

# NEXT

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

No. **64** 2022 / December  
Science, Products and Information  
サーモフィッシャーサイエンティフィック  
ライフサイエンス情報誌

NEXT Interview

## 細胞老化のメカニズムから 発がんや多彩な生命現象の理解へ

老化細胞が見せる多面性とは？

原 英二 氏(大阪大学微生物病研究所遺伝子生物学分野 教授)



- P. 09 CellInsight CX7 LZR Pro HCS Platform
- P. 10 Absolute Q 1-Step RT-dPCR Master Mix (4X)  
Absolute Q Wastewater COVID-19 detection kit
- P. 11 TaqPath ProAmp Master Mix
- P. 12 SeqStudio Flex ジェネティックアナライザ
- P. 14 E-Gel Power Snap Plus 電気泳動システム

## 細胞老化のメカニズムから 発がんや多彩な生命現象の理解へ 老化細胞が見せる多面性とは？

原 英一 氏

大阪大学微生物病研究所遺伝子生物学分野 教授



### 「細胞老化」とは？

「ヒトは1個の受精卵から細胞分裂を繰り返して成長し、大人になると細胞分裂はほぼ停止しますが、多くの細胞は必要な増殖刺激に応じて再び分裂する能力を保持しています。しかし中にはどんな刺激にも反応できず、不可逆的に分裂能力を失ってしまった『老化細胞』が存在します。一方、正常細胞をin vitroで培養すれば、ヘイフリックの限界説のとおり、分裂回数には限界があり、それを超えると細胞は老化して分裂を停止しますが、細胞提供者が若いほどその分裂回数は多くなります。がん細胞はこの限界を超えて分裂を続けるので、細胞老化はがんの抑制に働くと考えられてきました」と原氏は語り始めます。「さらに細胞老化は分裂回数や年齢だけでなく、ストレスによっても誘導されます。DNAを傷つける紫外線や放射線、ROS、抗がん剤等も生体にとって細胞老化を誘導するストレスとなります。特に抗がん剤投与で多くのがん細胞がアポトーシスで死滅しますが、一部が老化細

胞として生き残りつてSASP (Senescence-associated secretory phenotype)により炎症性サイトカインやケモカインを分泌し、周囲の細胞に慢性炎症を誘導することが問題となっています。これはがんの再発や増悪につながる可能性があるからです。このように老化細胞は短期的にはがん抑制に働くようですが、長期的には発がん促進という二面性を持つようです。ただしすべての老化細胞がSASP因子を分泌するわけではなく、またSASPにも免疫誘導など生体防御に関与する良い面があります」と原氏は続けます。

### 細胞老化を誘導する ストレスとは？

「細胞老化がどのように誘導されるかを明らかにして制御できれば、過度なSASPを抑制できるかもしれません。そのために私たちは生体内で細胞老化誘導因子であるp16やp21の発現に応じてルシフェラーゼで発光するように遺

伝子改変したマウスを作製しました。これらのマウスを使った実験から高脂肪食で太らせると肝臓に細胞老化反応が起きるを見つけました。調べてみると肥満により腸内細菌が変化し、通常は体内で作られないデオキシコール酸を作る腸内細菌が増え、これが肝臓に運ばれて肝臓の非実質細胞である肝星細胞に細胞老化を誘導していました。そこで事前にこのマウスの肝実質細胞のras遺伝子に変異を導入する薬剤で処理した後に、高脂肪食で肥満させました。すると肝星細胞からSASP因子が分泌されて肝実質細胞ががん化したのです。マウスの実験ですが、高脂肪食で肥満すると腸内細胞が変化してがん化しやすくなるのかもしれない」と原氏は語ります。

### SASPは どう制御されているのか？

「老化細胞が分泌する多くの因子は、ウイルス感染で自然免疫応答が発動する時にも分

日本人の死因トップのがんの発症率は年齢とともに高くなる傾向があり、平均寿命の延長に伴ってがんの発症率が高くなることは当然のように思われています。

しかし、なぜ老化とともに発がんリスクが高くなるのでしょうか？

大阪大学教授の原英二氏は、この謎を解く鍵の一つが『細胞老化 (cell senescence)』という現象にあると考え、細胞老化の分子機構の解明とその制御を目指して研究を進めています。

「細胞老化への多方面からの研究を通してがんと老化の効果的な予防法や治療法の開発に貢献したい」と話す原氏に個々の研究の概要と今後の進展を伺いました。

泌されます。この時、細胞の細胞質には正常細胞では見られない(ウイルス由来の)DNAが現れ、それをいち早く見つけ出して排除するために自然免疫応答が働きます。調べてみると細胞老化が起きると核膜が脆弱になり、ゲノムDNAの一部がちぎれて細胞質に出て暴露されることがわかりました。最近ではミトコンドリアDNAも細胞老化で細胞質に漏れ出てくるのが明らかになってきております。細胞老化を起こすと細胞質に細胞自身のDNAが出てきて、それが自然免疫応答のDNAセンサーに引っかかり、自然免疫応答を活性化するのもかもしれません。これがSASPに至る重要な経路として注目されています」(原氏)。

## 老化細胞を除去できるのか？

「体内の老化細胞を除去する薬剤として、セノリティックドラッグ (senolytic drug) が注目されています。私たちが10年以上前から製薬企業との共同研究でこの薬剤の開発を手掛けています。老化細胞の生存に関わるシグナルは未解明な部分も多いので、特定のパスウェイに特化せず、アンバイアスなハイスループットスクリーニングを行い、これまでに15のヒット化合物を見つけました。その大半は抗がん剤のBET阻害剤であり、中でもARV825というPROTAC化合物に高い効果を見出しました。細胞に投与すると転写因子のBRD4を長期間、効率よくノックダウンでき、しかも10nMという低濃度で老化細胞だけを特異的に除去できました。そこでヌードマウスにヒトのがん細胞を打ち込んだ後に、DNAに傷をつけて細胞老化を誘導する抗がん剤を投与する実験で効果を試してみました。抗がん剤投与後に生き残った老化細胞はSASP因子を分泌しますが、ARV825を続けて投与すると老化細胞の数が減少し、抗がん剤の単独投与よりも腫瘍の増殖を抑えました。さらに前述の肥満に伴う肝がん誘発マウスでも、ARV825を投与することで細胞老化を起こす肝星細胞が減少し、肝がんの発生率が減少しました。特に大きながんの発生が減り、セノリティックド

ラッグががん治療の補助薬として使える可能性が示されました」(原氏)。

## 老化細胞は敵か、味方か？

「アンチエイジングに対する研究は過熱気味ですが、必ずしもセノリティックドラッグを飲み続けると寿命が延びるというわけではありません。個体老化は複雑な現象であり、細胞老化だけがその原因ではなく、しかも老化細胞には悪い細胞と良い細胞があると考えられるからです。論文でも、p16を高発現する細胞をマウスから除くと肝機能が低下し、全身に激しい損傷がみられるという報告もあります。老化細胞の良い面としてがん抑制だけでなく、組織や臓器の構造維持などにも役立っているのかもしれない。このためセノリティックドラッグの長期的な服用に関しては慎重になるべきです」と原氏は語ります。「それよりも私たちは体内で細胞老化を誘導する原因の特定を目指しています。例えば健康人と大腸がん患者の腸内細菌叢の比較から『酪酸』を作る菌が細胞老化を誘導している可能性を突き止めました。この菌をうまく制御して細胞老化が起こる頻度を減らすことが出来れば、大腸がんや老化の予防に役立つかもしれません。また最近では、COVID-19の後遺症に肺の老化細胞が関与する可能性を動物実験等で示しました。後遺症の軽減に貢献できないか検証を進めていきたい」と原氏は今後の展望を語ります。

## 細胞老化研究に魅せられて

「高校生の頃に、『生命現象は遺伝子でプログラムされたマシナリーにより制御され、老化でさえ例外ではない』と書かれた本に偶然出会いました。さらに別の本で『ヘイフリック限界』を知り、将来は老化とがん化の謎を解く鍵となる細胞老化の研究をしようと思いました。そして大学院の頃から老化遺伝子の同定に取り組み、やっとロンドンでのポストドク時代にその中の一つががん抑制遺伝子p16である

ことを突き止めました」と原氏は振り返ります。「私が研究を始めた40年ほど前には細胞老化という現象は謎が多く、研究者も少なく、論文を書いても一流の学術誌からは相手にされずにいました。しかし今や、細胞老化に対する科学的知見の蓄積や解析技術やツールが豊富になり、研究がとても進めやすくなっています。また細胞老化から多様な疾患や生体機能への関りが次々と明らかとなり、認知度も上がっています。細胞老化研究は、生命現象の解明というサイエンスの面白さだけでなく、幅広い疾患と関わり、病態理解や治療法の開発という実用面への貢献も期待できる分野です。多くの研究者の参加を歓迎します」と原氏は呼びかけます。

## 若い方へのメッセージ

「チャレンジを続けてほしいと思います。近年、アカデミアよりも民間企業への就職希望者が増えています。アカデミアで研究を続けられれば民間企業よりも論文や特許などを実績として残しやすいという利点があります。国際学会に積極的に参加したり、海外で研究生生活をおくられることもお勧めします。人生は一度限りなので、ぜひ攻めの人生を歩んで欲しいですね」と原氏は若い方にエールを送ります。



原 英二(はら えいじ) 1993年、東京理科大学大学院博士課程修了。University of California, Berkeley、大阪大学 医学部を経て、98年に(英国)Paterson Institute for Cancer Research, Christie Hospital・グループリーダー。2003年に徳島大学ゲノム機能研究センター・教授、08年に公益財団法人がん研究会がん研究所・部長。15年より大阪大学微生物病研究所・教授(大学院医学系研究科/生命機能研究科、免疫学フロンティア研究センター、感染症総合教育研究拠点を兼任)。



最先端のその先へ

# 再生医療クリエイティブ・エクスペリエンス・ラボ 「T-CEL」開設

再生・細胞医療・遺伝子治療といった新しい治療法の研究開発は近年目覚ましい進歩を続け、病気で苦しむ世界中の患者さんがその実現に大きな期待を寄せています。一方で従来の医薬品とは異なる特性をもつこともあり、安全性や安定供給の観点から、研究段階から将来の製造を見据えた開発を推進することがますます重要になっています。サーモフィッシャーサイエンティフィックグループは、新しい治療法の実現のために日々尽力されている製薬企業や研究者の方々が、当社の革新的な製品や技術を実際に触れて体験できる場として、再生医療クリエイティブ・エクスペリエンス・ラボ(Thermo Fisher Scientific Creative Experience Lab for regenerative medicine: T-CEL)をグループ本社内(東京都港区)に2022年10月に新設しました。

T-CELでは、研究開発から製造までのプロセスに役立つ当社の装置類を取りそろえたP2レベルの実験室を5部屋設置しているほか、併設のラウンジエリアでは再生医療等製品の製造に欠かせない様々な種類のシングルユース製品の展示や専用アプリを利用したラボデザインツール、GMP受託製造サービスを紹介しています。サーモフィッシャーサイエンティフィックの製品を体験できるだけでなく、豊富な知見をもつ当社のエキスパートと相談できるので、ラボの立ち上げから商業生産まで総合的に支援させていただくこともできます。また、製品技術やアプリケーションに関するセミナー、ハンズオントレーニングを順次開催予定ですので、最新技術や市場のトレンドの理解を深め、実験や製造に関する技術を早期に習得できます。ぜひご利用ください。

T-CELの見学、セミナー・ハンズオントレーニングの予約については、当社ホームページからお申し込みください。  
[thermofisher.com/jp-tcel](https://thermofisher.com/jp-tcel)



## T-CELに設置された5つのラボエリア

細胞治療や遺伝子治療製品の研究開発や製造プロセスに必要な機器をワークフロー別に見学できます。隣のラボデザインエリアでは、専用のアプリケーション上の仮想空間でラボを設計できます。





## [ Cell Therapy Lab ]

細胞治療製品の開発、製造のワークフローに使用される製品として、安全キャビネットやCO<sub>2</sub>インキュベーターなど、クリーンルーム対応の細胞培養設備に加え、閉鎖系および自動化に対応した細胞製造モジュール等をご覧ください。

## [ Gene Therapy Lab (upstream) ]

ウイルスベクターの開発、製造のワークフローの上流工程における細胞培養で使用される製品としてシングルユースバイオリアクターやミキサー等をご覧ください。

## [ Gene Therapy Lab (downstream) ]

ウイルスベクターの開発、製造のワークフロー下流工程のウイルス精製で使用される製品等をご覧ください。

## [ Gene Therapy Lab (plasmid DNA) ]

ウイルスベクターやmRNA合成の原材料となるプラスミドDNAの製造工程に使用される微生物培養関連製品等をご覧ください。

## [ Quality Control Lab ]

細胞治療および遺伝子治療の開発、製造における特性解析および安全性試験に用いられる製品等をご覧ください。



例えばCell Therapy Labでは、CAR-T細胞療法の研究開発や製造プラットフォームとして使用できる細胞分離システム、自動細胞処理システム、CAR遺伝子の導入装置等を設置しています。個々の性能確認だけでなく、製造開発ワークフローにおける統合システムとして紹介しています。

### Gibco™ CTS™ DynaCollect™ Magnetic Separation System

磁気ビーズ (DynaBeads) を用いてT細胞を単離し、細胞活性化後のビーズ除去を自動化できるシステムです。閉鎖系なので、CAR-T細胞などの製造プロセスに推奨されます。



### Gibco™ CTS™ Rotea™ Counterflow Centrifugation System

細胞治療製品の開発および製造システムに柔軟に対応する自動化細胞処理システムです。実績あるカウンターフロー・遠心分離法により、CAR-T細胞療法や幹細胞療法、PBMC分離などの幅広い細胞処理アプリケーションに対応します。



### Gibco™ CTS™ Xenon™ Electroporation System

細胞治療法開発や製造のための閉鎖系大容量エレクトロポレーションシステムです。CAR遺伝子の導入などにおいて、細胞の生存率や回収率にほとんど影響せず、迅速で効率的なトランスフェクションを実現します。



CTS製品は、研究用または細胞、遺伝子あるいは組織を使用した製品の製造に使用できます。  
注：診断目的の使用、ヒトおよび動物への直接的な使用はできません。



細胞培養の歴史とともに60年!

# Celebrating 60 Years of Innovative Gibco Products

Gibco 60周年のインタビュー動画や細胞培養に役立つハンドブックはこちらから → [thermofisher.com/jp-gibco-customervideo](https://thermofisher.com/jp-gibco-customervideo)

Gibco 製品の最新情報ははこちらから → [thermofisher.com/gibco](https://thermofisher.com/gibco)

## Special Interview No.5

### T細胞療法開発のためのトランスレーショナル研究を推進

安藤美樹 氏

(順天堂大学大学院医学研究科 血液内科学 主任教授)

#### 研究人生におけるハイライトを3つ教えてください。

1つ目は私が医師になって初めて行った研究です。学位論文のテーマとして、難治性の鼻のNK細胞リンパ腫に効く薬の探索研究で幸運にもキードラッグとなる薬を発見し、世界の標準治療が変わることになるという大きな成果に結びつきました。これにより研究の重要性とやりがいを実感しました。現在でも私の研究の原点は、最初のこの研究にあります。2つ目は、米国に留学した時の研究です。私は、ベイラー医科大学のマルコム・K・ブレンナー先生のもとでポストドクとして、自殺遺伝子の細胞死誘導システムの解明に取り組みました。帰国後、この研究は東京大学医科学研究所の中内啓光研究室において、iPS細胞を使った細胞治療で自殺遺伝子を導入するという応用研究につながりました。当時iPS細胞から臨床用の細胞を作ることは危険性が問題視されていましたが、この研究も大変注目され、今の研究にもつながっています。3つ目は、私が現在主に力を入れて行っている研究です。iPS技術とゲノム編集技術を用いて、より強いT細胞療法を行う研究を進めています。

CAR-T療法とCTL療法において、最先端の技術を使っていかに強力にがんを攻撃するか、もしくはその力をいかに長続きできるようにするか、このような研究を重点的に取り組んでいます。

#### 現在細胞を使った研究で最も力を入れていることを教えてください。

私たちは血液内科医なので、実際に患者さんに届けられるトランスレーショナルリサーチに力を入れています。iPS技術とゲノム編集技術を使って強力なCAR-T療法やCTL療法、こういった最新のT細胞療法の開発に力を入れています。

#### Gibco製品で印象に残っていることや思いつきを教えてください。

GibcoのCTSシリーズが私たちの研究にとってとても大事だと思っています。臨床応用を想定しているので、Gibco™ CTS™ Essential 8™ 培地やGibco™ CTS™ Vitronectin N、Gibco™ CTS™ AIM-V™ 培地など、iPS細胞やT細胞培養で臨床応用ができる製品を特に大事に使っています。また遺伝子パネルのIon Torrent™

Oncomineパネルも臨床や研究に役立っています。

#### 細胞研究における今後10年の展望を聞かせてください。

10年の展望としては、高齢化社会の到来でがんや血液腫瘍の患者さんがとても増えると思っています。私たちはがんの免疫治療に変化力を入れて進めており、CAR-T療法やCTL療法の開発研究や、それらを臨床につなげる研究にも力を入れています。これからもT細胞研究を着実に続けていきたいと思っています。

#### 最後に一言お願いします。

私たちは本気で臨床応用を目指しているので、GibcoのCTS製品をととても頼りにしています。サーモフィッシュャーサイエンティフィックのレギュレーション担当者との相談も継続的に行っています。ここ数年の新型コロナ感染流行下では、製品の在庫の確保が難しかったと思いますが、引き続き私たちの研究が滞りなく進むようにサポートをお願いします。



## 細胞培養の技術革新における60年の歴史

1962年、レナード・ハイブリックが、正常なヒト細胞の培養複製能力には限りがあることを発見。その後、研究用の動物血清を供給するためにGibco ブランドが設立しました。

無血清の合成培地の開発が急速に進み、培養容器はガラス製からポリスチレン製に替わり、マウス初期胚から胚性幹細胞を誘導する方法が発見されました。

ミナ・ビッセルが3次元細胞培養技術を提案し、がん研究に貢献。ジョルジュ・コーラーとセザール・ミルスタインはモノクローナル抗体の作製原理の発見により、ノーベル賞を受賞しました。

1962 - 1972年



1972 - 1982年



1982 - 1992年



1962年、Gibco™ ブランドは米国ニューヨーク州グランドアイランドのファーガソン夫妻の農場から誕生しました。培地や血清などの細胞培養関連製品のゴールドスタンダードとして、世界中の研究者に愛されてきたGibco 製品は、今では世界約160カ国のライフサイエンス研究者の方々に広くご利用いただき、最新の再生医学研究や遺伝子治療などの研究開発に役立つ製品も次々と開発・提供しています。この一年、Gibco設立60周年を記念して、サーモフィッシャーサイエンティフィックはさまざまなイベントを開催しました。

## Special Interview No.6

### 多臓器オルガノイド(肝臓・胆管・膵臓)作製から未来の医療へ

武部貴則 氏

(東京医科歯科大学統合研究機構先端医工学創成研究部門 教授/シンシナティ小児病院オルガノイドセンター 副センター長)



#### ■ 研究人生におけるハイライトを3つ教えてください。

1つ目は、医学部卒業を間近に控えた2011年頃、電車の中で副学長の先生から研究を続けることを勧められたことです。外科医を目指していたので一旦はお断わりしましたが、対話を重ね、しばらく研究することにしました。振り返ると研究者への大きな転換点でした。2つ目は、中高時代の吹奏楽部の活動です。100人を超えるメンバーとレベルの高い音楽を作ろうと6年間励み、その経験が今も生きています。3つ目は、アメリカに渡ったこと。2016年から本格的にシンシナティ小児病院で研究室を主宰していますが、研究室メンバーだけでなく、領域外の研究者や事務スタッフとのコミュニケーションやコラボレーションがとても風通し良く、恵まれた環境から得られるインスピレーションが研究室の運営にとっても役立っています。

#### ■ 現在細胞を使った研究で最も力を入れていることを教えてください。

ヒトから樹立したiPS/ES細胞から立体的なミニチュア肝臓として、血管や間質組織を含

むオルガノイドを作製して報告しました。ただし体内で肝臓は単独では機能せず、隣の胆管につながり、それらがさらに十二指腸につながって排泄したり、血液を介して免疫細胞が流入して炎症や何らかの処理が行われたり、内分泌ホルモンが肝臓の代謝機能を調節しています。このような多臓器との連結や少し離れた臓器との相互作用を加味した肝臓の多臓器モデルシステムの作製に取り組んでいます。

#### ■ Gibco製品で印象に残っていることや思い出を教えてください。

iPS/ES細胞から立体的なオルガノイドの作製には1,2か月から半年ほどかかり、その成長過程では時期に応じて必要な栄養や刺激成分が異なります。それらをカスタマイズして与える必要がありますが、Gibco™ B-27™やN2といったサプリメントは幼若な細胞の成長を支え、発達が盛んな時期には欠かせませんね。

#### ■ 細胞研究における今後10年の展望を聞かせてください。

多臓器のオルガノイドシステムを超え、新たなフェーズに進んでいそうです。オルガノイド研

究や生命科学の次なるステップは個々人の反応の理解です。今後、メタバースを始めとするデジタル技術とのハイブリッド領域が大きく広がれば、将来的に世界人口が100億に達しても一部のヒトの多臓器オルガノイドを人間の成長や病気の発症と連関させて解析し、AIやデジタル技術で外挿させることで多くの方々の生命活動の変化を予測できると考えています。私たちのグループは、ヒューマンメタバース的な時代における病気への介入法や予防法を議論するための足がかりをここ10年で作る予定です。

#### ■ 最後に一言お願いします。

血清を始め、細胞培養の長い歴史をもつGibco製品が、今後も細胞研究の価値を作り出すきっかけを提供することを期待します。世界中の研究者が今も使い続ける血清には、細胞を元気に育てる重要な役割やノウハウが詰まっているはず。細胞研究は再生医療や薬剤開発のみならず、将来的には食卓に並ぶ肉などの食べ物にも活用されるでしょう。巨大なスケールで細胞や組織やオルガノイドを作製する時代でも変わらずに研究者をサポートしていただければ私たち研究者も心強いです。

ステファン・ヘルが超解像蛍光顕微鏡技術を開発し、初の人工動物クローン「ドリー・ザ・シープ」が誕生しました。

1992 - 2002年



近年の細胞培養において最大のブレイクスルーとなる、京都大学の山中伸弥氏による人工多能性幹細胞の発見。

2002 - 2012年



iPS細胞研究の大きな進歩があり、最初のヒト臨床試験が実施されました。また広範なCOVID-19のパンデミックに対するmRNAなどのワクチン開発のために研究者が結集しました。

2012 - 2022年





## 【セミナー報告】

# 細胞とともに描く未来～細胞培養は世界をどう変えるか～

Gibcoブランド60周年を祝して、一般社団法人LINK-Jとサーモフィッシャーサイエンティフィックのタイアップ企画で細胞培養の基礎から最新のトピックスを紹介するセミナーを開催しました。会場とオンライン参加というハイブリッド方式で、多くの方にご視聴いただきました。ご講演いただいた長船健二氏のご発表を一部紹介いたします。

(2022年9月開催)



## iPS細胞を用いた腎、膵、肝疾患に対する再生医療と新規治療薬の開発



長船健二氏

京都大学iPS細胞研究所(CiRA)教授

慢性腎臓病(CKD)、糖尿病、肝硬変などの難治性の腎臓、膵臓、肝臓の疾患は、患者数が多く、根治的な治療法は移植のみでありながら深刻なドナー臓器不足の問題を有するという、多くの共通点があります。私たちの研究グループは、この問題を克服するためにヒトiPS細胞を用いて腎臓、膵臓、肝臓を再生して細胞療法に使用できる細胞やオルガノイド、さらには移植用の臓器作製や新しい治療薬の研究開発に取り組んでいます。細胞療法や再生臓器移植などの再生医療には患者さん自身のiPS細胞を使うことが最終目標ですが、現時点では最適な細胞株選別のために多大な時間やコストがかかるため、CiRAで整備したHLAホモiPS細胞ストックや開発中の低抗原性iPS細胞の利用を想定しています。

### 腎臓再生へ、

#### iPS細胞を用いた腎疾患に対する治療法開発の試み

iPS細胞から3次元の腎臓を作製して最終的には34万人の透析患者さんに移植することをゴールに設定しています。しかし、ヒトサイズの臓器作製は難しく、並行して細胞療法の開発を進めることでCKDの進行を抑え、透析が必要になるまでの時間を延長する研究を進めています。すでに、ヒトiPS細胞から糸球体や尿細管などのネフロン構成細胞を派生する胎生期の前駆細胞であるネフロン前駆細胞、さらに集合管と下部尿路を派生する胎生前駆組織である尿管芽組織の高効率分化導法を開発しました。現在、CKDに対するヒトiPS細胞由来ネフロン前駆細胞を用いた細胞療法の臨床試験開始に向けて準備を進めています。また、最終ゴールの腎臓再生に向けて、ヒトiPS細胞由来のネフロン前駆細胞と尿管芽細胞を組み合わせる糸球体、尿細管、集合管が連結した腎組織を作製することに成功し、異種動物(ブタ)の体内環境を用いてiPS細胞から腎臓の再構築を試みています。疾患モデルの開発では、難治遺伝性腎疾患である常染色体優性(顕性)多発性嚢胞腎(ADPKD)の疾患特異的iPS細胞の腎分化系を用いた創薬用の腎嚢胞モデルを構築し、網羅的スクリーニングによって治療薬候補化合物を探索中です。

### 膵臓再生へ、

#### iPS細胞を用いた糖尿病に対する治療法開発の試み

1型糖尿病には膵臓移植、2型糖尿病には治療薬探索を中心に研究を進めています。これまでにヒトiPS細胞から胎生期の膵前駆細胞を経由してβ細胞を含む膵島様組織の分化誘導法を開発しました。今後、関連企業と共同で1型糖尿病に対する細胞療法

の臨床試験開始を目指します。加えて、当研究室ではさらに強力に血糖値をコントロール可能な次世代型膵島による細胞療法開発に向けて研究を進めています。また、膵前駆細胞の段階で拡大培養する技術開発に取り組み、低分子化合物のAT7867がiPS細胞由来の膵前駆細胞の増殖を促進することを見出しました。しかし、既報の機能とは異なるため、細胞内シグナルの解析を進めて増殖の作用機序を明らかにしつつ、増殖機能を高める新たな化合物の探索を進める予定です。また、1型糖尿病に対する膵臓移植という最終ゴールに向けて、異種動物(ブタ)の体内環境を用いたiPS細胞からの膵臓再構築を共同研究者と進めています。さらに、2型糖尿病の創薬に使用可能なスクリーニング系として、これまで困難であったヒトiPS細胞由来膵島組織の3次元構造を維持したまま、増殖を指標とするスクリーニング系の構築に成功しました。この系から既存候補薬よりも高い効果が望める化合物を数種類見つけており、今後さらに検証を進める予定です。

### 肝臓再生へ、

#### iPS細胞を用いた肝疾患に対する治療法開発の試み

肝硬変に対する細胞療法および臓器移植、さらに非アルコール性脂肪肝炎(NASH)に対する治療薬探索を進めています。細胞移植では門脈から細胞を導入するので、体が小さなマウスは扱いにくく、新たに独自の薬剤処理によるカニクイザル肝線維症(肝硬変)モデルを樹立し、肝細胞移植と免疫抑制法を開発しました。そして、ヒトiPS細胞由来の肝細胞を肝実質に生着させることに成功しています。またNASHに対する創薬研究では、iPS細胞から遺伝性のNASHに対する疾患モデルを構築し、線維化を抑制する薬剤の探索を進めています。

### まとめと今後の方針について

これまでに①iPS細胞から腎、膵、肝細胞や組織(オルガノイド)の分化誘導法を開発し、②iPS細胞を用いてCKD、1型糖尿病、肝硬変に対する細胞療法開発の可能性や、③iPS細胞を用いてADPKD、2型糖尿病、NASHに対する創薬スクリーニング系を構築し、治療法開発の素地を固めてきました。今後は、①CKD、1型糖尿病、肝硬変に対する細胞療法、②移植用腎臓、膵臓、肝臓の作製、③ADPKD、2型糖尿病、NASHに対する創薬を精力的に進めていきたいと思っています。



# CellInsight CX7 LZR Pro HCS Platform

## 優れたハイコンテンツスクリーニング性能で迅速な解析を実現

NEW!

Thermo Scientific™ CellInsight™ CX7 LZR Pro High-Content Screening (HCS) Platformは、レーザーベースのオートフォーカスと新しく強力なsCMOSカメラにより、高速画像取得、パワフルな画像処理アルゴリズム、リアルタイムでのマルチプレックスサイトメトリーを可能にします。この強力なテクノロジーが、基礎研究におけるさまざまな発見から創薬における新たな化合物の発見への橋渡しをサポートします。



- 非常に高いQE(量子効率)の次世代BSI(裏面照射型) sCMOSカメラ
- 画像品質およびスクリーニング性能をさらに向上させるOlympus™ X Line 対物レンズ(オプション)
- プリインストールされた解析アプリケーションのテンプレートによるアッセイの簡略化を実現
- 3D イメージ構築および3D 解析にも対応

### ▶ 高画質のCell Paintingアッセイを実現

CellInsight CX7 LZR Pro Platformは、同時開発されたInvitrogen™ Image-IT™ Cell Painting Kitと共に使うことで、マルチパラメーター標識、イメージング、解析といった一連の作業が効率化できます。主要な細胞オルガネラを5マルチカラー標識でき(図1)、各染色条件はバリデート済みのため、オルガネラの変化を指標としたイメージ解析が簡便に行えます(図2)。Image-IT Cell Painting Kitは、下記6種類の標識試薬を含むキットです。

#### [ Image-IT Cell Painting Kit 構成 ]

- Thermo Scientific™ Hoechst 33342 Solution
- Invitrogen™ SYTO™ 14 Green Fluorescent Nucleic Acid Stain
- Invitrogen™ Alexa Fluor™ 568 Phalloidin
- Invitrogen™ AlexaFluor™ 488 Concanavalin A
- Invitrogen™ Alexa Fluor™ 555 Wheat Germ Agglutinin
- Invitrogen™ MitoTracker™ Deep Red FM Dye

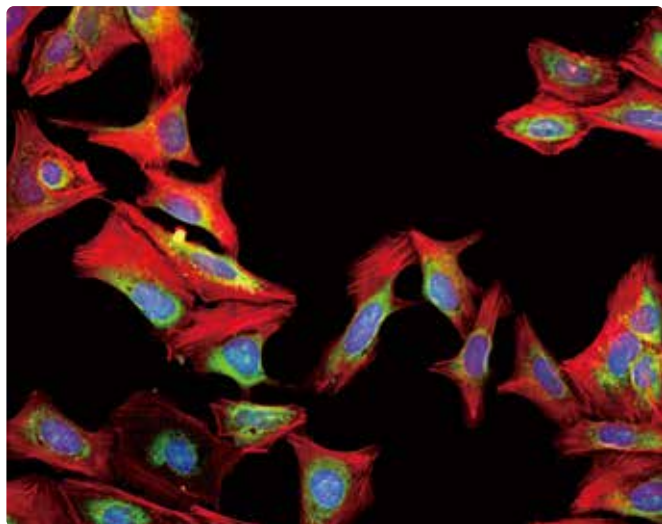


図1 U2OS細胞のマルチカラー染色

U2OS細胞をImage-IT Cell Painting Kitで蛍光標識後、CellInsight CX7 LZR Pro HCS Platformで画像を取得。

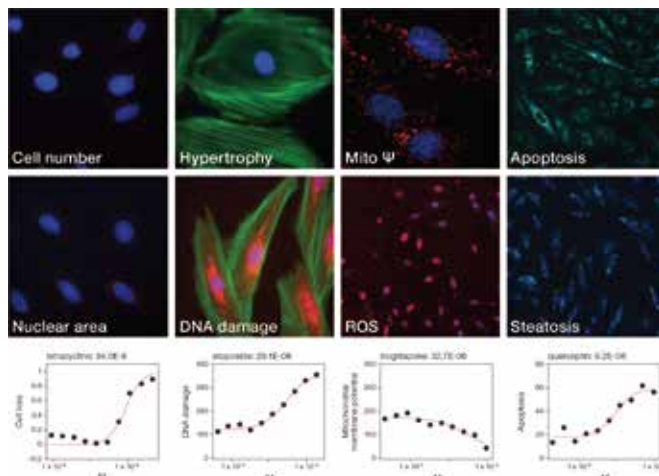


図2 心筋細胞の作用機序の評価

H9c2細胞を96ウェルプレートに1ウェルあたり2,000個播種しました。播種2時間後に、細胞を左からtetracycline、etoposide、troglitazone、quercetinで4、24、または96時間処理した後、免疫蛍光標識し、Cellomics Compartmental Analysis/バイオアプリケーションを用いて解析しました。

製品名	サイズ	製品番号	価格
CellInsight CX7 LZR Pro HCS Platform	1年保証	1式	HCSDCX7LZRPRO ¥55,000,000
	2年保証 2年目点検付	1式	HCSDCX7LZRPROS2 ¥59,180,000
Image-IT Cell Painting Kit	1キット	164000	¥230,000

# Absolute Q 1-Step RT-dPCR Master Mix (4X) Absolute Q Wastewater COVID-19 detection kit

## 専用試薬とデジタルPCRシステムでウイルスを高感度に検出

### POINT

マイクロ流路技術を採用したApplied Biosystems™ QuantStudio™ Absolute Q™ デジタルPCR システムを専用試薬とともに使用することで微量なウイルスを高感度に検出できます。



### ▶ RNAターゲットを迅速&高感度な絶対定量に適したマスターミックス

Applied Biosystems™ Absolute Q™ 1-Step RT-dPCR Master Mix (4X)は、QuantStudio Absolute Q デジタルPCR システム用に最適化された試薬です。ターゲットRNAを正確かつ再現性高く定量し、4倍濃縮試薬なので量が多いサンプルにも対応します。

- **シングルおよびマルチプレックス反応で高い再現性**：シングルプレックスとマルチプレックスのデジタルPCRの両方で一貫性の高い結果を提供 (図1)
- **阻害剤耐性**：ヘマチン、フミン酸、タンニン酸、塩化鉄などの多くのPCR 阻害剤の存在下でも正確に定量 (図2)

### ▶ 廃水中のSARS-CoV-2を高感度に検出

Applied Biosystems™ Absolute Q™ SARS-CoV-2 Wastewater Surveillance Kitは、廃水サンプルから SARS-CoV-2 ターゲット精製RNAの絶対定量するために設計されています。本キットは上記マスターミックスを採用し、阻害物質存在下でも再現性の高い結果を提供します。

- **シンプル**：本キットは、SARS-CoV-2 N1領域 (FAM™ 色素)、N2領域 (VIC™ 色素)、およびコントロールのPMMoV (ABY™ 色素) 検出用のプローブ&プライマーを含んでいます (図3)。
- **柔軟性**：カスタムでCy5® 色素標識アッセイと組み合わせれば、独自ターゲットとのマルチプレックス解析も可能。

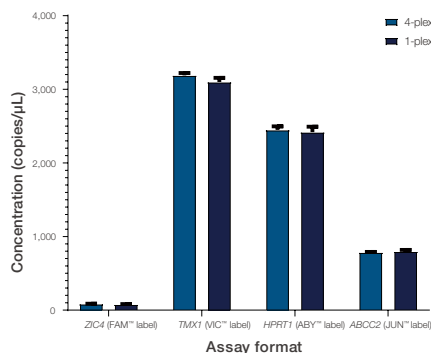


図1 シングルプレックスおよびマルチプレックス デジタルPCR アッセイの結果比較  
シングルおよび4 プレックス反応の測定を比較した結果、ほぼ同じ定量データが得られました。

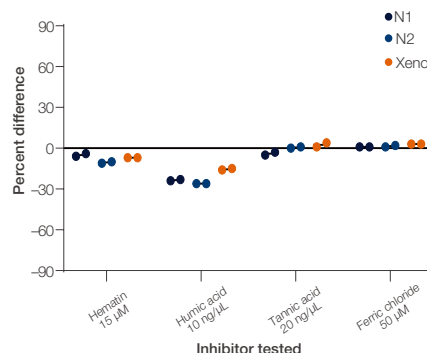


図2 PCR 阻害物質の存在下での測定結果  
各種阻害物質存在下/非存在下での定量結果を比較したところ、阻害物質の有無での測定結果の差異は最大でも30%以内でした。

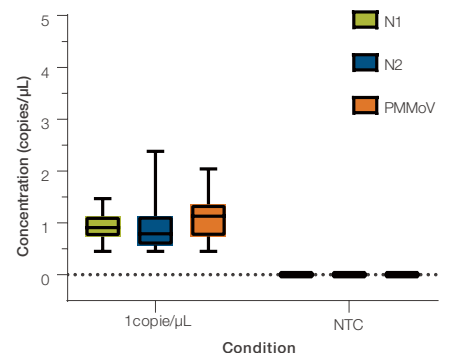


図3 1 コピー/μL低濃度ターゲットの高感度検出  
平均濃度および標準偏差は、N1で0.93 ± 0.29、N2で0.97 ± 0.56、およびPMMoVで1.13 ± 0.49 でした。t検定の結果、すべて統計的に有意でした (p < 0.01)。

製品名	サイズ	製品番号	価格
QuantStudio Absolute Q デジタルPCRシステム デスクトップPC付パッケージ	1 式	QS-ABSQ-D-S1 (1年保証)	¥9,680,000
	1 式	QS-ABSQ-D-S2 (2年保証)	¥10,450,000
Absolute Q 1-step RT-dPCR Master Mix (4X)	200 反応	A55146	¥159,000
Absolute Q dPCR SARS-CoV-2 Wastewater Surveillance Kit	200 反応	A55241	¥332,800



# TaqPath ProAmp Master Mix

## 明確で再現性高いジェノタイピングやCNV解析を実現

### POINT

Applied Biosystems™ TaqPath™ ProAmp™ Master Mixは、PCR阻害物質を含むサンプルから正確な結果が要求されるハイスループットのジェノタイピング解析やコピー数多型 (CNV) 解析用に開発されました。多目的マスターミックス製品シリーズとしてすべての製品はゲノムDNAターゲットから高感度で再現性のある結果が得られるようにデザインされています。

- 優れた阻害物質耐性とデータ品質：阻害物質の存在下でも、ジェノタイピングおよびCNV解析で高い特異性を発揮し、様々なサンプル(スワブ、血液およびカードパンチ)で使用可能
- 幅広いマルチプレックスへの対応：2種類 (ROXあり/なし) の製品ラインアップで、1反応あたり最大4ターゲットを検出可能
- 一貫性に優れた製造：ISO 13485認証施設で製造し、優れた製造一貫性を保証
- 高い安定性：Dual-Lock™ Taq DNAポリメラーゼ採用によるプレートへ分注後室温で72時間安定



### ▶ 高品質なジェノタイピングデータを提供

SNPタイピング (図1) やCNV解析において優れた結果を提供します。

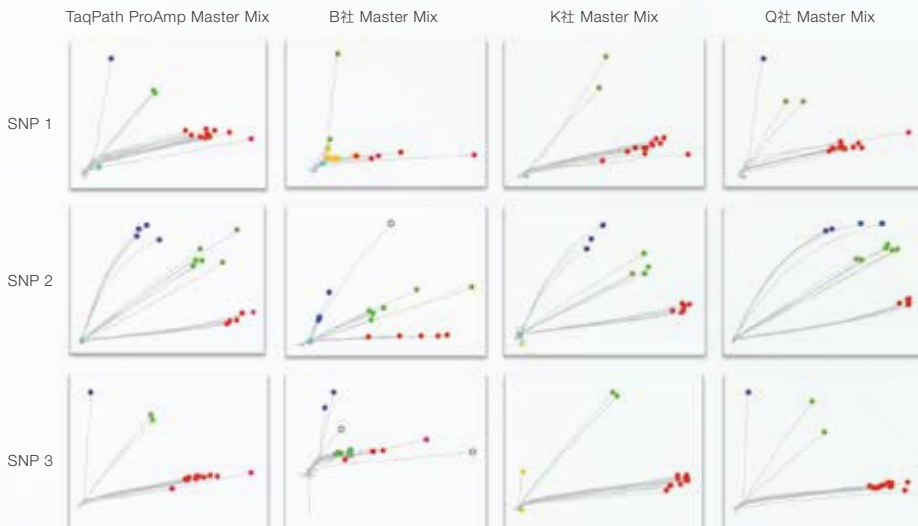


図1 ジェノタイピング結果を他社マスターミックスと比較

血液サンプルからの粗抽出液を20倍に希釈したテンプレートに対し、3種類のTaqMan SNP Genotyping Assay のランの結果を示しています。TaqPath ProAmp Master Mixでは、一貫して精度の高いジェノタイプコールと優れたクラスター分離が見られました (濃青色、緑色および赤色)。水色はNo Template Control、黄色はシグナルが低すぎてジェノタイプコール不可のサンプルをそれぞれ示します。

### ▶ 阻害剤への高い抵抗性

PCR阻害物質に対して高い抵抗性を示します (図2)。



図2 阻害剤耐性を他社マスターミックスと比較

クエン酸ナトリウム (緑色)、EDTA (赤色) またはヘパリン (青色) を含む採血管内に回収した血液サンプルの粗抽出液を実験に使用し、血液サンプルが反応ボリューム中の30%となるように反応溶液を調製し、8 反復のジェノタイピング反応のランを実行しました。図は反応の増幅プロットを示します。TaqPath ProAmp Master Mixは阻害物質の存在下でも、より低いCt 値が得られ、ランの反復間での標準偏差もより小さくなっています。一方、他社製品では各反応のばらつきが大きく、K社マスターミックスではヘパリン含有サンプルの増幅が観察されませんでした。

### ▶ 一貫性の高い結果を提供

異なるロットでも再現性の高い結果を提供します (図3)。

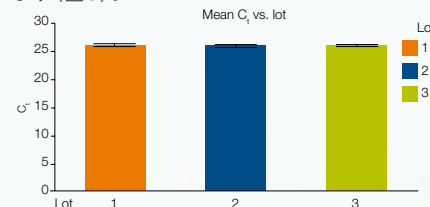


図3 複数ロットでの試験結果のCt値の一貫性

TaqPath ProAmp Master Mix の3 ロットのラン結果におけるCt 値と、標準偏差を示します。異なるロットでもCt値は良好に一致すること確認でき、ロット1、2、3 の標準偏差はそれぞれ、0.199、0.255、0.278でした。

製品名	サイズ	製品番号	価格
TaqPath ProAmp Master Mix	1 x 1 mL (200 反応)	A30865	¥17,700
	1 x 10 mL (2,000 反応)	A30866	¥144,300
	2 x 10 mL (4,000 反応)	A30871	¥275,600
	1 x 50 mL (10,000 反応)	A30867	¥626,200
	2 x 50 mL (20,000 反応)	A30872	¥1,216,000

\*SNPアッセイおよび薬物代謝アッセイは20 μLの反応系、SNP用マスターミックスは10 μLの反応系で計算しています。

芳賀 慧 氏(カルナバイオサイエンス株式会社創薬支援事業本部)

## 高品質なキナーゼタンパク質の製造で創薬研究をサポート SeqStudio 24 Flex ジェネティックアナライザの活用で迅速なクローニングを実現



近年、がんやリウマチの治療薬としてキナーゼ阻害剤が注目されています。がん細胞をより特異的に攻撃するキナーゼ阻害剤による分子標的治療薬の開発が進む一方、ターゲット分子の新たな変異獲得から薬剤耐性が生じるという問題もあります。カルナバイオサイエンス株式会社は、キナーゼ阻害薬等の低分子医薬品にフォーカスし、革新的医薬品の研究開発やその支援事業を展開し、製薬企業や研究機関による創薬や耐性機序の解明をサポートしています。キナーゼタンパク質製品の受託生産に携わる芳賀氏は、「がんではドライバー遺伝子における新たな薬剤耐性変異が日々報告されており、顧客のニーズに合ったタンパク質製品を迅速に提供することが求められます」と話します。新しく導入したキャピラリーシーケンサのApplied Biosystems™ SeqStudio™ Flex シリーズジェネティックアナライザの活用で迅速な遺伝子クローニングが可能になったという芳賀氏に、従来機種との比較を交えて活用方法や利点などを伺いました。

### 同時解析できるサンプル数が増え、 確認時間を短縮

「私の担当は、主にキナーゼ遺伝子発現ベクターのクローニングです。受注先から

依頼されたキナーゼタンパク質を生成するために、顧客ニーズに沿ったコンストラクトを構築し、要望通りの位置にtagが付いているか、狙った部位に変異が入っているかなどをSeqStudio 24 Flex ジェネティックアナライザを使ってシーケンスで確認しています。この時、一番重要になるのは、発現させたキナーゼタンパク質が的確に活性を発揮すること。そのためには目的タンパク質の発現培養や精製条件を検討する時間を十分に確保することが必要です」と芳賀氏。「ですからクローニング工程では、正確さはもちろんスピードが強く求められます。以前導入したSeqStudio ジェネティックアナライザは操作が簡単で消耗品の交換も非常に楽ですが、サンプル処理数が4サンプルなので多サンプル解析には時間がかかってしまいます。新規導入したSeqStudio 24 Flex ジェネティックアナライザは、使いやすさはそのまま24サンプルを同時解析できるため、受注製品の納期短縮や製品開発のさらなるスピードアップにつながります」と芳賀氏は続けます。

### 作業効率を向上させる フレキシブルなプレートセッティング

「以前の職場では、Applied Biosystems™ 3500xL ジェネティックアナライザを使っていましたが、同じ感覚でSeqStudio



Flex ジェネティックアナライザを使用できるので助かっています。さらに解析途中にもサンプルプレートを挿入できるという新たな機能があり、この柔軟性に特に大きなメリットを感じています。当社では、創薬支援事業と並行して創薬研究も行っており、私の他にも研究部門のスタッフがシーケンサを使用します。これまでは使用者間のスケジュール調整が必要でしたが、サンプルプレートの割り込み機能により、他の使用者の作業終了を待たずにプレートを設置してほぼ定時に帰宅できますね」と笑顔を見せつつ、作業効率が向上した実感を語ります。最後に今後について伺いました。「キナーゼ阻害剤に対する薬剤耐性変異は日々更新されています。私たちはそのような情報を素早く捉え、顧客の要望に合った製品を迅速に提供していく予定です。今後もSeqStudio Flex ジェネティックアナライザを有効活用して、高品質の製品を提供していきたい」と芳賀氏は語ります。

## SeqStudio Flex ジェネティックアナライザ

# 最大4プレートをいつでもフレキシブルにランセット

Applied Biosystems™ SeqStudio™ Flex ジェネティックアナライザは、ミドルスループットのサンプル数に対応し、信頼性の高い結果を提供します。使いやすい柔軟性も備えた新しいキャピラリーシーケンサです。

- 消耗品を簡単にセットでき、RFIDタグで管理も簡単
- 最大4プレートを搭載し、ラン中のプレートロードに柔軟に対応
- 装置の起動はボタン1つ、タッチスクリーンで簡単操作



シーケンスランモジュール	キャピラリー長 (cm)	ポリマーの種類	ラン時間 (分)	KB BasecallerCRL (bp)
最短 ShortReadSeq	50	POP-7 Polymer	30	≥ 300 (QV20)
最長 StdSeq	50	POP-7 Polymer	125	≥ 850 (QV20)

製品名	製品番号	価格
SeqStudio 8 Flex ジェネティックアナライザ シーケンシング解析 コンピュータ付システム (2年保証)	SEQ8FLEX150-D-BA01	¥24,000,000
SeqStudio 8 Flex ジェネティックアナライザ シーケンシング&フラグメント解析 コンピュータ付システム (2年保証)	SEQ8FLEX250-D-BA01	¥25,220,000
SeqStudio 24 Flex ジェネティックアナライザ シーケンシング解析 コンピュータ付システム (2年保証)	SEQ24FLEX150-D-BA01	¥29,800,000
SeqStudio 24 Flex ジェネティックアナライザ シーケンシング&フラグメント解析 コンピュータ付システム (2年保証)	SEQ24FLEX250-D-BA01	¥30,750,000



# ジェノタイピングアレイを使用した創薬ステージでの副作用予測

(2022年8月開催)

近年、臨床試験において患者選択に薬理ゲノミクス(Pharmacogenomics: PGx) バイオマーカーを利用する事例が増えてい  
ます。患者を階層化し、薬の効きやすい群や副作用を予測することで臨床試験の成功率や効率を改善すると考えられます。Applied  
Biosystems™ PharmacoScan™ ソリューションは、多民族由来のPGx関連SNPを幅広く網羅し、医薬品の吸収・分布・代謝・排泄  
(ADME)に関連する1,191遺伝子、4,627個マーカーを搭載したマイクロアレイを含むトータルソリューションです。また当社では日本人  
集団に特化したPGxバイオマーカーを含むゲノムワイドな研究をサポートするApplied Biosystems™ Japonica Array® NEO※1も  
提供しています。ここではPharmacoScan ソリューションを活用して受託サービスを展開する株式会社LSIメディエンスの鈴木玄樹氏  
のご講演の一部を紹介します。

※1 ジャポニカアレイは国立大学法人東北大学の登録商標です。

## PharmacoScanによるアジア人集団の薬剤応答遺伝子の多型解析

鈴木玄樹 氏

(株式会社LSIメディエンス 医薬品分析センター)



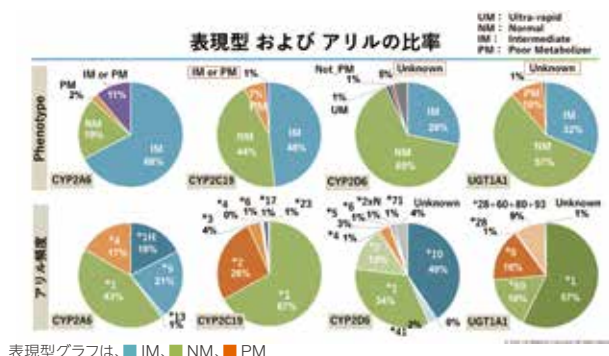
### PharmacoScan ソリューションの検証

国際HapMap Projectを統合した1000 GenomeProjectから  
中国人(CHB)48検体、日本人(JPT)47検体(HAPMAP PT02)  
を入手し、ゲノムDNAを抽出してPharmacoScanソリューション  
で解析しました。4検体の重複測定でcallされた18,000SNPs  
の再現性が99.99%の一致率を示すことや、ランダムにピック  
アップした15 SNPsの測定結果と、1000 Genome Project  
情報とを比較した結果、100%の一致率が示されたことから、そ

の正確性が示されました。また、コピー数多型がある5遺伝子  
(CYP2A6、GSTM1、GSTT1、UGT2B17、CYP2D6)のコピー  
数測定結果も1000 Genome Project情報と高い精度で一致  
し、さらにCYP2D6(rs16947)とそのパラログであるCYP2D7  
(rs79164577)の比較でも1000 Genome Projectのデータと  
100%一致したことから、PharmacoScanソリューションの正確  
性が示されました。

### 解析例1：代表的な4遺伝子における表現型とアレルの比率

今回測定したアジア人(JPT+CHB)集団で、代表的な4遺伝子  
(CYP2A6、CYP2C19、CYP2D6、UGT1A1)の解析例を示  
します(図1)。各遺伝子について、インターメディアイトメタボ  
ライザー(IM)、ノーマルメタボライザー(NM)、プアメタボライ  
ザー(PM)という表現型の比率(上段)とアレル比率(下段)が示されま  
した。



表現型グラフは、■ IM、■ NM、■ PM

図1 アジア人集団における表現型およびアレルの比率

### 解析例2：アルコール代謝酵素の解析例

さらにアジア人集団におけるアセトアルデヒド脱水素酵素  
(ALDH2)の活性に関わるSNP(rs671)を既報のコーカソイド  
(CEU)集団と比較すると、アジア人集団には低活性型の多型が  
存在し、野生型ホモ(酒豪)の比率がコーカソイド集団よりも低いこ  
と、さらにアルコール脱水素酵素(ADH)の多型データと併せるこ  
とで、依存症や健康に対するリスク情報が得られました(図2)。

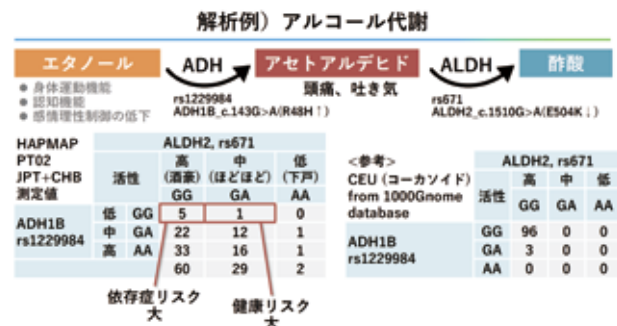


図2 アルコール代謝に関わるSNPの多型解析

### まとめ

PharmacoScanソリューションで網羅的なPGx関連遺伝子のジェノタイピングを高精度かつ正確に行うことで、幅広い創薬ステージに  
おける薬剤応答性研究が効率化できると期待されます。

## E-Gel Power Snap Plus 電気泳動システム

# ハイスループットなアガロース電気泳動を手軽に実現

### POINT

アガロース電気泳動とゲルイメージングを統合させたプラットフォームの Invitrogen™ E-Gel™ Power Snap シリーズに、ハイスループットに対応した新しいモデルが登場しました。Invitrogen™ E-Gel™ Power Snap Plus 電気泳動システムは、48ウェルや96ウェルの Invitrogen™ E-Gel™ プレキャストゲルを使用して、ハイスループット電気泳動が手軽に行えます。培養細胞の品質確認、ゲノム編集後のクローンのスクリーニングやNGSライブラリー調製など、多検体処理が求められる場面において、ゲル準備やバッファー準備が不要なE-Gel Power Snap Plus システムは、研究の加速をサポートします。

- 48ウェル、96ウェルのE-Gel プレキャストゲルに対応し、ハイスループット電気泳動を実現
- 既存のInvitrogen™ E-Gel™ SizeSelect™ II ゲルやInvitrogen™ E-Gel™ CloneWell II ゲルにも対応し、リアルタイムでバンドを確認して、目的のフラグメントを回収可能\*
- 8インチのタッチスクリーン画面で直感的な操作を実現

\*Invitrogen™ E-Gel™ Go! アガロースゲル(4 ウェル)以外の既存の E-Gel プレキャストゲルが利用できます。



### ▶ ベンチトップの簡便さ

E-Gel Power Snap / Power Snap Plus シリーズは、青色光トランスイルミネーターを備えた電気泳動システムです。Invitrogen™ SYBR™ Safe DNA Gel Stain またはSYBR Gold™ IIで染色したバンドをE-Gel アガロースゲル泳動中にリアルタイムで観察できます。システムには、各種 E-Gelアガロースゲルに対応したプロトコルがプリインストールされており、サンプルロードから画像取得まで約15分で完了します。

### ▶ クラウド対応のイメージング解析

Invitrogen™ E-Gel™ Power Snap Camera を使えば、高解像度のE-Gelアガロースゲル画像をその場で手軽に取得できます。このカメラは電気泳動デバイスの上部に直接取り付けられるため、外部電源やデスクトップコンピューターへの接続は不要です。撮影した画像はクラウドベースのデータ解析システム「Thermo Fisher Connect Platform」に転送して解析できます。

### ▶ シンプルなワークフローで、ハイスループットなアガロース電気泳動を実現



製品名	サイズ	製品番号	価格
E-Gel Power Snap Plus Electrophoresis Device	1 式	G9110	¥298,000
E-Gel Power Snap Plus Camera	1 式	G9200	¥348,000
E-Gel Power Snap Plus Electrophoresis System	1 式	G9311	¥580,000
E-Gel 48 1% Agarose gels	8 枚	G800801	¥41,300
E-Gel 48 Agarose Gels with SYBR Safe DNA Gel Stain, 1%	8 枚	G820801	¥37,300
E-Gel 48 2% Agarose gels	8 枚	G800802	¥38,700
E-Gel 48 Agarose Gels with SYBR Safe DNA Gel Stain, 2%	8 枚	G820802	¥37,300
E-Gel 96 1% Agarose gels	8 枚	G700801	¥49,100
E-Gel 96 Agarose Gels with SYBR Safe DNA Gel Stain, 1%	8 枚	G720801	¥32,200
E-Gel 96 2% Agarose gels	8 枚	G700802	¥50,300
E-Gel 96 Agarose Gels with SYBR Safe DNA Gel Stain, 2%	8 枚	G720802	¥51,500



## 血清中のmiRNA単離からqRT-PCRまでの ハイスループット解析ワークフロー

検出感度が高いがんのバイオマーカーとして、血中を循環するmicroRNA (miRNA) が注目されています。ここでは血清中のmiRNA単離からqRT-PCRまでのハイスループット解析ワークフローを紹介します。このワークフローでは、(1)血清中のトータルRNAの抽出をThermo Scientific™ KingFisher™ シリーズとApplied Biosystems™ MagMax™ mirVana™ Total RNA Isolation Kitで行い、(2)qRT-PCRによるmiRNAプロファイリングをApplied Biosystems™ TaqMan™ Advanced miRNA cDNA Synthesis KitとApplied Biosystems™ TaqMan™ Advanced miRNA Assaysで行い、最後に前立腺がんを対象群の血清由来サンプル中のmiRNA量を比較しました。自動サンプル調製システムのKingFisher シリーズを使うことで最大96サンプルから一度にトータルRNAを精製できます。

### 材料と方法

**RNA単離**：前立腺がん患者および健康な個人から得られた100  $\mu$ Lの血清からトータルRNAを単離

**miRNAターゲットの解析**：トータルRNA 2  $\mu$ LからTaqMan Advanced miRNA cDNA Synthesis kitでcDNAを作製し、各3サンプルずつをTaqMan Advanced miRNA AssaysとApplied Biosystems™ TaqMan™ Fast Advanced Master MixでqPCR解析を実施

**mRNAターゲットの解析**：トータルRNA 10  $\mu$ LからApplied Biosystems™ High-Capacity cDNA Reverse Transcription KitでcDNAを作製し、各3サンプルずつをリファレンスmRNAに特異的なApplied Biosystems™ TaqMan™ AssayとTaqMan Fast Advanced Master MixでqPCRを実施

### 結果

前立腺がん血清バイオマーカーの候補として19種類のmiRNAパネルを選定し、前立腺がん患者群と健常者群でmiRNAの濃度を測定しました(図)。この結果から、hsa-miR-210-3p ( $P < 0.0001$ )、hsa-miR-34b-3p ( $P < 0.0001$ )、hsa-miR-375 ( $P = 0.0277$ )の3種のmiRNAが前立腺がん患者の血清において有意に高濃度で存在することが示されました。これらのmiRNAはバイオマーカーとして、前立腺がんの臨床研究に有用である可能性があります。

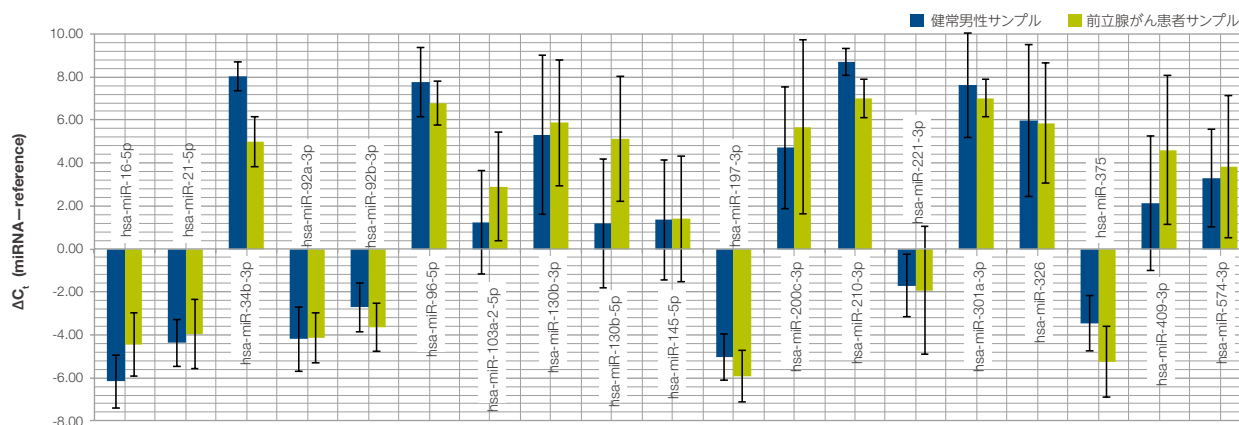


図 前立腺がんmiRNAバイオマーカー候補の同定

MagMax mirVana Total RNA Isolation Kitを用いて、前立腺がん患者10名 (PSA値: 5~100 ng/mL) および健常者10名の血清からトータルRNAを単離しTaqMan Advanced miRNA cDNA Synthesis KitおよびTaqMan Advanced miRNA Assaysを用いて、19種のmiRNAの発現レベルをqRT-PCRによって測定しました。y軸は各miRNAの $\Delta$ Ct値(リファレンスmRNAに対して正規化)を示しています。

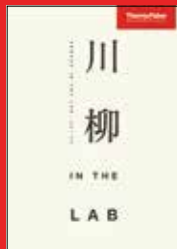
### まとめ

KingFisher シリーズによるRNA単離法は磁気ビーズベースのケミストリーであり、サンプルを迅速に処理できます。そのため有機溶媒による抽出ステップを省略できました。またTaqMan Advanced miRNA cDNA Synthesis KitおよびTaqMan Advanced miRNA Assaysでワークフローを簡素化でき、miRNAを増幅するmiR-Ampステップによりユニバーサルな増幅が可能なので、低コピー数のターゲットに対する感度が向上しました。



KingFisher Apex  
Purification System

# 「川柳 in the ラボ 2022」受賞作発表のお知らせ



今年で10回目となる「川柳 in the ラボ」各賞の受賞作が決定しました。  
多数の応募作品から20句の優秀作品を選定し、皆様の投票で人気作品賞が決定しました。

研究室で感じた世界情勢の激しい変化や平和の貴さ、そして鉄板の研究者あるあるなど、素敵な川柳をお寄せくださり、そして人気投票に参加してイベントを盛り上げてくださった皆様、本当にありがとうございました！  
3年ぶりに、8冊目の冊子を作成し、各種学会・展示会等でアンケートと交換に差し上げます。  
ご参加の折には、ぜひ当社展示ブースにお立ち寄りください。

最優秀人気作品賞

「届かない 試薬で世界の 危機を知る」(作:T-Max)

優秀人気作品賞

「祈るのは、世界平和と 再現性」(作:ピース高田)

「読み取れる マスク越しでも ボスの表情(かお)」(作:moldoi)



## NEXT 12月号はいかがでしたか？

特集は、大阪大学教授の原英二氏に細胞老化から発がんのメカニズムを探る研究について伺いました。今回も多くの研究者のインタビュー記事を掲載しています。Gibco™ 60周年特別インタビューは、順天堂大学教授の安藤美樹氏と東京医科歯科大学教授の武部貴則氏、お二人の動画もホームページで公開予定です。またセミナー報告として京都大学iPS細胞研究所教授の長船健二氏や株式会社LSIメディエンス医薬品分析センターの鈴木玄樹氏、ユーザーボイスとしてカルナバイオサイエンス株式会社の芳賀慧氏の記事を掲載しています。新製品や製品紹介記事もお役に立つと幸いです。

読書アンケートでご感想やご意見をお寄せください。→ [thermofisher.surveymonkey.com/r/NEXT\\_reader](https://thermofisher.surveymonkey.com/r/NEXT_reader)



photographs: ryuichi morikawa(p.02-03) / art direction & design: opportune design inc. / editing: yuko hashimoto

**NEXT バックナンバーは、こちらから → [thermofisher.com/NEXT](https://thermofisher.com/NEXT)**

研究用にも使用できます。診断用には使用いただけません。

© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.  
記載の価格は2022年12月現在のメーカー希望小売価格です。消費税は含まれておりません。●実際の販売価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

●価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。●標準販売条件はこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/jp-tc](https://thermofisher.com/jp-tc) LSG109-A2211HS

サーモフィッシャーサイエンティフィック  
ライフテクノロジーズジャパン株式会社

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ [jptech@thermofisher.com](mailto:jptech@thermofisher.com)  
オーダーサポート TEL: 03-6832-6980 FAX: 03-6832-9584  
営業部 TEL: 03-6832-9300 FAX: 03-6832-9580

[facebook.com/ThermoFisherJapan](https://facebook.com/ThermoFisherJapan) [@thermofisherjp](https://twitter.com/thermofisherjp)  
[thermofisher.com](https://thermofisher.com)

販売店