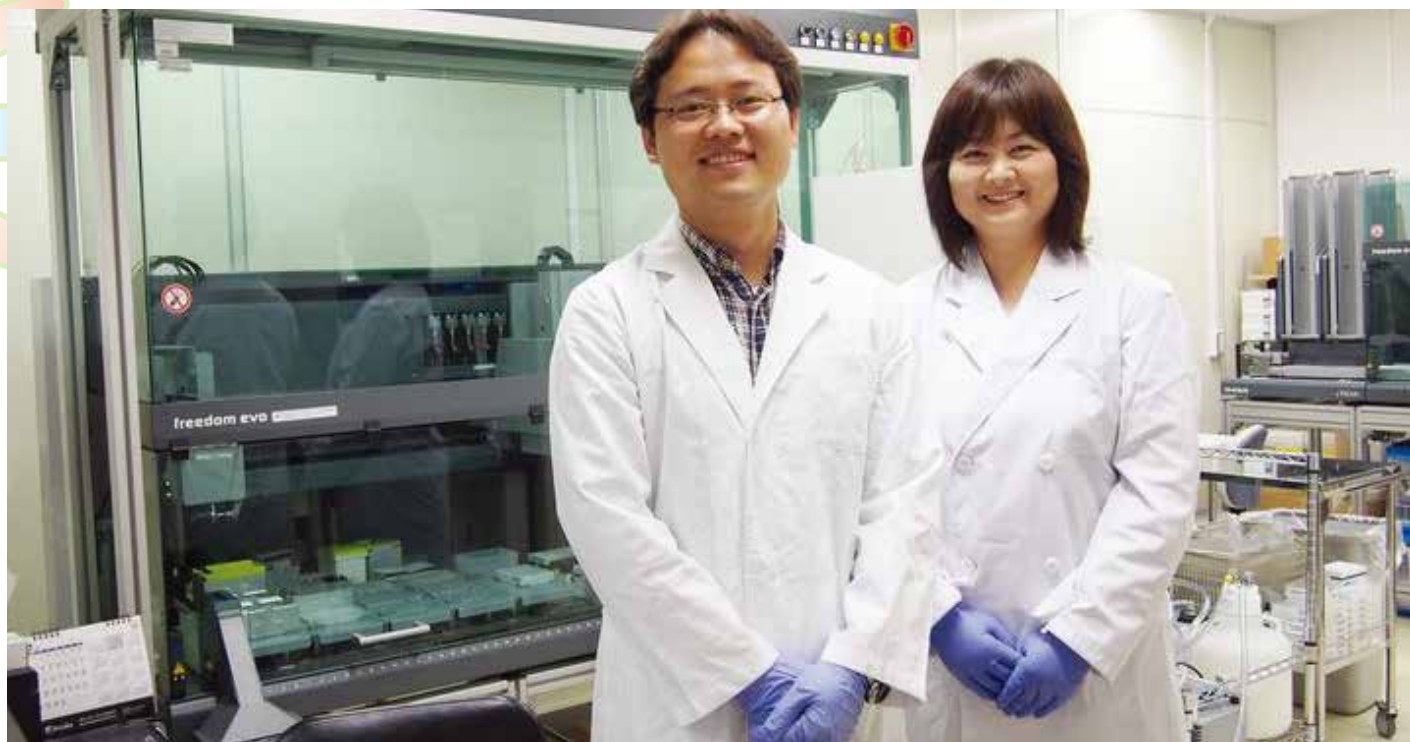


高効率トランスフェクション技術を用いた 創薬への貢献

石原産業株式会社 中央研究所 生命科学研究室では、Tecan の Freedom EVO[®]200 ワークステーションを使って、効率的な siRNA トランスフェクションの自動化に成功し、small RNA ライブラリーの高効率ハイスループットスクリーニングへの道を切り開いた。



Freedom EVO をバックに林邦忠氏と山口朋奈氏

“自動化により、応用例を格段に広げることができるようになりました。今後はより大規模なスケールでの利用を検討中です。”

「生命を守る科学」をテーマとして、石原産業株式会社（本社 大阪）は、医学および生命科学における発展に寄与するバイオ試薬の研究開発を行っている。大阪大学 金田安史教授ならびに同大学発ベンチャー企業と協力して、同社ではトランスフェクション、細胞融合、IgG 抗体導入用の一連のキット GenomONE™ シリーズを開発してきた。本製品群のコア技術は新しいタイプの非ウイルスベクターで、センダ

イウイルス (hemagglutinating virus of Japan, HVJ) 由来のエンベロープ膜成分の細胞膜融合活性を用いたものである。このウイルスのゲノムは完全に不活性化されているが、ウイルスエンベロープの内包物を標的細胞に直接導入できる機能は維持されており、様々な生理活性物質をこのエンベロープ内に封入し、細胞にトランスフェクションすることができる。

「私の研究テーマの一つは、HVJ エンベロープ (HVJ-E) を使って siRNA のトランスフェクションシステムを最適化することです」と、語るのは中央研究所研究員の山口朋奈氏。「私達は siRNA 用に特化した試薬とプロトコルを開発し、これまで導入困難とされていた種々の細胞、即ち浮遊系免疫細胞株、特に導入困難とされていた初代培養 T 細胞と B 細胞へもトランスフェクションできるようになりました。その結果、これまでリポフェクションやエレクトロ

ポレーションなどの他の方法ではトランスフェクションできなかった細胞種について、GenomONE ユーザーから多数の成功例が報告されています。HVJ-E 法により目的とする物質を適切な量だけトランスフェクションでき、細胞も良好な状態に保持できることから、次の試験段階である *in vivo* への移行を容易に進められることが期待されます。」

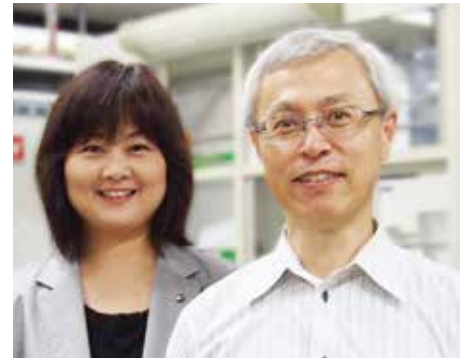
このチームは、このたび大阪大学産学連携本部との共同研究でリキッドハンドリングプラットフォーム Freedom EVO 200 とマイクロプレートリーダー Infinite[®] M1000 を用いて、HVJ-E トランスフェクション・機能評価システムの自動化に成功した。「2013 年 1 月にスタートして 3 月までに、手動処理の結果を再現できることの確認も含めて、一連の試験を 5 回行っただけで自動試験システムの最適化を確立できました。」と山口氏。

Freedom EVO 200 のプログラム作成と操作を行った大阪大学産学連携本部の林邦忠博士は、次のようにコメントしている。「このようなハイスループットスクリーニング (HTS) プロトコルに対して、滅菌状態で自動化分注操作を行うことは必須でした。HEPA フィルターの設置と、インキュベーターと Carousel HS™ の統合によりこれが可能となりました。また、2種類の微量な溶液を 96 ウェルプレートの各ウェル内で混合することが非常に重要でした。これは、分注アームとマルチ分注アーム MCA 96 の両方を用いた分注時のピペットチップの正確な位置決めと高速での吐出により実現しました。インキュベーションの後、Infinite M1000 を使って細胞増殖の定量的比色評価を実施しました。」

山口氏はマニュアル操作から自動化に切り替えることのメリットを強調する。「自動化によって、実験者のスキルの差から生じる結果のばらつきと人為的ミスの可能性の両方がなくなります。私が特に感動したのは、Freedom EVO によるプレート移送の仕方です。動きは実にスムーズで、振動はほとんど起きません。Freedom EVO を使用することで、処理時間が半分に、マニュアル操作では限界があっ

た、処理可能なアッセイプレートの数を大幅に増やすこともできます。また、自動化プロトコルによって消耗品の数が極わずかで済みます。自動化により、応用例を格段に広げることができるようになり、今後は創薬ターゲットとなりうる大量の siRNA ライブラリースクリーニングなど、より大規模なスケールでの利用を検討中です。今後のプロジェクトにおいても、自動化が必要とされている時であればいつでも、Freedom EVO を使用しようと思っています。」

生命科学研究室 室長の加藤文法博士はこう付け加える。「次世代シーケンシング技術の登場で、従来の方法では不可能であった small RNA の同定や検出が容易にできるようになりました。これにより、さらに多くの新規 small RNA が近い将来発見されることが予想されます。GenomONE と Freedom EVO を組み合わせることで、これまで困難とされてきた免疫細胞を用いた HTS が実行可能なことを私達は初めて実証できました。GenomONE シリーズと Freedom EVO 200 が急速に拡大しつつある生体分子の研究に大いに寄与し、医用診断分野での応用研究を促進することを期待しています。」



山口朋奈氏と加藤文法氏

Tecan のゲノム関連ソリューションの詳細はこちらをご覧ください。

www.tecan.com/genomics

石原産業株式会社についての詳細はこちらをご覧ください。

www.iskweb.co.jp/index.html

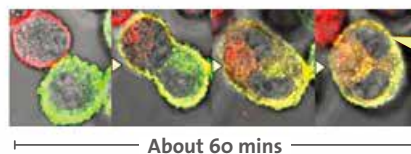
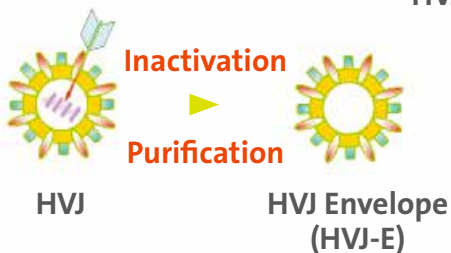
■ この記事は 2013 年 9 月 発行 Tecan Journal 3/2013 に掲載されているユーザーストーリーを抜粋、翻訳したものです。ご質問、ご要望は下記までお願いします。

テカンジャパン株式会社

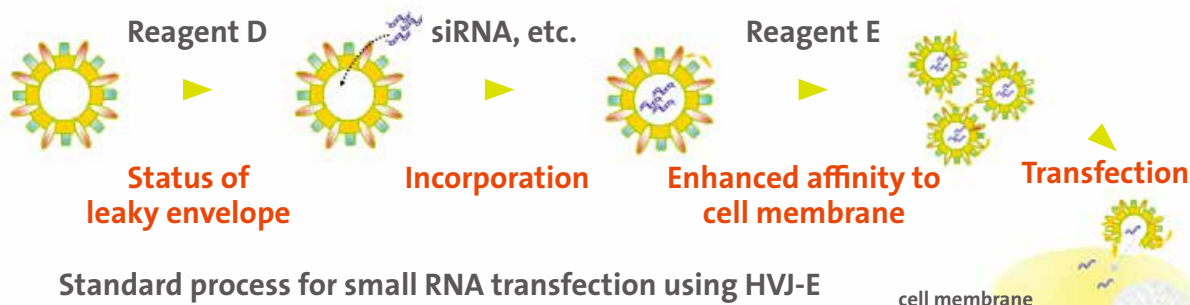
TEL: 044-556-7311/FAX: 044-556-7312
E-mail: infojapan@tecan.com

What is HVJ-E?

*HVJ; Hemagglutinating Virus of Japan (Sendai virus)



Cell fusion using HVJ-E!



HVJ エンベロープを使った siRNA のトランスフェクションシステムの最適化
(この図は石原産業株式会社からご提供いただきました。)