧ください。  
[www.promega.co.jp/2018seminar/](http://www.promega.co.jp/2018seminar/)

## プロメガが提案する 安心国内受託サービス

プロメガは研究者のみならずのお困りごとを解決するオミックス解析 & セルベース解析受託サービスを開始しました。最新の NGS 装置および質量分析装置を駆使したオミックス解析からそれらのデータを実証するための培養細胞を用いた各種解析サービスを幅広く提供しています。

さらに、日本の研究者のみならずの抱えるリソースに関わる問題を解決すべく、受託サービスから機器の貸し出し、プロメガクラブによる汎用品のコスト削減、教育プログラムなども提供しています。

### プロメガ受託サービスラインナップ

オミックス解析	<b>ゲノム・トランスクリプトーム解析</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>DNA を冠した日本初の研究所“かずさ DNA 研究所”による NGS 受託解析サービス</li> <li>日本初の PacBio Sequel<sup>®</sup> の認証サービスプロバイダーによる Sequel<sup>®</sup> (ロングリード) シークエンシング堂々開始</li> <li>日本の研究者によるきめ細かい事前コンサルティングおよびアフターフォロー</li> </ul>	▶ 4 ページ
	<b>プロテオーム解析</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>DIA プロテオミクス技術によるプロテオーム解析を開始 (8,000 タンパク質の網羅的、比較可能な解析)</li> <li>真のプロテオーム解析とトランスクリプトーム解析 (RNAseq) を組み合わせたリーズナブルなオミックス解析を提案</li> <li>フェノールグアニジン系の試薬に漬けたサンプルを送るだけでデータを取得</li> </ul>	▶ 6 ページ
	<b>メタボローム解析</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>メタボローム解析で生体内の代謝産物を網羅的に解析</li> <li>質量分析装置で全てのピークを解析するノンターゲット解析を採用</li> <li>独自に開発した高速解析ソフトウェア</li> </ul>	▶ 8 ページ
セルベース解析	<b>細胞内タンパク質 - 化合物結合試験</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>カルナバイオサイエンス社でプロメガの NanoBRET<sup>™</sup> 技術を利用したキナーゼ：阻害物質 結合解析受託サービスを開始</li> <li>細胞内でのタンパク質：化合物結合解析は生体内での挙動を正確に反映</li> <li>IC<sub>50</sub> だけでなく結合時間 (residence time) も測定可能</li> </ul>	▶ 9 ページ
	<b>安定発現細胞作成 &amp; アッセイ</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>かずさ DNA 研究所の HAC および新規 lox テクノロジーを利用した安定発現細胞 TrueSTABLE Cell 作成サービスを開始</li> <li>ゲノムを傷つけない人工染色体 (HAC) 技術でコピー数、発現量もコントロール可、新規組換え技術によるシステムチックな構築作業</li> <li>プロメガのルシフェラーゼ &amp; タグ技術を導入でき、セルベース解析も受託可能</li> </ul>	▶ 10 ページ
	<b>細胞認証試験</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>今や論文投稿時にヒト培養細胞株認証データの提出が当たり前の時代に</li> <li>受託サービスで医薬基盤・健康・栄養研究所による信頼性の高い分析報告書を Get</li> <li>再生医療、細胞治療などで使用する患者由来細胞の確認試験もお問合せください</li> </ul>	▶ 12 ページ

#### 受託サービス (本誌参照)

マルチオミックス解析をお手頃な価格でご提供いたします。さらにプロメガの得意とする発光技術を利用したセルベース解析も!

#### プロメガクラブ

プロメガクラブ入会により会員特別割引やオンサイトでのテクニカルセミナーなどもご提供!  
[www.promega.co.jp/promegaclub.html](http://www.promega.co.jp/promegaclub.html)

#### RentaMAX

核酸自動精製装置、マルチプレートリーダーをお貸しいたします! ご利用の試薬をお使いいただくだけで無償で機器をご利用いただけます。  
[www.promega.co.jp/rentamax/](http://www.promega.co.jp/rentamax/)

### プロメガの各種研究サポートプログラム

#### ジェネリック試薬提案

医薬品と同様にジェネリックな汎用試薬で最大のコストパフォーマンスを提案いたします!  
 (弊社 営業にお問合せください)

## DNA シーケンシングはかずさ DNA 研究所のお家芸！ 第3世代シーケンシング (PacBio Sequel®) でさらにパワーアップ

### 概要

- DNA を冠した日本初の研究所“かずさ DNA 研究所”による NGS 受託解析サービス
- 日本初の PacBio Sequel® の認証サービスプロバイダーによる Sequel® (ロングリード) シークエンシング堂々開始
- 日本の研究者にきめ細かい事前コンサルティングおよびアフターフォロー

### イントロダクション

第3世代シーケンサーと呼ばれる PacBio Sequel® は、DNA 一分子をシーケンスします。連続した 60 kb 以上の塩基配列も読み取ることができ、全ゲノムシーケンス、アイソフォーム検出、完全長転写産物解析、融合遺伝子検出、ロングアンプリコン解析に用いられています。かずさ DNA 研究所はこの6月に、PacBio Sequel® を用いた解析で高品質データを所得できる機関として、開発元のパシフィック・バイオサイエンス社から国内第一号の認証サービスプロバイダーの認定を受けました。2018年8月現在、国内で Sequel® の受託を行なっている唯一の機関です。

### ロングリードシーケンスでゲノムのより深淵な秘密を解読

私たちは ORF クローンの分譲やベクターコンストラクション、質量分析などの受託解析から基礎医学発展のためのマーカー開発や機能性食品の開発などの共同研究まで幅広い研究支援を行っています。弊所の中心の技術であるシーケンシングに関しては次世代シーケンシング (New Generation Sequencing, NGS) マシンであるイルミナ社の HiSeq、NextSeq、MiSeq を保有しており、これらを用いた受託解析サービスの提供を行っています。全ゲノムシーケンス、Exome-Seq、Target-Seq、MBD-Seq、RNA-Seq、miRNA-Seq 等各種解析に対応しており、通常の受託では難しい微量のサンプルや分解サンプルにも可能な限り対応します。さらに、1細胞 RNA-Seq、1細胞 TCR 解析も受託可能となりました。

さらに、2017年10月にパシフィック・バイオサイエンス社の PacBio Sequel® を導入し、一分子シーケンスの受託解析を開始しました。今回導入された Sequel は同社 RSII に比べて 6~7 倍のデータ量 (Cell あたり) を得ることができ、より短期間に解析を進めることができます。

PacBio を用いたロングリードと、他のショートリード解析との最大の違いはもちろんリード長が長いことですが、これまで NGS の主戦場であったショートリードではソフトウェアや解析手法の助けがあってもカバーできない不可能な解析も多々あり、一度に長く解読できるロングリードシーケンシングでより複雑な生命暗号をさらに深く解読できるようになります。最近では同社のロングリードシーケンサーでコアラやアホロートル (ウーパールーパー) のゲノム解読が行われたように、複雑なゲノムをもつ生物種のゲノム解析に活躍が期待できるほか、ガンに代表されるような構造多型に由来する疾患研究でも有用です。



図 1. PacBio Sequel®

### かずさ DNA 研究所 遺伝子分析チームのご紹介



公益財団法人かずさ  
DNA 研究所  
遺伝子分析チーム  
チーム長  
長谷川 嘉則先生

かずさ DNA 研究所は 1994 年に世界初の DNA 専門研究機関として千葉県の支援を受けスタートし、植物やヒトの遺伝子研究を中心に成果を上げて参りました。臨床オミックス解析グループ遺伝子分析チームは、開所以来 20 年余にわたり培った DNA シーケンシング技術 (DNA 塩基配列の読み取り技術) を中心とする各種ノウハウの継承ならびに、次々と公開される新しい技術の整備や独自の開発を担っています。そして、医療や農業を含めた幅広い分野に関わる産学官の皆様のご依頼に応じてこれらの技術を有償で提供することにより、サポート事業を継続的に維持する仕組みを作り上げています。

### ロングリードシーケンシングでできること：

- Iso-Seq (アイソフォームシーケンス) : スプライスされて生じる転写産物のアイソフォームは、ショートリードのデータから完全にカバーすることができません。
- 構造多型・変異の解析 : 様々な疾患の原因となるゲノムの構造多型や変異 (欠失・挿入・増幅・逆位・転座 etc.) の構造は、SNP (一塩基多型) よりもはるかに長く、複雑で、ショートリードで検出することが困難。
- ハプロタイプの解析 : SNP の場合も、それが相同染色体のうちのどちらに生じているか (フェージング) は、ショートリードでは見分けられません。
- リピート配列の解析 : ゲノムには、機能が未知のものも含め様々な高頻度反復配列があります。これらは、ショートリードではマッピングができず、解析結果から削除されてしまう対象です。
- リファレンス配列の存在しない未解析の生物、非モデル生物の新規ゲノム配列決定

ロングリードシーケンサーは様々な新発見をもたらす機器である一方、誰もが高品質のデータを取得できるわけではありません。この機器ではこれまで必要であったサンプル DNA の増幅は行わなくて済む代わりに、質の良い DNA、すなわちインタクトで不純物を含まない DNA がマイクログラム単位で必要になります。私たちは長年培われた“かずさ DNA 研究所メソッド”を活かし、厳密なサンプル調製からデータ解析を行い高品質なデータの取得が可能。パシフィック・バイオサイエンス社は、シーケンス解析だけでなく各プロセスを厳格に評価し、高品質データを取得できる施設を認証サービスプロバイダーとして認定しており、我々認証サービスプロバイダーはパシフィック・バイオサイエンス社との強い結びつきにより最新かつ正確な情報を共有しており、ご依頼いただいた解析に反映させることができます。

さらに網羅的解析としてトランスクリプトーム解析（発現解析 RNA-seq）とプロテオーム解析を組合わせたマルチオミックス解析も開始しました（7ページ参照）。

ショート & ロングシーケンスだけでなく所内プロテオーム解析チームと連動したマルチオミックス解析についてのご質問などいつでもお寄せください。



図 2. 臨床オミックス解析グループ遺伝子分析チームのみなさん

## 価格とお問い合わせ先

### 第 3 世代シーケンスサービス

解析メニュー		取得データ目安	納期	サンプル数	価格 (¥)
PacBio ロングリードシーケンス	ライブラリ調製 + シーケンサーラン	RNA (40 万 - 60 万リード)	8 週間	1	490,000
		DNA (4 Gb - 7 Gb [DNA の品質による])	8 週間	1 検体 / 1 セル 2 検体 / 1 セル 5 検体 / 1 セル	385,000 455,000 665,000

NGS シーケンスサービス サンプルは 1 個からでも承ります (価格はお問合せください)。

解析メニュー		取得データ目安	納期	サンプル数	価格 (¥)	
ゲノム解析	ライブラリ調製 + シーケンサーラン	全ゲノムシーケンス	ご依頼内容ごとに設定	4 週間～	お問合せ	
		Human Exome-Seq (100 bp Paired-End)	8,000 万リード、8 Gb	8 週間	8 の倍数	222,000
発現解析	ライブラリ調製 + シーケンサーラン	真核生物 mRNA-Seq (TypeA : 50 bp Single-Read)	1,500 万リード、750 Mb	4 週間	8 以上	102,000
		真核生物 mRNA-Seq (TypeB : 100 bp Paired-End)	3,000 万リード、3 Gb	8 週間	8 以上	154,000
		miRNA-Seq (50 bp Single-Read)	1,500 万リード、750 Mb	2 - 4 週間	8 以上	116,000
エピジェネティクス関連	ライブラリ調製 + シーケンサーラン	Human Bisulfite-Seq (100 bp Paired-End)	3,000 万リード、3 Gb	8 週間～	お問合せ	
		MBD-Seq (100 bp Paired-End)	3,000 万リード、3 Gb	8 週間～	8 以上	189,000
		ChIP-Seq (50 bp Single-Read)	ご依頼内容ごとに設定			お問合せ
ライブラリ調製	RNA	mRNA-Seq (Type A) 用サンプル (50 bp, Single-Read)	n/a	3 週間	8	57,000
		mRNA-Seq (Type B) 用サンプル (100 bp, Paired-End)	n/a	3 週間	7 以上	97,000
	DNA	Human Exome-Seq 用サンプル (100 bp, Paired-End)	n/a	3 週間	8	162,000
		全ゲノム、Target-Seq 用	n/a	3 週間	8	57,000
シーケンサーラン (レーン貸切)	NextSeq	75 bp Single-Read	4 億リード、最大 30 Gb	4 週間		391,000
		150 bp Paired-End	2.6 億リード、最大 39 Gb			530,000
		75 bp Paired-End	8 億リード、最大 60 Gb			695,000
		150 bp Paired-End	8 億リード、最大 120 Gb			1,111,000
	MiSeq	150 bp Paired-End	2,700 万リード、4 Gb	4 週間		329,000
		250 bp Paired-End	2,700 万リード、6.7 Gb			354,000
		300 bp Paired-End	4,700 万リード、14.1 Gb			447,000
		150bp Paired-End Nano	200 万リード、300 Mb			142,000
		250 bp Paired-End Nano	200 万リード、500 Mb			171,000
HiSeq	50 bp Single-Read	1.86 億リード、9.3 GB	8 週間		236,000	
		3 億リード、15 GB	4 週間		395,000	
	100 bp Paired-End	3.74 億リード、37.4 GB	8 週間		548,000	
		6 億リード、60 GB	4 週間		867,000	

### 抗体可変領域解析

5'-RACE 法により 5'UTR から定常領域までの塩基配列を取得し、シグナル配列部分の開始メチオニンから可変領域の末端部分までの配列を報告します。かずさ DNA 研究所では大規模 cDNA プロジェクトでの経験を活かし、抗体産生細胞から RNA 抽出を行い迅速に可変領域配列を決定します。

解析メニュー		納期	サンプル数	価格 (¥)
抗体の可変領域解析	基本解析	3-4 週間	1	350,000
	CDR 同定	1-2 週間	1	21,000

※多検体解析のためのボリュームディスクカウントなどもご用意しています。  
※解析についても別途お見積りいたします。お問合せフォームにてご相談ください。

本サービスの詳細、お問合せ、見積依頼は以下をご覧ください。

[www.promega.co.jp/NGS/](http://www.promega.co.jp/NGS/)

## 網羅的プロテオーム解析があるからオミックス解析だ！

### 概要

- DIA プロテオミクス技術によるプロテオーム解析を開始 (8,000 タンパク質の網羅的、比較可能な解析)
- 真のプロテオーム解析とトランスクリプトーム解析 (RNAseq) を組み合わせたリーズナブルなオミックス解析を提案
- フェノールグアニジン系の試薬に漬けたサンプルを送るだけでデータを取得

### イントロダクション

DNA シーケンシングの黎明期だった 1970 年後半から 1980 年代始めに大学院で生命科学の研究をされていたシニア世代にとっては当時の「シーケンシング」と言えば、タンパク質のアミノ酸配列決定だったという生命科学の歴史を思い出されることもあると思います。生体システムの機能を司る主役は、間違いなくタンパク質です。タンパク質の定性的・定量的な計測データから生体システムの機能的な「状態」を記載することは王道中の王道です。しかし、これまで多くの方は圧倒的にトランスクリプトーム解析を生体システムの網羅的な記載に用いてきましたが、転写はタンパク質翻訳への過程に過ぎず、タンパク質解析への回帰が不可欠であることは明らかです。

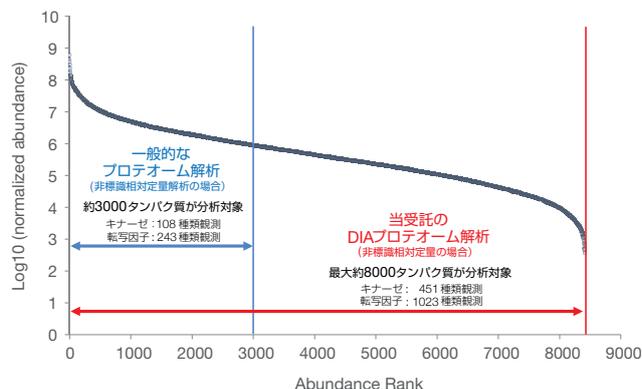


図 1. DIA プロテオーム解析による分析深度の飛躍的進歩

HEK293 細胞を用いて高深度 DIA プロテオーム解析で観測されたタンパク質のダイナミックレンジを示す。本解析では HEK293 細胞から約 8400 種類のタンパク質が観測された (同定の閾値: Protein FDR < 1%, Peptide FDR < 1%)。一般的なプロテオーム解析を想定して、発現量の多い 3000 タンパク質からキナーゼならびに転写因子の数を調べるとキナーゼが 108 種類、転写因子が 243 種類であった。それに対して観測された全タンパク質ではキナーゼが 451 種類、転写因子が 1023 種類と格段に増加した。このことから、キナーゼや転写因子を含めた微量タンパク質を対象とする場合に高深度 DIA プロテオーム解析を行うことに大きなアドバンテージがある。

### 次世代プロテオミクス解析

タンパク質に関する網羅的な解析が主役になりきれなかった原因は、トランスクリプトーム解析などと比較すると分析深度が低く、一般的なプロテオーム解析では約 3000 種類のタンパク質を同定・比較定量できる程度にとどまっていたことです。これでは様々な分野で着目されることの多いキナーゼや転写因子などの微量タンパク質を観測するには不十分であり、さらなる分析深度の拡大が期待されてきました (図 1)。かずさ DNA 研究所では次世代プロテオミクスと称されている分析深度、定量性に優れた DIA プロテオミクス技術を取り入れ、さらに最新鋭の質量分析計 (Q-Exactive™ HF-X, Thermo Fisher Scientific 社) で測定することにより、最大 8000 種類のタンパク質を同定・比較定量 (HEK293 細胞を用いた系で行った場合。観測できるタンパク数はサンプルの種類に依存) を行えるシステムを構築しています。私たちは同じ検体からこうした網羅的解析のための RNA とタンパク質を同時に調製できる系も確立しており (論文投稿中)、更により微量タンパク質からの高感度検出に向けての開発研究を実施しており、正当な「オミックス解析」と呼ぶにふさわしい解析メニューを開発中です。当受託ではここで構築した最先端のプロテオーム解析サービスを提供します。また、この技術をベースにした高深度リン酸化プロテオーム解析なども対応しておりますので、ご興味があればお問い合わせください。



公益財団法人かずさ DNA 研究所  
臨床オミックス解析グループ  
川島 祐介 研究員

### かずさ DNA 研究所 臨床オミックス解析グループ ご紹介

プロテオーム解析技術の開発を主な研究テーマとして取り組んでおり、開発した技術や培ってきたノウハウをもとに様々な研究室と共同研究を行い、それぞれのニーズに対応しながら多種多様なサンプルのプロテオーム解析をしてまいりました。プロテオミクスという言葉ができてから 20 年以上経ちますが、残念ながらだれもが簡単に

プロテオーム解析が行えるわけではなく、同じ質量分析計を持っていても使い手によって観測できるタンパク質数が倍近く変わることもしばしばあります。高度なプロテオーム解析を実現させるためには、サンプルの種類ごとに応じた適切な前処理、目的に合わせた適切な質量分析計のセッティング、パフォーマンスを維持するための質量分析計の適切な管理が必要不可欠です。本受託解析ではこれまでの経験をもとに以上の点を押さえた高度なプロテオーム解析を提供できればと思っています。

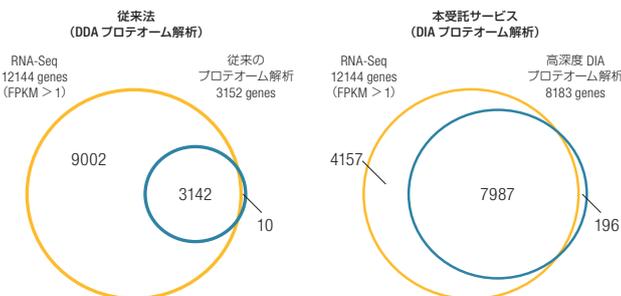


図 2. RNA-Seq とプロテオーム解析で観測された mRNA とタンパク質をコードする遺伝子の重複

RNA-Seq と Q-Exactive HF-X 導入以前のデータ依存型分析法 (DDA) によるプロテオーム解析 (左図) と RNA-Seq と本受託サービスの Q-Exactive HF-X を用いた高深度 DIA プロテオーム解析 (右図) との比較を示す。分析したサンプルは HEK293F 細胞を用い、RNA-Seq とプロテオーム解析のそれぞれの解析で用いたデータベースに共通して存在した遺伝子のみを対象とした。以前のプロテオーム解析では RNA-Seq で観測できる遺伝子数との差が大きかったが、本受託サービスの高深度 DIA プロテオーム解析ではその点が大きく改善され、マルチオミックス解析を行う上で対象となる分子が大幅に増加した。



## 価格とお問い合わせ先

### A) プロテオーム解析 (プロテインプロファイリング)

かずさ DNA 研究所では、次世代プロテオミクスと称されている分析深度、定量性に優れた DIA プロテオミクス技術を取り入れ、HEK293 細胞を用いた系では最大 8,000 種類\* のタンパク質を同定・比較定量を行えるシステムを構築しました。メニューにない解析もご相談承ります。

\* サンプル種によって観察できるタンパク質の数は異なります。

解析メニュー	納期	サンプル数*	参考価格 (¥) / 1 サンプル	
			個別解析	マルチオミックス
<b>DIA プロテオーム解析によるタンパク質発現・相対定量解析</b> 発現タンパク質の同定ならびに相対定量解析 方法: LC-MS/MS (DIA) 取得データ目安: 4,000-6,000 タンパク質 必要サンプル量目安: タンパク質: 40 µg 以上 目安: 細胞 $5 \times 10^5$ 以上、組織 10 mg 以上、血清 / 血漿 1 µL 以上、尿 200 µL 以上	4 週間	1 ~ 5	⑧ 248,000 ~	⑩ 224,000 ~
		6 以上	⑨ 217,000 ~	⑪ 196,000 ~
<b>高深度 DIA プロテオーム解析によるタンパク質発現・相対定量解析</b> Gas phase fraction 法により作製した大規模なプロテイン・ペプチドライブラリーを元にした、発現タンパク質の同定ならびに相対定量解析 方法: GPF+LC-MS/MS (ライブラリ作製用)、LC-MS/MS (DIA) 取得データ目安: 5,000-8,000 タンパク質 必要サンプル量目安: タンパク質: 40 µg 以上 目安: 細胞 $5 \times 10^5$ 以上、組織 10 mg 以上、血清 / 血漿 1 µL 以上、尿 200 µL 以上	4 週間	1 ~ 2	⑩ 527,000 ~	⑫ 476,000 ~
		3 ~ 5	⑪ 372,000 ~	⑬ 336,000 ~
		6 以上	⑫ 326,000 ~	⑭ 294,000 ~
<b>DIA リン酸化プロテオーム解析によるタンパク質発現・相対定量解析</b> タンパク質消化物からリン酸化されたペプチドを濃縮し、同定ならびに相対定量解析 方法: LC-MS/MS (DIA) 取得データ目安: 4,000-8,000 リン酸化ペプチド 必要サンプル量目安: タンパク質: 0.5 mg 以上、目安: 細胞 $5 \times 10^6$ 以上、組織 50 mg 以上	4 週間	1 ~ 5	⑬ 326,000 ~	⑮ 294,000 ~
		6 以上	⑭ 295,000 ~	⑯ 266,000 ~
<b>高深度 DIA リン酸化プロテオーム解析による比較定量解析</b> リン酸化ペプチドを濃縮後、Gas phase fraction 法により大規模なリン酸化ペプチドライブラリーを作製。そのライブラリーをもとにリン酸化ペプチド同定ならびに相対定量解析 方法: GPF+LC-MS/MS (ライブラリ作製用)、LC-MS/MS (DIA) 取得データ目安: 8,000-15,000 リン酸化ペプチド 必要サンプル量目安: タンパク質: 0.5 mg 以上、目安: 細胞 $5 \times 10^6$ 以上、組織 50 mg 以上	4 週間	1 ~ 2	⑮ 605,000 ~	⑰ 546,000 ~
		3 ~ 5	⑯ 450,000 ~	⑱ 406,000 ~
		6 以上	⑰ 403,000 ~	⑲ 364,000 ~
<b>オプション</b> 血清 / 血漿高存在量タンパク質 14 種類除去 必要サンプル量目安: 血清 / 血漿 10 µL 以上	納期に影響せず	1	⑰ 31,000 ~	⑳ 28,000 ~
クリーンアップ処理 (サンプルが抽出液で溶解されている場合は強く推奨)	納期に影響せず	1	⑲ 16,000 ~	㉑ 14,000 ~

\*表示価格は 6 サンプル以上ご注文の場合の 1 サンプルあたりの料金です (1 サンプルからでも解析可能)。  
\*マルチオミックスセットは B) トランスクリプトーム解析とのセット料金です (納期は A + B でも 4 週間)。

### B) トランスクリプトーム解析 (RNA プロファイリング)

解析メニュー	納期	サンプル数	参考価格 (¥) / 1 サンプル	
			個別解析	マルチオミックス
<b>3'RNA-Seq</b> mRNA の 3' 末端配列決定 方法: HiSeq (50 bp Single-Read) または NextSeq (75 bp Single-Read) 必要サンプル量目安: total RNA: 2 µg 程度 目安: 細胞 約 $2 \times 10^6$ 個以上、組織 (マウス肝臓) 約 1 mg 以上	4 週間	1	① 64,000 ~	
		2	② 57,000 ~	
		3	③ 54,000 ~	
		4	④ 53,000 ~	
		5 ~ 7	⑤ 52,000 ~	
		8	⑥ 51,000 ~	
		9 以上	⑦ 49,000 ~	

\*ライブラリー調製には発現プロファイリングに特化し経済的なシステムである Lexogen 社の QuantSeq を使用  
\*表示価格は 6 サンプルご注文の場合の 1 サンプルあたりの料金です (1 サンプルからでも解析可能)。  
\*マルチオミックスセットは A) プロテオーム解析とのセット料金です (納期は A+B でも 4 週間)。

### サンプルの前処理

解析メニュー	納期	サンプル数	参考価格 (¥) / 1 サンプル	
			個別解析	マルチオミックス
タンパク質画分と RNA 画分の分離、精製、QC	1 週間以内	1	㉒	㉓ ¥30,000

\*サンプル数のボリュームディスカウントは、サンプルが同じ実験系のものである場合に適用になります。異なる実験系のサンプルを組み合わせた場合は適用となりませんのでご了承ください。

本サービスの詳細、お問合せ、見積依頼は以下をご覧ください。

[www.promega.co.jp/multiomics/](http://www.promega.co.jp/multiomics/)

## 代謝産物を見ずして、生体システムを語るなかれ！

### 概要

- メタボローム解析で生体内の代謝産物を網羅的に解析
- 質量分析装置で全てのピークを解析するノンターゲット解析を採用
- 独自に開発した高速解析ソフトウェア

### イントロダクション

メタボローム解析とは生体内に含まれる代謝物（低分子化合物）を網羅的に解析する手法です。遺伝子構造や、RNA・タンパク質プロファイルが重要なことは既に述べられてきましたが、それらの生体高分子の機能を制御する低分子プロファイルもオミックス解析では忘れてはなりません。当研究所では長く食品や植物由来の代謝産物の解析を主に行ってききましたが、臨床検体の解析を拡大し、RNA、タンパク質、代謝産物の統合プロファイリングの実現を目指しています。

#### メタボローム解析サービスメニュー

LC-MS 解析	基本解析：植物二次代謝物、未知化合物など 脂質解析：リン脂質、中性脂質など
GC-MS 解析	基本解析：アミノ酸、糖、有機酸など一次代謝産物 脂肪酸解析：C8-C30 の脂肪酸
ソフトウェアライセンス	Confeito GUI Plus

### LC-MS 受託解析

「LC-MS による解析サービス」では、多くの二次代謝物（芳香族配糖体、テルペノイド誘導体、脂質、アミノ酸誘導体など）を対象として分析します。通常、植物の場合では 5,000 種類以上、微生物の場合では 1,000 種類前後の化合物が検出されます。当研究所では高分解能質量分析装置 Q Exactive™ (Thermo Fisher Scientific 社) を活用し、LC-MS 分析によって分離されたピークを網羅的に検出しサンプル間の成分変動の比較によるメタボローム解析が可能なデータをご提供します。

### GC-MS 受託解析

「GC-MS による解析サービス」では、多くの一次代謝物（糖、アミノ酸、有機酸、脂肪酸など）を対象として分析します。難揮発性物質をトリメチルシリル化 (TMS 化) あるいはメチルエステル化などの誘導体化により揮発性物質に変化させ、GC-MS により網羅的に分析します。当研究所では 10,000 u/sec の高速スキャンと高感度測定を兼ね備えた四重極型質量分析計 GCMS-QP2010 Ultra (SHIMADZU) から得られる定量性の高い分析データと徹底したスペクトルデータの精査により、高精度なターゲット解析を実現しています。これに加え、ターゲット化合物以外の化合物も含む全ての検出ピークに対して主成分分析を行い、化合物含有プロファイルをもとにしたサンプル間比較結果もご提供します。

### 相関ネットワーク解析用ソフトウェア Confeito GUI plus

相関ネットワーク解析と呼ばれる種類の統計解析を行うためのソフトウェアです。相関ネットワーク解析では、成分含有量や遺伝子発現量の変化パターン間の相関性を調べ、類似したパターンをネットワークとしてグラフ化します。そのため、生体内で類似の応答を示す代謝物や遺伝子のグループを視覚的に見つけ出すことが可能になります。Confeito GUI plus は、このような相関ネットワーク解析の複雑な計算を簡便な操作で実行できるインターフェースをご提供します。

本ソフトウェアはメタボローム解析では、サンプル間で含有パターンが似ている化合物同士の探索・グルーピングなどに利用されます。当研究所の受託サービスで得られた解析データは勿論のこと、お客様がご自身で取得した各種データであっても、入力データとして使用することができます。

また、データ解析機能だけでなく、高機能ビューワーも含まれているため、本ソフトウェア上で論文投稿用の作図やプレゼンテーション等を行うことも可能です。

本サービスの詳細、お問合せ、見積依頼は以下をご覧ください。

[www.biosupport.kazusa.or.jp/sub\\_center3/](http://www.biosupport.kazusa.or.jp/sub_center3/)



公益財団法人かずさ DNA 研究所  
生体分子解析グループ  
グループ長

鈴木 秀幸先生

### かずさ DNA 研究所生体分子解析グループのご紹介

我々のグループで行っているメタボローム解析受託は、各種の質量分析装置によって検出された全てのピークを解析するノンターゲット解析が特徴です。ノンターゲット解析に必要な複雑なデータ解析に対応するため、高速データ処理を可能にした当研究所独自の解析ソフトウェア (図 2) を利用しています。また、特定の化合物の定量分析にも対応可能な質量分析装

(図 1) も整備しています。当研究所のメタボローム解析サービスは、「液体クロマトグラフィー質量分析装置 (LC-MS) による解析サービス」と「ガスクロマトグラフィー質量分析装置 (GC-MS) による解析サービス」に大別され、独自の相関ネットワーク解析によって、生体内で類似の応答を示す代謝物や遺伝子のグループを視覚的に見つけ出すことを可能にするソフトウェア Confeito GUI plus (図 2) を開発し、提供しています。



図 1. メタボローム解析の分析装置

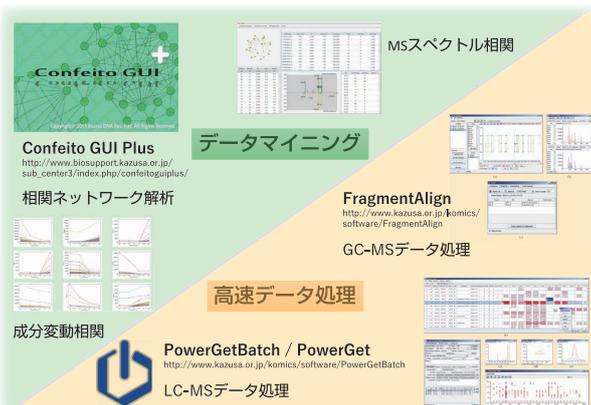


図 2. メタボローム解析ソフトウェア

## 生細胞内でのキナーゼ：阻害剤の結合解析（ターゲットエンゲージメント）

## 概要

- カルナバイオサイエンス社でプロメガの NanoBRET™ 技術を利用したキナーゼ：阻害物質結合解析受託サービスを開始
- 細胞内でのタンパク質：化合物結合解析は生体内での挙動を正確に反映
- IC<sub>50</sub> だけでなく結合時間（residence time）も測定可能

## イントロダクション

キナーゼについては、創薬ターゲット分子としてこれまで数多くの研究がされてきており、癌の標的分子治療薬としてのチロシンキナーゼ阻害剤研究のブームは一段落した感があるものの、癌以外の疾患の治療薬のターゲットとしても依然として高い注目を集めています。特に最近のがん免疫研究の盛り上がりにあわせて、併用療法の一角を多くのキナーゼ阻害剤が担っており、WHO の臨床試験データベースでチェックポイント阻害薬と低分子化合物の組み合わせで進められている臨床試験を検索すると、数百を超える試験が現在進行中であることが分かります。また、キナーゼは創薬ターゲットとしての魅力もさることながら、副作用回避の観点から、オフターゲットとしてのキナーゼ阻害を調べておくこともとても重要です。

## 細胞内でのキナーゼ：阻害剤結合解析受託サービス

カルナバイオサイエンス社は 2003 年からキナーゼタンパクの提供、キナーゼプロファイリングサービスなどを通じて、お客様のキナーゼ創薬研究を主に生化学的アッセイを中心に支援し続けてきております。この度、プロメガ社の NanoBRET™ Target Engagement (TE) テクノロジーを用いて細胞内でのキナーゼ阻害剤の作用を評価するサービスを開始することになりましたので、本稿ではその内容を中心にご紹介させていただきます。

NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay は、NanoBRET™ System を生細胞内での化合物とキナーゼとの結合の解析に応用した技術で、NanoLuc® ルシフェラーゼ-キナーゼ融合タンパク質に可逆的に結合する NanoBRET™ トレーサーを用いることにより、細胞内での化合物の見かけの親和性が測定できます（図 1）。

図 2 には本テクノロジーを用いて BTK に対するキナーゼ阻害剤の効果を検討した結果を示しています。また、本テクノロジーでは化合物の特徴づけの指標として、最近注目されている residence time 測定にも応用が可能です。図 3 に BTK に対する Dasatinib, Ibrutinib の residence time 測定を行ったデータを示しています。Ibrutinib は BTK の ATP 結合部位付近のシステインに共有結合して BTK を不活性化させる化合物で、residence time を測定すると、ターゲット分子に強く結合して、tracer を添加しても剥がれてこない様子が見て取れます。一方、Dasatinib は非共有結合型の阻害剤ですので、経時的にシグナルが回復して来る様子が観察できます。標的酵素に対する IC<sub>50</sub> が同じでも、ターゲット分子に結合している時間が長い化合物の方が、生体内で強い阻害を示すことが期待できるため、化合物の residence time を測定することは、化合物の特徴づけ、差別化が可能になるのみならず、*in vivo* に投与した際の効果の予測にも役立つと考えられます。カルナバイオサイエンス社では、本テクノロジーを用いた受託試験の準備を進めており、まずは 30-40 種のセリンスレオニンキナーゼから着手し、徐々にその数を増やしていく計画をしています。

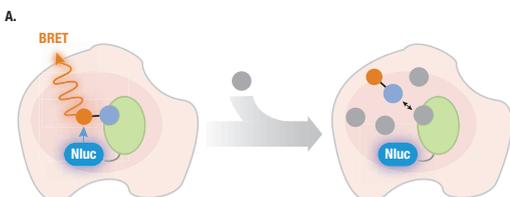


図 1. NanoBRET™ を用いた細胞内キナーゼアッセイの原理

標的キナーゼに NanoLuc® luciferase を融合させたタンパク質を細胞に発現させ、BRET acceptor となる蛍光標識した膜透過性 tracer を添加する。Tracer が標的分子に結合すると BRET が起こり、acceptor が蛍光を発するが、化合物が tracer の結合を阻害すると蛍光が起こらない。この化合物の結合 / 非結合を BRET で検出する。



カルナバイオサイエンス株式会社  
創業支援事業本部  
副本部長  
川瀬 裕介様

## カルナバイオサイエンス社のご紹介

弊社では NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay 以外にも、アメリカのパートナー企業の細胞におけるキナーゼアッセイの代理店サービスを行っております。一つはシアトルにある Advanced Cellular Dynamics (ACD) 社の Ba/F3 細胞を用いるアッセイです。Ba/F3 細胞は IL-3 刺激依存的に増殖するマウスのプロ B 細胞ですが、細胞内にチロシンキナーゼの遺伝子を導入すると、増殖に対する IL-3 非依存性を獲得し、導入したチロシンキナーゼのシグナルのみで増殖するように変化します。この細胞にキナーゼ阻害剤を作用させると、導入した一つのチロシンキナーゼの作用を阻害することで細胞の増殖抑制が起こるため、細胞の生死を指標にキナーゼ阻害剤の評価が可能になります。なお、このアッセイにおきましては、生細胞数の定量に細胞内の ATP 濃度を測定するプロメガ社の CellTiter-Glo® を使用しております。ACD 社では現在変異体を含む全 95 種類のチロシンキナーゼ導入細胞を保有しており、プロファイリングや細胞レンタルなどのサービスを実施しております。

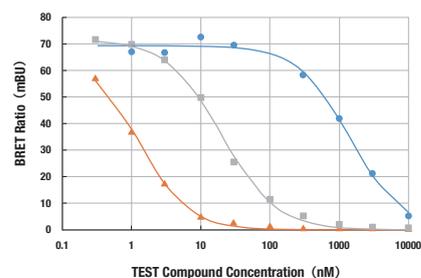


図 2. BTK に対する阻害剤の効果の検討

BTK-NanoLuc® Fusion Vector を HEK293 細胞に強制発現させ、NanoBRET™ Tracer を添加、Staurousporine, Ibrutinib, Dasatinib を添加して各化合物の BTK に対する結合の IC<sub>50</sub> を算出した。

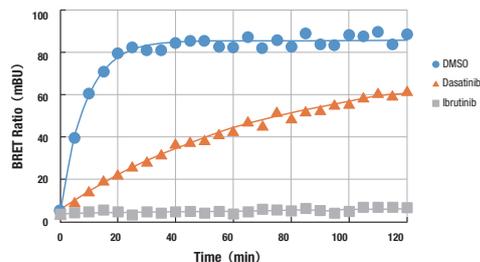


図 3. BTK 阻害剤の residence time の測定

BTK-NanoLuc® Fusion Vector を HEK293 細胞に強制発現させた後、Ibrutinib, Dasatinib とインキュベートし、未反応の化合物を wash out 後、NanoBRET™ Tracer を添加、反応を経時的に測定した。Residence time については、非線形回復にて算出する。

本サービスの詳細、お問合せ、見積依頼は以下までお寄せください。

[info@carnabio.com](mailto:info@carnabio.com)

# TrueSTABLE Cell とは？： HAC & 新規 lox テクノロジーによる超効率的な安定発現細胞作成システム

## 概要

- かずさ DNA 研究所の HAC および新規 lox テクノロジーを利用した新しい安定発現細胞 TrueSTABLE Cell 作成サービスを開始
- ゲノムを傷つけない人工染色体 (HAC) 技術でコピー数、発現量もコントロール可、新規組換え技術によるシステムチックな構築作業
- プロメガのルシフェラーゼ & タグ技術を導入でき、セルベース解析も受託可能

## イントロダクション

これまで一般的に作成されていた安定性発現細胞は、用時トランスフェクションの問題点を解決するものの、宿主ゲノム DNA に傷をつけ、また取り込まれる宿主 DNA の部位、個数が多種多様で、さまざまなクローンが作られ、同じものを作ることは困難です。かずさゲノムテクノロジーズでは、HAC にかずさ DNA 研究所の新規部位特異的組換え酵素システム (VloxP-SloxP テクノロジー) およびプロメガの HiBiT 技術を応用して、これらの問題を解決しました。

## 背景

### 安定発現細胞

遺伝子組換え安定発現細胞はタンパク質の大量生産、長期的なタンパク質の機能解析、薬理学的研究、遺伝子治療の道具として、生命科学において非常に高い需要があります。従来の安定発現細胞株の作製には①目的遺伝子のトランスフェクション、②薬剤選別、③クローニング、④増殖、⑤発現解析といったステップを要し、多大な時間と労力を要します。また従来法の問題点として、宿主のゲノム DNA を傷つけることによるアーティファクトが懸念されます。また、導入コピー数の厳密な制御は不可能であり、さらに長期培養により発現量が減少するなど、発現量のコントロールは困難を極めます。そのため同一クローンを用いた解析でも培養を重ねることで再現性が低下する場合や、クローン間の表現型の比較 (例えば目的遺伝子の野生型と変異型) が単に発現量の差を反映した結果であることなどが懸念されます。



株式会社かずさゲノムテクノロジーズ (KGT)

## KGT のご紹介

株式会社かずさゲノムテクノロジーズ (Kazusa Genome Technologies: KGT) は、2015 年に公益財団法人かずさ DNA 研究所 (KDRI) からスピンオフして設立された会社です。KDRI の所有する遺伝子資源に Promega Corporation の先端テクノロジーを融合した各種クローンをはじめ関連技術受託サービス提供などをコアビジネスとして、様々な連携機関との多方面への事業展開を行い、お客様の広いニーズにマッチしたサービス提供を行っています。

## HAC について

HAC とは人工的に作られた 47 本目のヒト染色体です。細胞に導入すると、細胞分裂時に宿主細胞の染色体と同様に複製、分配され、長期に渡り安定に保持されます。宿主細胞の染色体とは独立に存在し、宿主細胞のゲノム DNA を傷つけることはありません (図 1、表 1)。

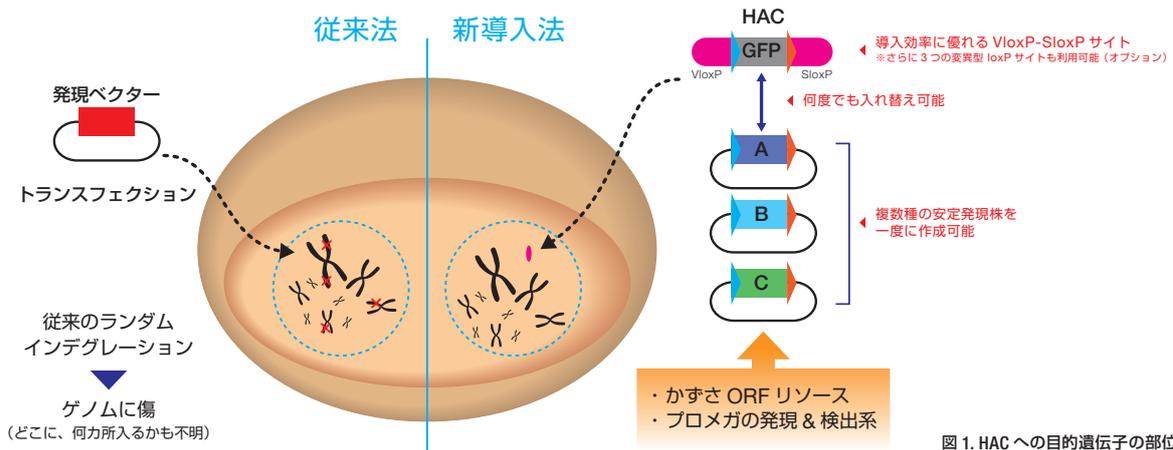


図 1. HAC への目的遺伝子の部位特異的組換え

特長	従来法 (プラスミドベクターを使用する場合)	新導入法 (TrueSTABLE Cell)
導入先	ゲノム (ランダムに挿入される)	HAC (HAC 上の定位位置に挿入 [挿入カセット])
導入 (細胞あたり 1 種類の遺伝子について)	導入コピー数 コピー数の制御は困難 (各クローンによりバラバラ) ※過剰発現で細胞毒性を持つタンパク質の場合、発現株が得られない可能性もある。	1 コピー
導入可能サイズ	10 Kb 程度	数 100 kb 程度 (移動元に依存: プラスミド・BAC クローン)
作業効率	形質転換効率が低い (薬剤選択、大量のスクリーニングが必要)	新規 loxP によりシステムチック (複数種の安定発現株作成も容易)
発現量	コピー数・挿入部位に依存	一定 (プロモーターに依存)
発現の安定性	低い (低下する場合あり) ※ クロマチン構造変化による発現抑制を受ける場合がある	安定 (プロモーターの性質を維持) ※ HAC が宿主染色体と同程度に細胞中で安定である。
樹立に要する時間	3 ~ 4 ヶ月程度	1.5 ヶ月程度

表 1. TrueSTABLE Cell と従来の安定発現細胞株との比較

## 新規安定発現細胞 TrueSTABLE Cell 作成システムの利点

弊社がご提供する HAC を用いた TrueSTABLE Cell では従来の安定発現細胞と比較して、以下の利点があります。かすさ DNA 研究所が開発した部位特異的相同組換え手法を用いることで、①1細胞当たり1コピーの遺伝子を決まった位置に挿入することが可能、②宿主のゲノム DNA を傷つけない、③ HAC 上の決まった位置に挿入され、細胞内で一定量保持されるため同じプロモーターを用いた場合発現量を一定に調節可能、④サイレンシング等の影響を受けず、長期に安定した発現が可能、⑤単一 HAC 内の複数の異なる部位特異的組換え領域を用いることで異なるプロモーター調節下での複数の遺伝子の安定発現細胞株の樹立も可能になります。以上の特徴により、長期に渡る表現型解析やクローン間の比較を常に一定の発現量の下で行うことが可能になります。また、HAC では挿入可能な DNA の長さに制限がないため、転写調節領域等の非翻訳領域を含めた配列やポリヌクレオチド配列も挿入可能といった利点があります。加えて、薬剤選別も不要であり、薬剤耐性株単離に要する時間や選別によるバイアスを回避できます。

## 迅速な構築

従来の安定発現細胞株作製では細胞を十分量増やしたのち qRT-PCR や western blotting 等による発現解析が行われています。弊社では発現解析にプロメガ株式会社が開発した高感度の検出系を用いることで、発現解析のための細胞増殖に要する時間を大幅に短縮することが可能になりました。さらに、弊社のシステムでは複数の遺伝子を同時に細胞にトランスフェクションした場合、1細胞当たり1種の遺伝子のみ挿入されるため、目的遺伝子が多種にわたる場合でも同時に作製が可能であり迅速に構築できます。

## 目的遺伝子の作製から発現解析までサポート

目的遺伝子を持つプラスミドベクターの構築に関して、かすさ DNA 研究所が持つ豊富な遺伝子資源をもとに、プロメガ株式会社が開発したフレキシクロニング技術を用いて迅速な構築が可能です。また、各種タグ、シグナル配列の融合などにも対応しております。さらに、安定発現細胞作製後の発現解析、タグに応じた解析も提供可能です。

## 価格とお問い合わせ先

受託サービス名	細胞	参考価格 (¥)	
		アカデミア	企業
TrueSTABLE Cell 作成サービス (Target Insertion)	(A) HEK293	600,000 ~	1,000,000 ~
	(B) お客様ご提供の細胞 (汎用培養細胞の場合)	1,400,000 ~	1,800,000 ~
安定発現細胞作成サービス (Random integration: 従来の安定発現株作成法による)	(C) HEK293	800,000 ~	1,200,000 ~
	(D) お客様ご提供の細胞 (汎用培養細胞の場合)	お問い合わせ	お問い合わせ

### HEK 293 を用いた TrueSTABLE Cell 作成サービスに含まれる受託内容例 (A : ① + ② + 納品物 ③)

- ① 目的遺伝子の HEK293 (HAC を含む) への導入  
※目的遺伝子 (ORF) は材料としてご提供ください (Flexi ORF Clone より別途購入も可能)。
- ② HEK293 (HAC を含む) での目的遺伝子発現の確認  
※ HiBIT、NanoLuc<sup>®</sup>、HaloTag<sup>®</sup> などプロメガの検出タグによる発現確認の場合は作業、試薬代は料金に含まれる。  
[注意] 上記以外のタンパク質検出法による発現確認については別途お見積りいたします。
- ③ 納品物は目的遺伝子を導入した HEK293 最低 3 クローン (各 10<sup>6</sup> 個細胞)、発現確認データ  
その他 (B) (C) (D) については別途お見積りいたします。

・納期: 2 か月~ (TrueSTABLE Cell HEK293 の場合)、3.5 か月~ (お客様ご提供の細胞または Random integration の場合 [B、C、D])

**クローン:** プロメガの HiBIT、NanoLuc<sup>®</sup>、HaloTag<sup>®</sup> などの検出、精製タグを付加した ORF クローン (Flexi ORF Clone) やこれらのタグを利用したタンパク質相互作用解析用クローンセット (8 クローン) などの販売、サブクロニング受託サービスなども承ります。

**セルベース解析:** プロメガの HiBIT、NanoLuc<sup>®</sup>、HaloTag<sup>®</sup> などのレポーターを定量するアッセイも承ります。

※納品された細胞に対する遺伝子改変はライセンス上不可

※本サービスで利用する HAC はクロモリサーチ社で開発されたものです。

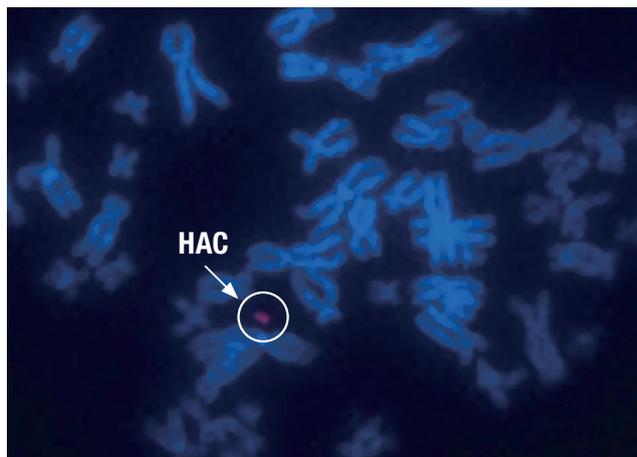


図 2. HEK293 細胞に導入した HAC

## まとめ

新規安定発現細胞 TrueSTABLE Cell 作成システムではゲノムに傷を入れることなく目的遺伝子を特定の場所へ正確に導入した真の安定発現株を迅速に提供することができます。また、かすさ DNA 研究所が持つ豊富な遺伝子資源と、プロメガ株式会社が開発したフレキシクロニングシステム、検出タグ及びこれを用いた解析を組み合わせたサービスを提供しております。

本サービスの詳細、お問合せ、見積依頼は以下をご覧ください。

[www.promega.co.jp/truestablecell/](http://www.promega.co.jp/truestablecell/)

## 細胞実験のマスト (must) になったヒト細胞認証試験による細胞管理

## 概要

- 今や論文投稿時にヒト培養細胞株認証データの提出が当たり前の時代に
- 受託サービスで医薬基盤・健康・栄養研究所による信頼性の高い分析報告書を Get
- 再生医療、細胞治療などで使用する患者由来細胞の確認試験もお問合せください

## 細胞認証試験とは？

研究社会に広く使用されている細胞の中には、誤認された細胞がそのまま使われていることがあります。誤認細胞とは本来存在しない細胞であり、新規細胞株樹立の過程などで細胞の取り違い（置き換わり）などが起こり、別の細胞となってしまった細胞株のことです。我々のバンクや理研細胞バンクに寄託される細胞にも一定頻度（約 7.6%）<sup>1)</sup> で確認されています。これら誤認細胞は世界の細胞バンクが協力してリスト化されており、その数は 500 種を超えています<sup>2)</sup>。そのため世界的に問題となっています。

細胞認証試験はこの細胞の取り違い（置き換わり）などが無いことを証明する試験のことであり、その検証方法として STR (Short Tandem Repeat) 解析が広く用いられています。STR は 2～7 塩基の短い DNA の繰り返し配列で構成され、多型性に富むことから犯罪捜査などの個人識別の分野で有用なマーカーとして使用されています（図 1）。これを細胞株に応用しデータ登録・データベース化することで、細胞株のドナーとなった個人個人つまりは細胞株 1 つ 1 つを見分けることが可能になります（図 2）。

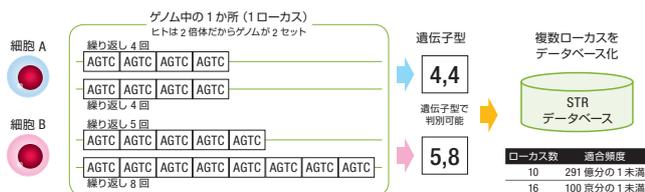


図 1. 細胞認証試験の概略



図 2. 細胞認証の例

医薬基盤・健康・栄養研究所で細胞バンクを運営する中で苦労しているのが細胞の品質管理であり、特にマイコプラズマ、ウイルスなどの感染と細胞誤認（クロスコンタミネーション）の検査に多くの時間をかけています。実際に 2002-2016 年の間に寄託された 853 細胞株において、138 株（16.2%）にマイコプラズマが検出されるという現状があります。まだまだ多くの研究者がこれらの問題に無関心で、微生物に汚染された細胞を使い続けていると考えられます。だからこそ、JCRB 細胞バンクでは世界最高品質の細胞を提供し、安心して研究に使用することができる細胞の提供を実践しています。



国立研究開発法人  
医薬基盤・健康・栄養  
研究所  
培養資源研究室  
小原 有弘先生

医薬基盤・健康・栄養研究所  
培養資源研究室のご紹介

医薬基盤・健康・栄養研究所培養資源研究室は厚生労働省の細胞バンク事業として JCRB 細胞バンクを運営しています。JCRB 細胞バンクは 1984 年に設立された国内最大規模の細胞バンクであり、現在国内外の研究者に年間 4600 本を超える細胞を分譲して、研究サポートをしています。最大規模と言っても総勢 17 名のスタッフで運営しているバンクであり、コンパクトな実施体制で、毎日楽しく細胞をガンガン増殖させています。また、普段のバンク事業で培った技術・ノウハウを活かして、研究者の細胞の細胞認証試験をサポートしています。データベースとの照合により認証結果を認証書として提供しますので、論文投稿の際には有用だと思われます。是非ご活用ください。

細胞バンクに登録されている実験用の細胞株だけでなく再生医療、細胞治療などで使用する患者由来細胞の確認試験などについてもお問合せください。

## 参考文献

- 1) 実験医学 Vol.26,561-567 (2008)
- 2) 誤認細胞リスト [http://iclac.org/wp-content/uploads/Cross-Contaminations-v8\\_0.pdf](http://iclac.org/wp-content/uploads/Cross-Contaminations-v8_0.pdf)

## Tips：培養細胞データベース ExPASy なら STR からオミックスまで情報豊富

スイスの研究機関が取りまとめている培養細胞の世界的登録データベース ExPASy: Cellosaurus (<https://web.expasy.org/cellosaurus/>) には 2018 年 5 月現在で 107576 細胞株のデータが集積されており、ゲノム・プロテオーム解析情報などを含む統合的なデータベースが構築されています（JCRB 細胞バンクの細胞情報を含む）。その中には細胞認証に必要な STR 解析情報の提供も行なわれています。自分が使用しようとする細胞の情報を収集するためには非常に便利なデータベースですので、是非とも研究にご活用ください。

製品名	サイズ	価格 (¥)
ヒト細胞認証試験 (STR-PCR) 受託サービス	1 検体	45,000

※プロメガクラブ会員（無償）なら 1 検体でも 10% OFF

本サービスの詳細、お問合せ、見積依頼は以下をご覧ください。

[www.promega.co.jp/hca/](http://www.promega.co.jp/hca/)

日本語 Web site : [www.promega.jp](http://www.promega.jp)

テクニカルサービス・Tel. 03-3669-7980 / Fax. 03-3669-7982 • E-Mail : [prometec@jp.promega.com](mailto:prometec@jp.promega.com)

## プロメガ株式会社

本社 〒103-0011  
東京都中央区日本橋大伝馬町14-15 マツモトビル  
Tel. 03-3669-7981 / Fax. 03-3669-7982

大阪事務所 〒532-0011  
大阪市淀川区西中島6-8-8 花原第8ビル704号室  
Tel. 06-6390-7051 / Fax. 06-6390-7052

※製品の仕様、価格については2018年10月現在のものであり予告なしに変更することがあります。

販売店