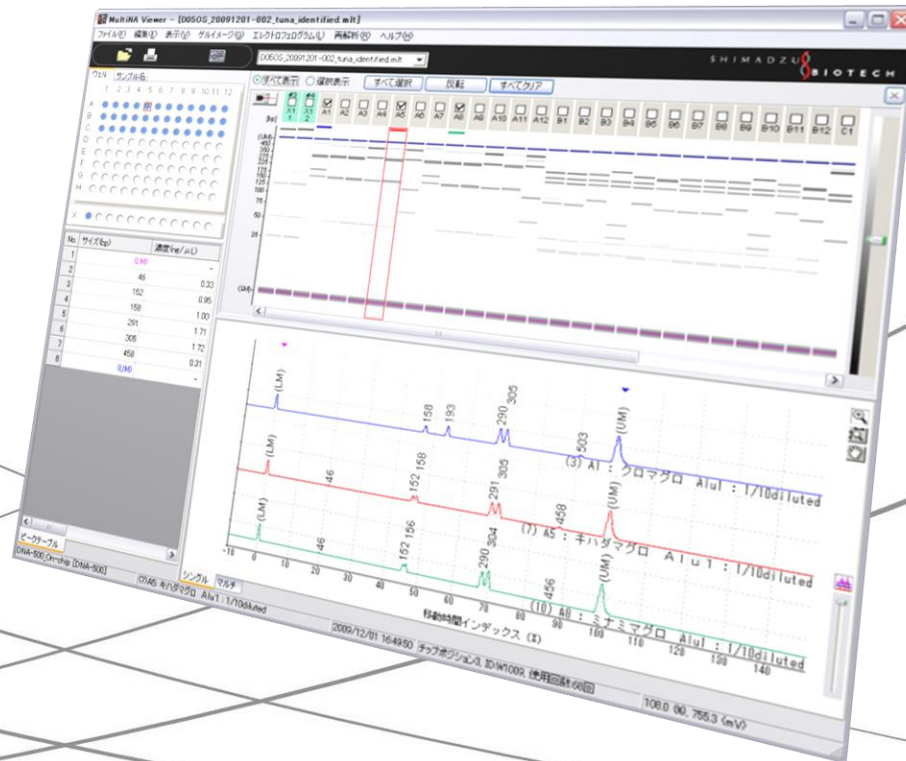


DNA/RNA分析用マイクロチップ電気泳動装置

MCE-202 MultiNA

(マルチナ)

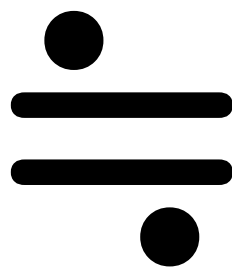


MultiNAはどんな装置？

DNA/RNAのサイズを測定する装置です。



MultiNA



アガロースゲル電気泳動

従来法(アガロースゲル電気泳動)

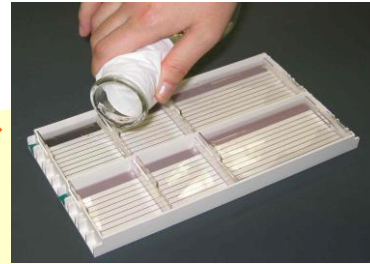
の不满を解消します



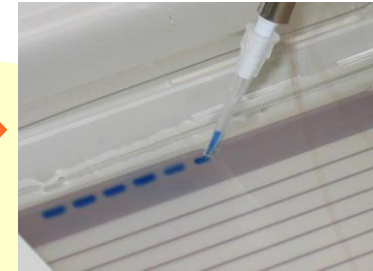
試薬の秤量



アガロースの溶解



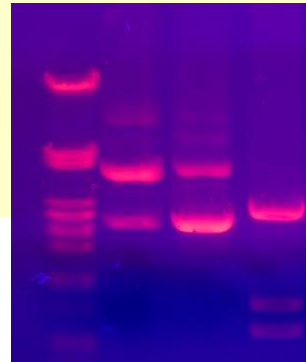
溶液の流し込み



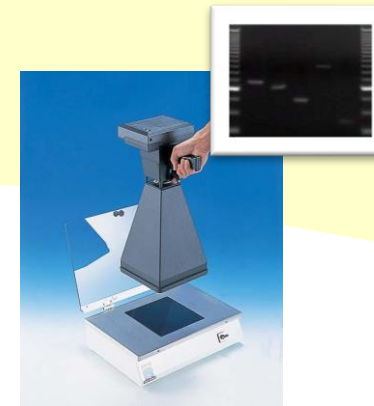
サンプルアプライ



電気泳動開始



EtBrによる染色



写真撮影

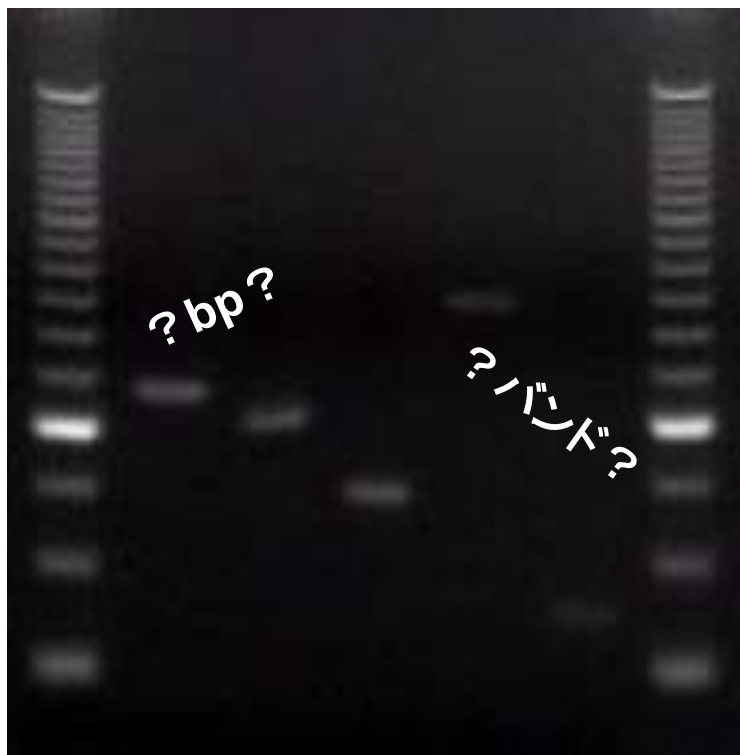


器具の洗浄
(;´д`)トホホ

- ・アガロースゲル電気泳動は手作業の連続
- ・EtBrの発ガン性
- ・数サンプルでも1枚のゲルを使用

- ・ゲル毎に移動度が変化
- ・プレキャストゲルは高価

アガロースゲル電気泳動の不満点



“数値”としてデータが得られない。

感度が足りない

ゲル（分析）ごとに比較できない。

アガロースゲル電気泳動の写真による評価は

1. 目視判定なので**主観**がどうしても入ってしまう
2. 結果が**数値**にならないので客観性に乏しいという問題を避けることができません。

MultiNA のコンセプトと特長

アガロースゲル電気泳動の不满を解決する分析システム

特長1 全自動分析

サンプルと試薬をセットするだけ！

特長2 低ランニングコスト

再利用できるマイクロチップと専用試薬キット
1サンプル分析でも無駄な試薬がほとんどでません。

特長3 高感度検出

アガロースゲル電気泳動(EtBr染色)の約一桁高感度
有害なエチジウムブロマイドは使用しません。

特長4 簡単メンテナンス

分析前後に自動洗浄
クリーニングキットによる簡単定期メンテナンス

マイクロチップ電気泳動装置“MultiNA” システム

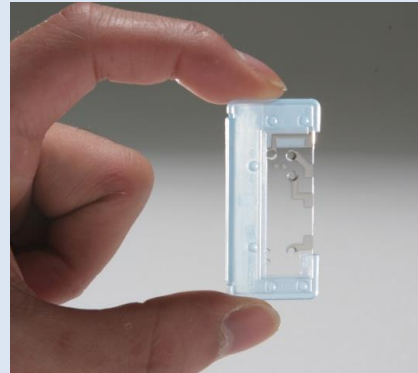
装置本体



装置本体

PC(装置制御、結果閲覧)

マイクロチップ



- ・繰り返し使用が可能
- ・1～4枚まで搭載可能

試薬キット



DNA-500 (25～500bp)

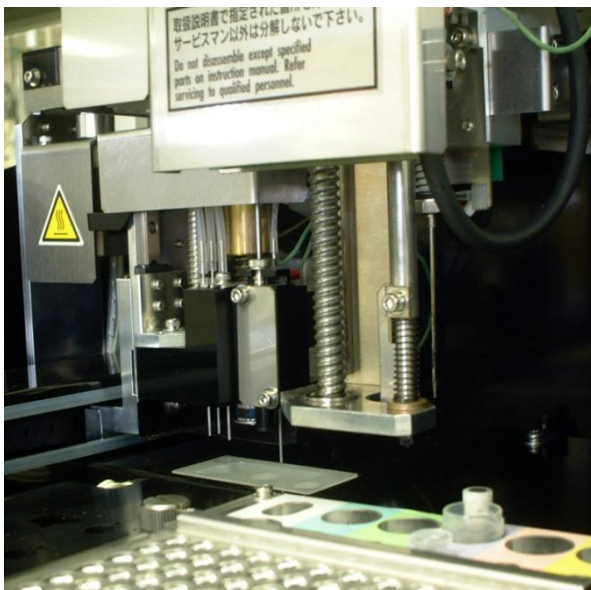
DNA-1000 (100～1000bp)

DNA-2500 (100～2500bp)

DNA12000 (100～12000bp)

RNA (28SrRNA:5000ntまで)

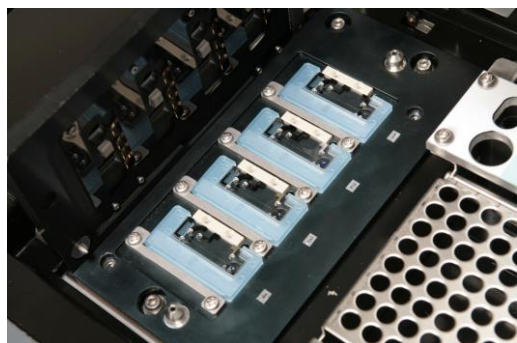
自動化を実現するロボティクス



オートサンブラ
加圧吸引ユニット



シリンジポンプ



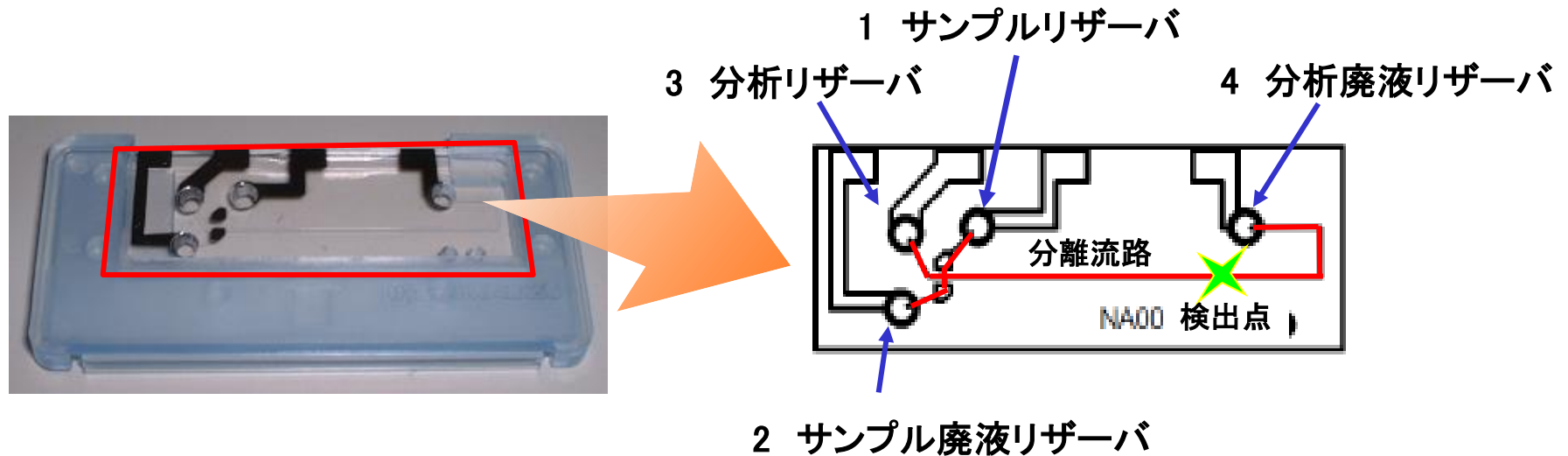
マイクロチップステージ



ペリスタリックポンプ

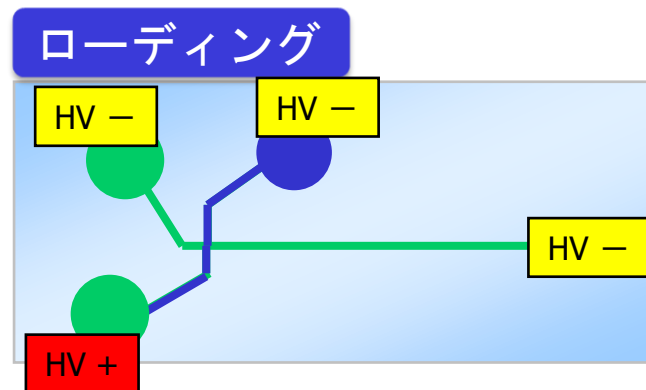
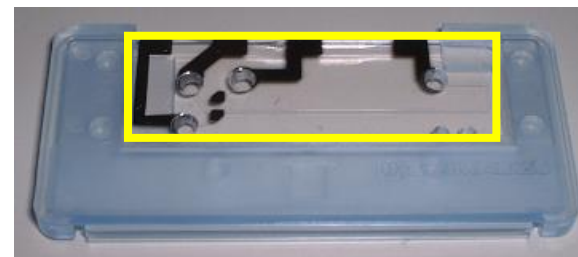
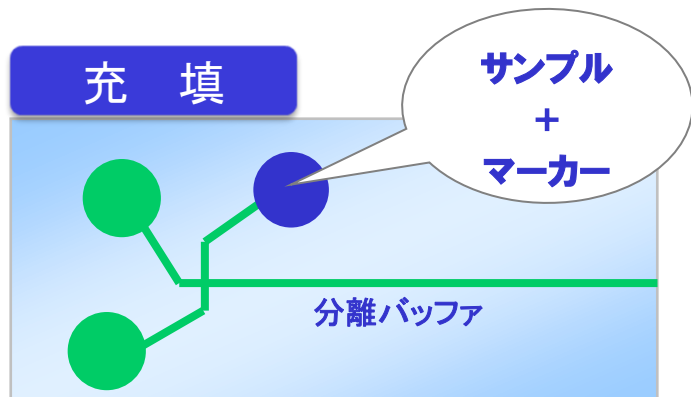


マイクロチップの構造



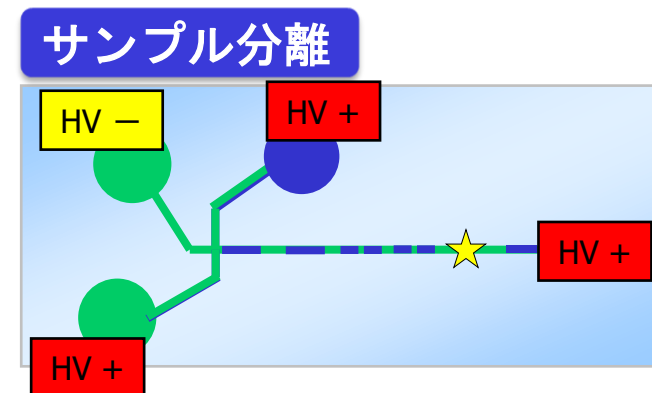
1. 石英製
2. 繰り返し使用できる
3. 最大4枚までセット可能

マイクロチップ電気泳動の原理



👉 再現性が良い

👉 塩の影響を受けにくい



かんたん操作 3ステップ!

Point! 検体数が多くても手間はほぼ同じ!

① 分析スケジュールの作成・登録

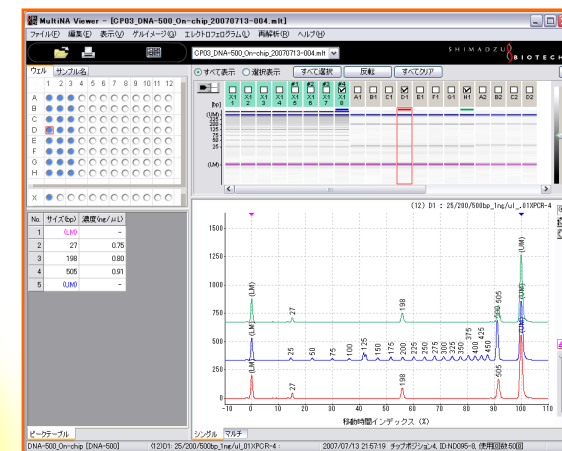


クリック操作だけで簡単登録!

準備はたったの

10~15分

自動分析の結果を待つだけ!



② 試薬/サンプルのセット



調整済みのサンプルをセットするだけ!

96プレートでも8連チューブにも対応!

1検体でも測定可能!

③ 分析の開始



スタートを押すだけ!

Step1: 分析スケジュールの作成・登録

サンプル登録

新規保存 100 サンプル

データファイル名(E): %Y%M%D-%Q
20090702-001.mlt

データファイルコメント(O):

プロジェクト名: DNA-1000_On-chip 分離バッファ: DNA-1000
プロジェクトコメント: マーカ混合モード: オンチップ

ウェル名	サンプル名	コメント	タイプ
1 X1	PhiX1 74-HaeIII digest	Ladder for Chip#1	ラダー (STD)
2 X1	PhiX1 74-HaeIII digest	Ladder for Chip#2	ラダー (STD)
3 X1	PhiX1 74-HaeIII digest	Ladder for Chip#3	ラダー (STD)
4 X1	PhiX1 74-HaeIII digest	Ladder for Chip#4	ラダー (STD)
5 A1	SampleID_SM21001	PCRproduct	サンプル
6 A2	SampleID_SM21002	PCRproduct	サンプル
7 A3	SampleID_SM2100		
8 A4	SampleID_SM2100		
9 A5	SampleID_SM2100		
10 A6	SampleID_SM2100		
11 A7	SampleID_SM2100		
12 A8	SampleID_SM21008	PCRproduct	サンプル
13 A9	SampleID_SM21009	PCRproduct	サンプル
14 A10	SampleID_SM21010	PCRproduct	サンプル
15 A11	SampleID_SM21011	PCRproduct	サンプル
16 A12	SampleID_SM21012	PCRproduct	サンプル
17 B1	SampleID_SM21013	PCRproduct	サンプル
18 B2	SampleID_SM21014	PCRproduct	サンプル
19 B3	SampleID_SM21015	PCRproduct	サンプル
20 B4	SampleID_SM21016	PCRproduct	サンプル
21 B5	SampleID_SM21017	PCRproduct	サンプル
22 B6	SampleID_SM21018	PCRproduct	サンプル
23 B7	SampleID_SM21019	PCRproduct	サンプル
24 B8	SampleID_SM21020	PCRproduct	サンプル
25 B9	SampleID_SM21021	PCRproduct	サンプル
26 B10	SampleID_SM21022	PCRproduct	サンプル
27 B11	SampleID_SM21023	PCRproduct	サンプル
28 B12	SampleID_SM21024	PCRproduct	サンプル
29 C1	SampleID_SM21025	PCRproduct	サンプル
30 C2	SampleID_SM21026	PCRproduct	サンプル
31 C3	SampleID_SM21027	PCRproduct	サンプル
32 C4	SampleID_SM21028	PCRproduct	サンプル
33 C5	SampleID_SM21029	PCRproduct	サンプル

マウスでサンプルを選んでボタンを押すだけで分析スケジュールに登録!

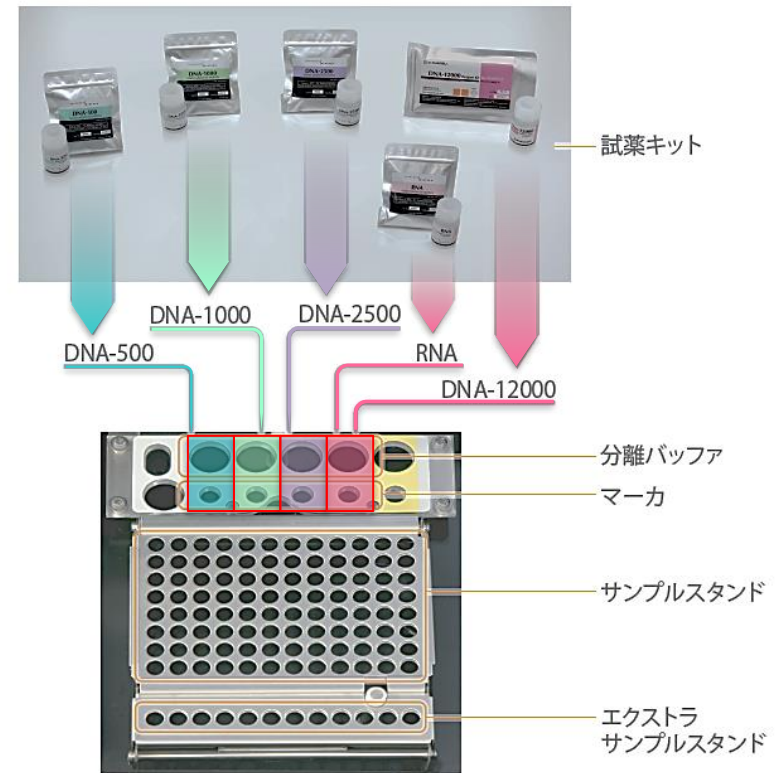
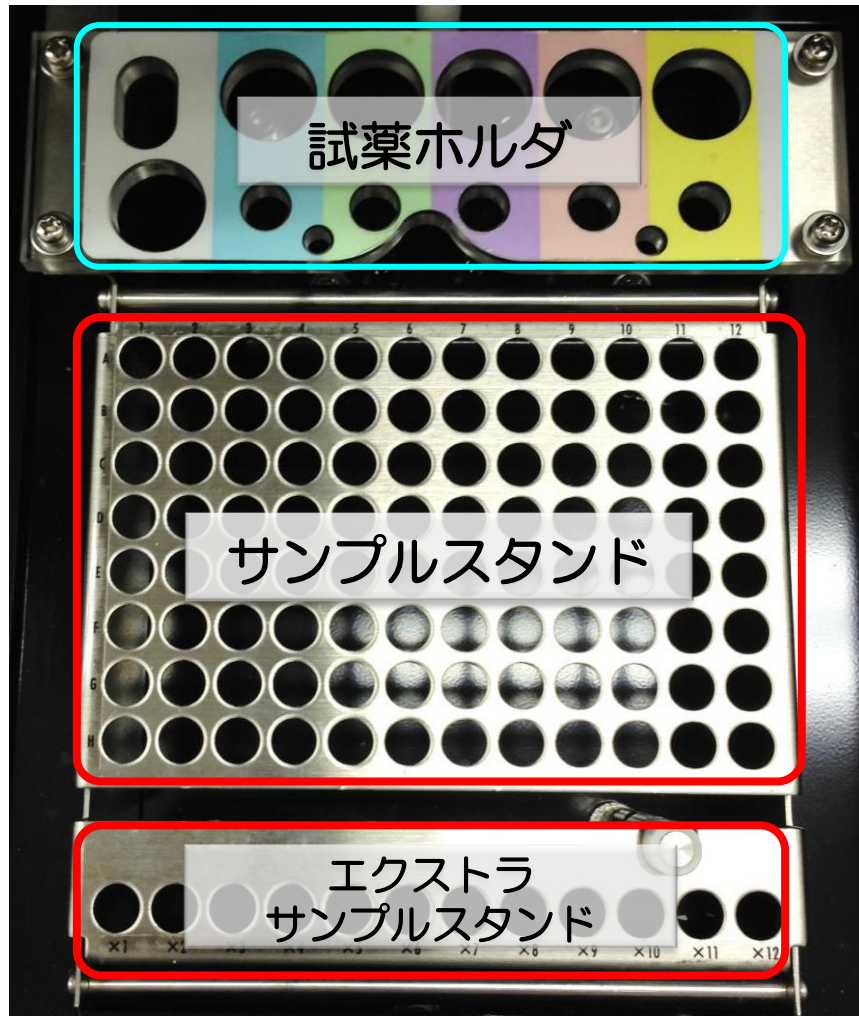
登録した分析数に応じて、分離バッファとマーカの必要量が表示

試薬インフォメーション

試薬	必要量
■ DNA-1000	
分離バッファ	2340 μL
マーカ溶液	240 μL

インポート(O)... 既定のサンプルシートとして保存(D) 保存(S)... キャンセル

Step2 : 試薬/サンプルの準備セット



MultiNAの内部

Step3: 分析の開始

MultiNA - MultiNA_CP01

Sample Entry Edit View Instrument Analysis Help

MultiNA_CP01

SHIMADZU BIOTECH

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Well Name	Project Name	Sample Name	Comment	Type	Sep. Buffer	Mode	Chip	Stat
A	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	38 C10	DNA-1000_On-	SampleID_20070904-001		Sample	DNA-1000	On-Chip	2	Waiting
B	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	39 C11	DNA-1000_On-	SampleID_20070904-001		Sample	DNA-1000	On-Chip	3	Waiting
C	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	40 C12	DNA-1000_On-	SampleID_20070904-001		Sample	DNA-1000	On-Chip	4	Waiting
D	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	41 D1	DNA-1000_On-	SampleID_AF21040		Sample	DNA-1000	On-Chip	1	Waiting
E	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	42 D2	DNA-1000_On-	SampleID_AF21041		Sample	DNA-1000	On-Chip	2	Waiting
F	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	43 D3	DNA-1000_On-	SampleID_AF21042		Sample	DNA-1000	On-Chip	3	Waiting
G	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	44 D4	DNA-1000_On-	SampleID_AF21043		Sample	DNA-1000	On-Chip	4	Waiting
H	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	45 D5	DNA-1000_On-	SampleID_AF21044		Sample	DNA-1000	On-Chip	1	Waiting
													46 D6	DNA-1000_On-	SampleID_AF21045		Sample	DNA-1000	On-Chip	2	Waiting
													47 D7	DNA-1000_On-	SampleID_AF21046		Sample	DNA-1000	On-Chip	3	Waiting
													48 D8	DNA-1000_On-	SampleID_AF21047		Sample	DNA-1000	On-Chip	4	Waiting
X	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	49 D9	DNA-1000_On-	SampleID_AF21048		Sample	DNA-1000	On-Chip	1	Waiting

Chip 1: ND093-1 < Used 733 times > [mV]

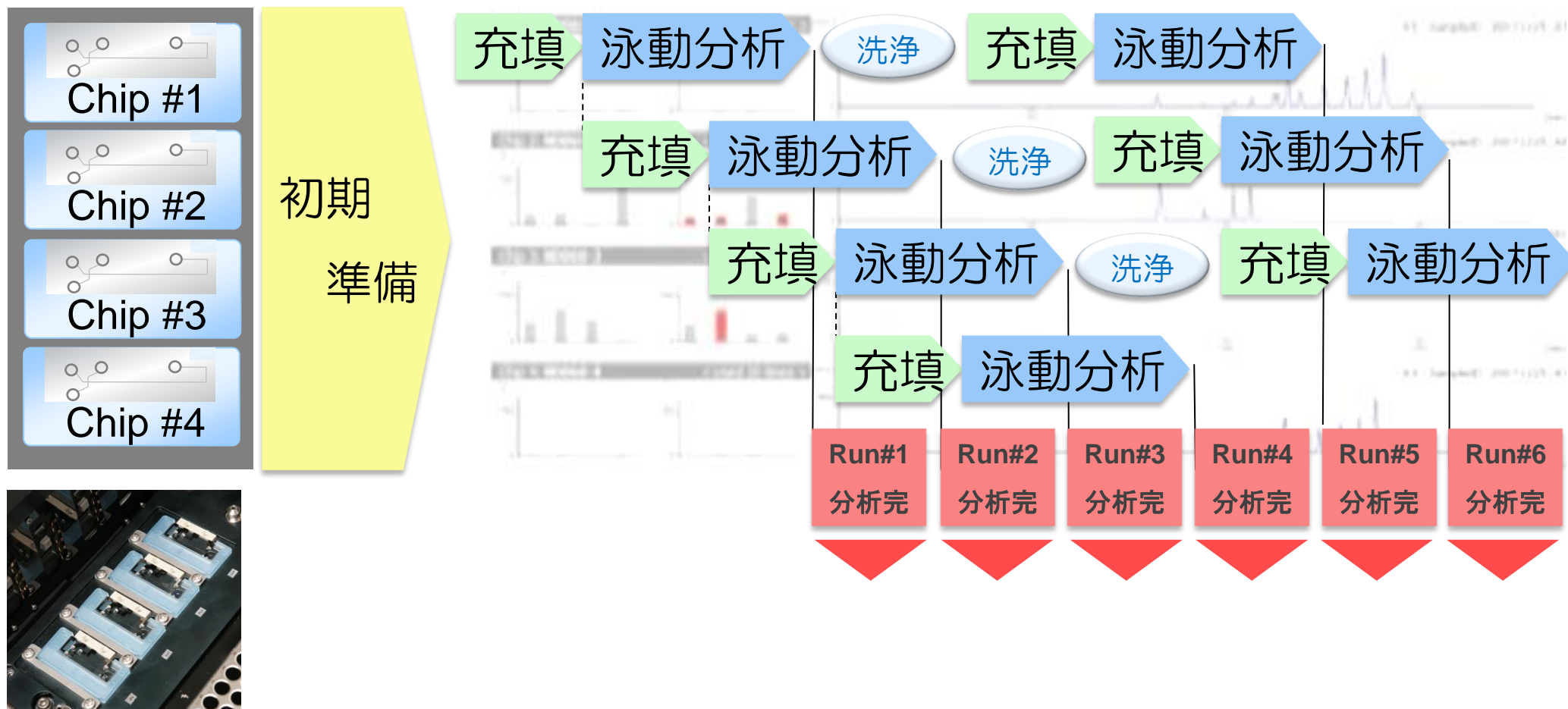
Chip 2: ND093-2 < Used 674 times > [mV]

Chip 3: ND093-3 < Used 618 times > [mV]

Chip 4: ND093-6 < Used 618 times > [mV]

C:\MultiNA#Project#DNA-1000_On-chip#20070904-001.mlt PCR_QualityCheck

MultiNAの自動分析の流れ



分析が終わったサンプルから、別画面 (MultiNAViewer) でデータを見ることができます。
すべてのサンプル分析終了を待つ必要はありません。

分析サイクル時間

試薬キット	プレミックス	オンチップ混合
● DNA-500	95秒	105秒
● DNA-1000	80秒	100秒
● DNA-2500	80秒	95秒
● RNA	75秒	NA

※時間はおおよそです。条件によっては異なる場合があります。

MultiNAで得られる結果

サンプルウェル表示

⇒分析の進行状況を一目で確認。
⇒見たいウェルを容易に選択

ゲルイメージ

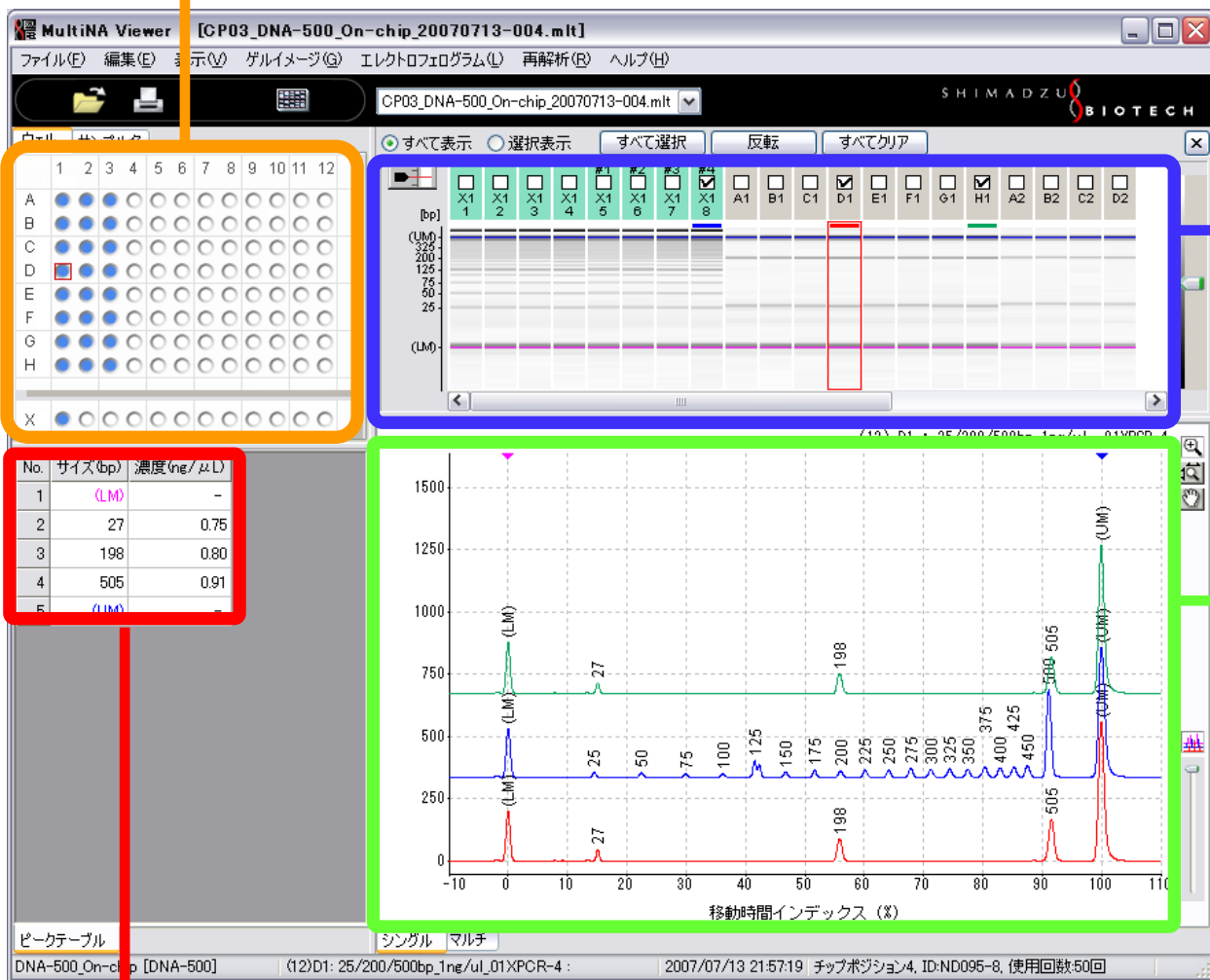
⇒ゲル写真と同等の画像データ
⇒選択したレーンのみ表示可能。
⇒過去データとの比較も可能。

エレクトロフェログラム

⇒波形データの比較により、サイズ差や
微量フラグメントの存在を明瞭に確認。

ピークテーブル

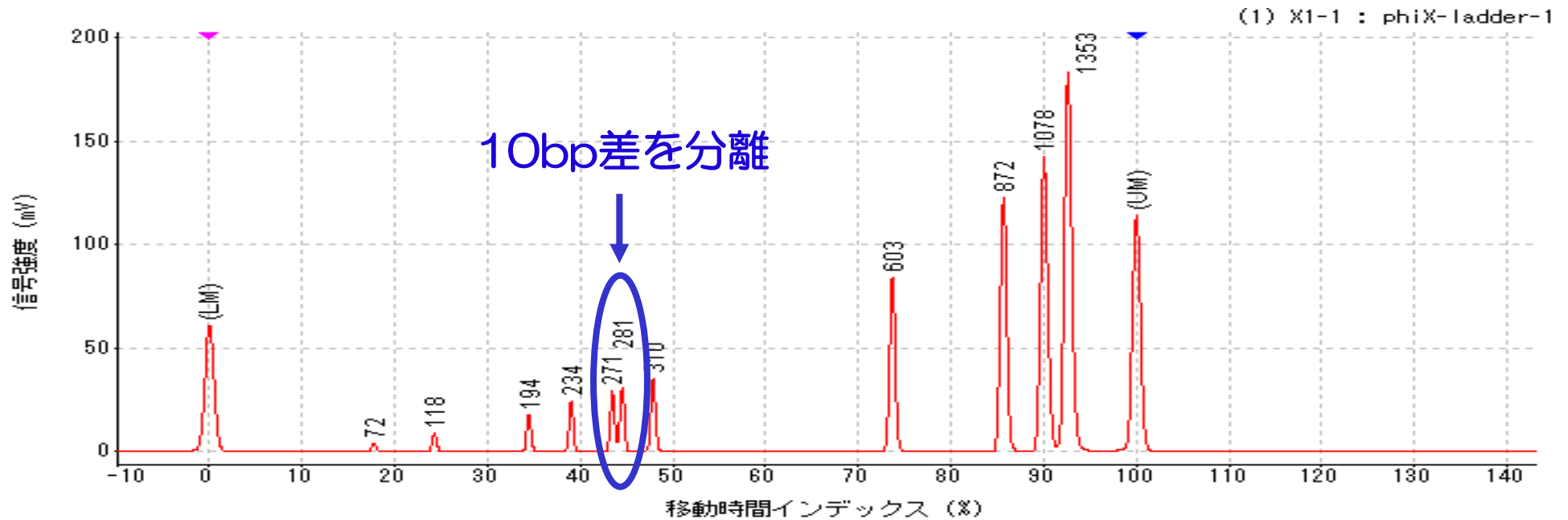
⇒各DNAフラグメントのサイズ推定値や
濃度を自動算出。



高い分離能

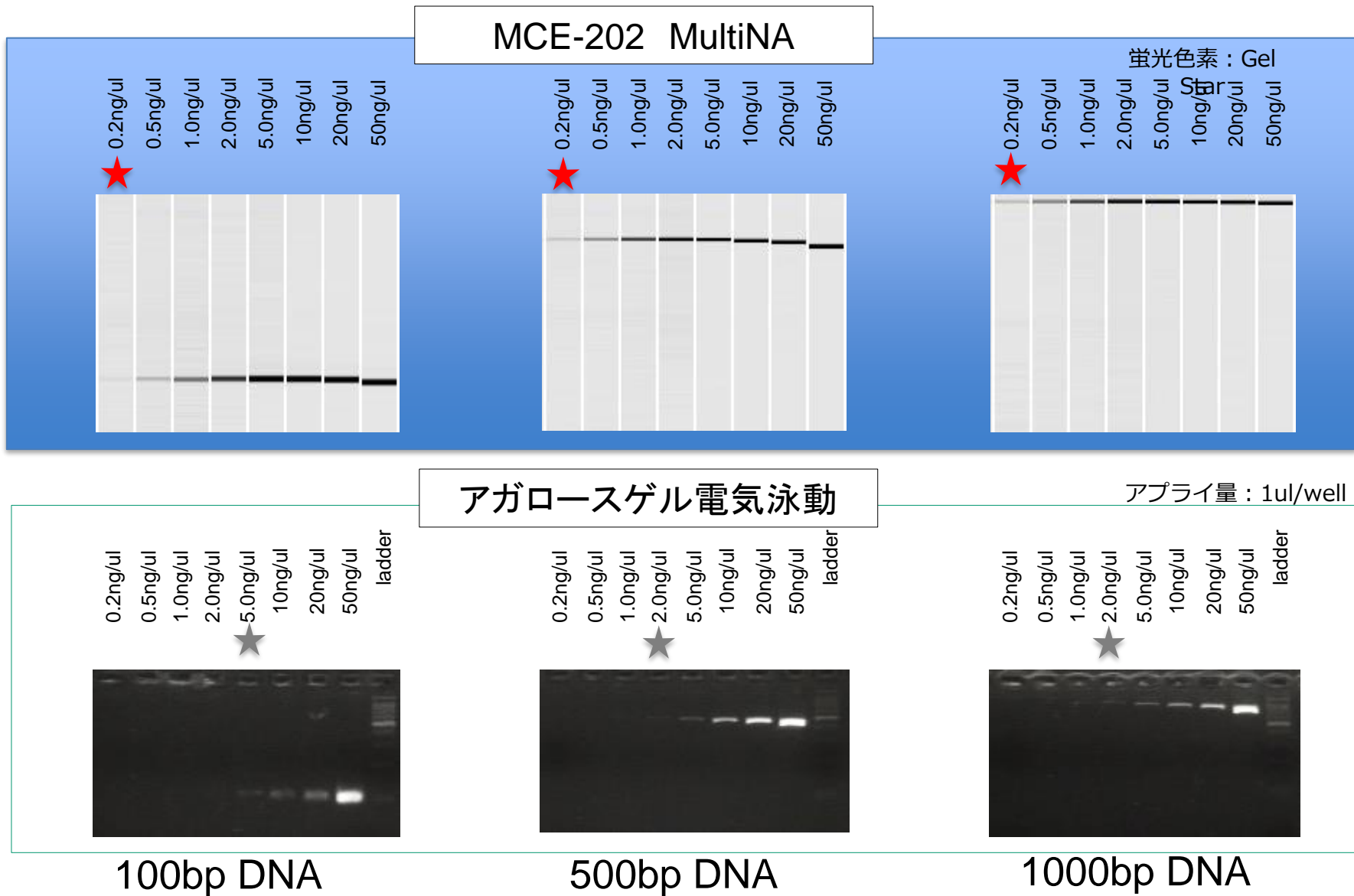
アガロースゲル電気泳動では分離困難な鎖長差を分離可能。

●DNA-1000キット



高感度検出

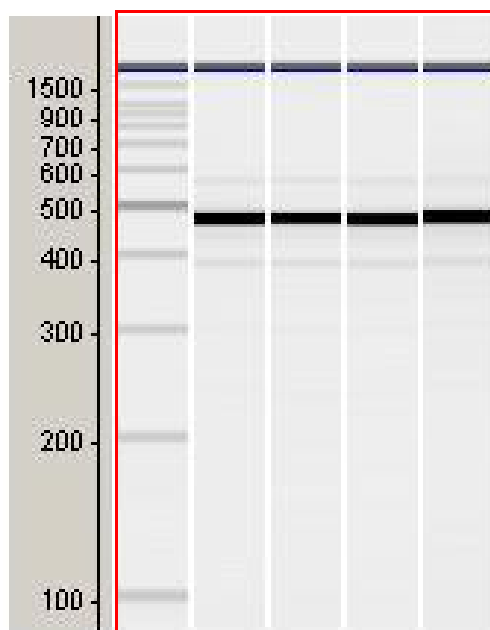
MultiNAはアガロースゲル電気泳動に比べて一桁以上高感度です。



データの並び替えができる

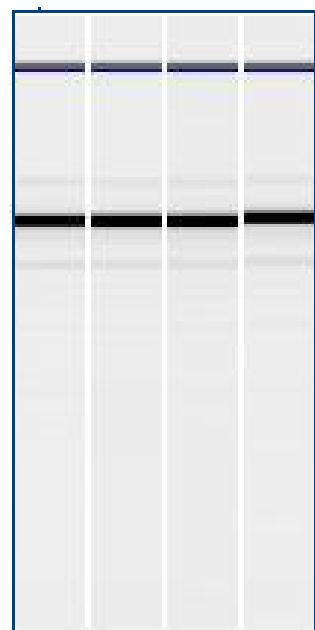
「比較ビュー」という機能を使ってデータの並び替えができます※。

※泳動条件が同一でなければなりません。



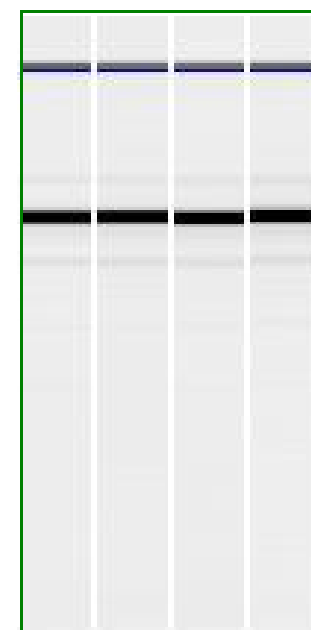
第1日

+



第2日

+



第3日

サンプルの順番を変えたい場合

別の時に分析したデータと比較したい場合

 便利です

MultiNAの消耗品

島津製作所がMultiNA用品として販売しているもの



マイクロチップ



各種試薬キット



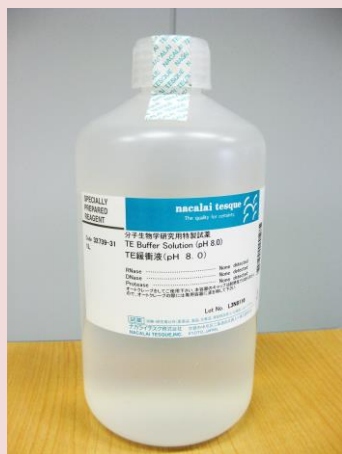
チップクリーニングキット

MultiNAの消耗品

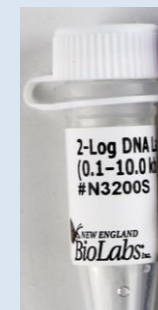
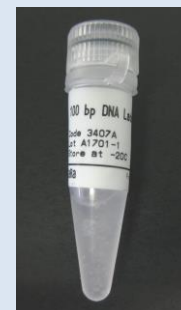
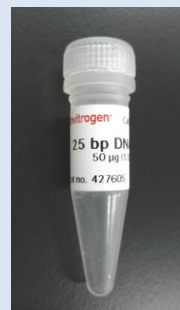
他社製品でMultiNA推奨品としている試薬類



蛍光色素
SYBR Gold
もしくは
GelStar



TEバッファ



各キット推奨ラダーメーカー

MultiNAの消耗品

他社製品でMultiNA推奨品としている容器関連

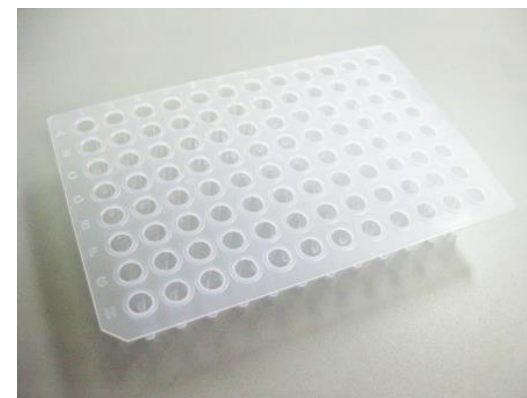
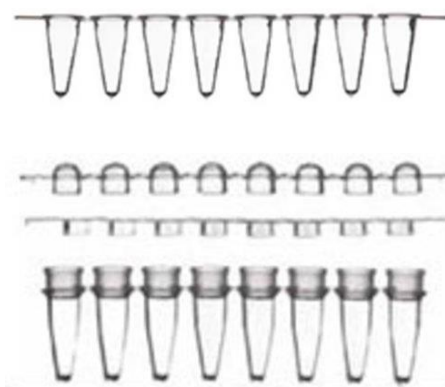


分離バッファ



内標マーカ

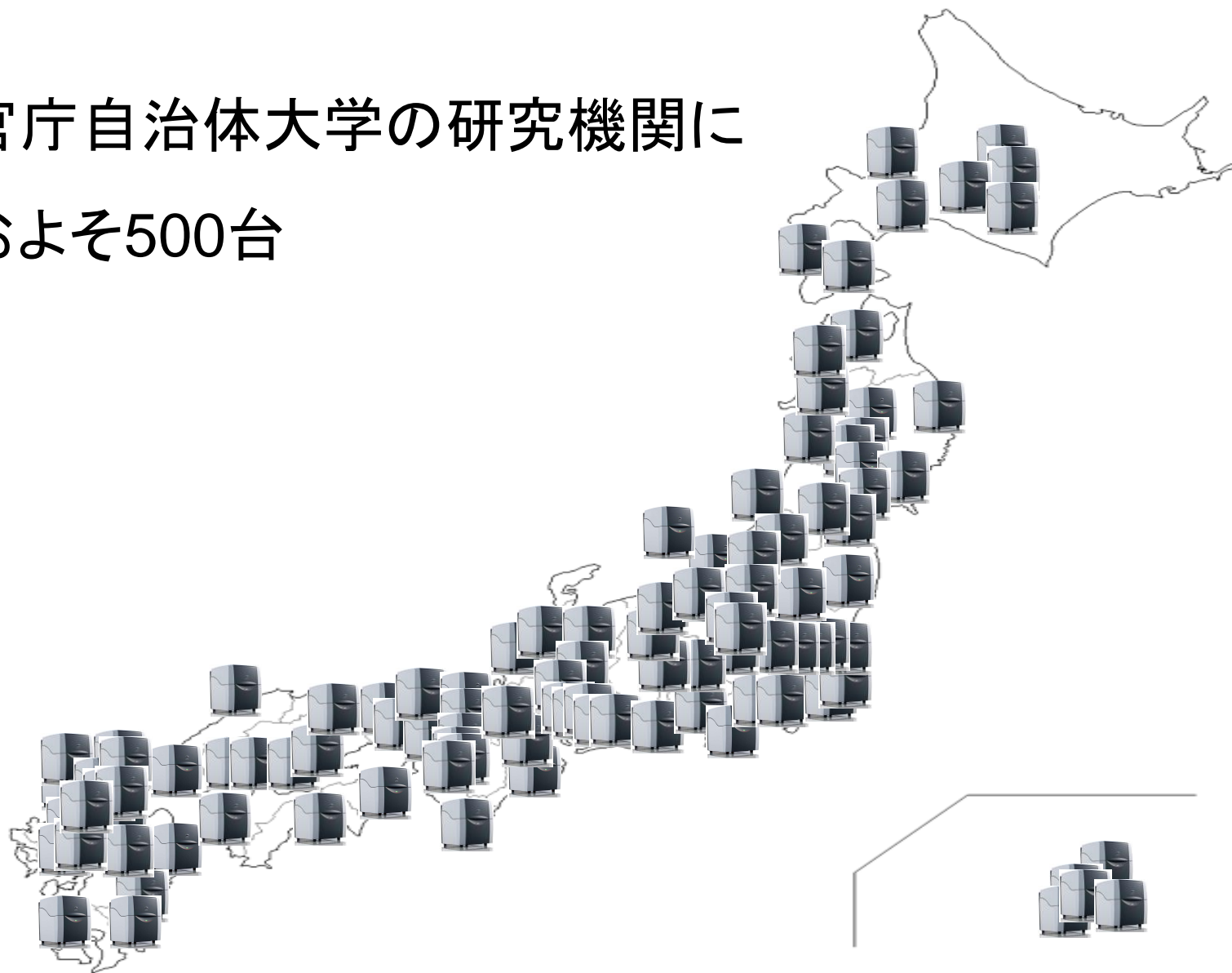
MultiNA専用試薬に使う容器



サンプルや標準サンプルに使う容器

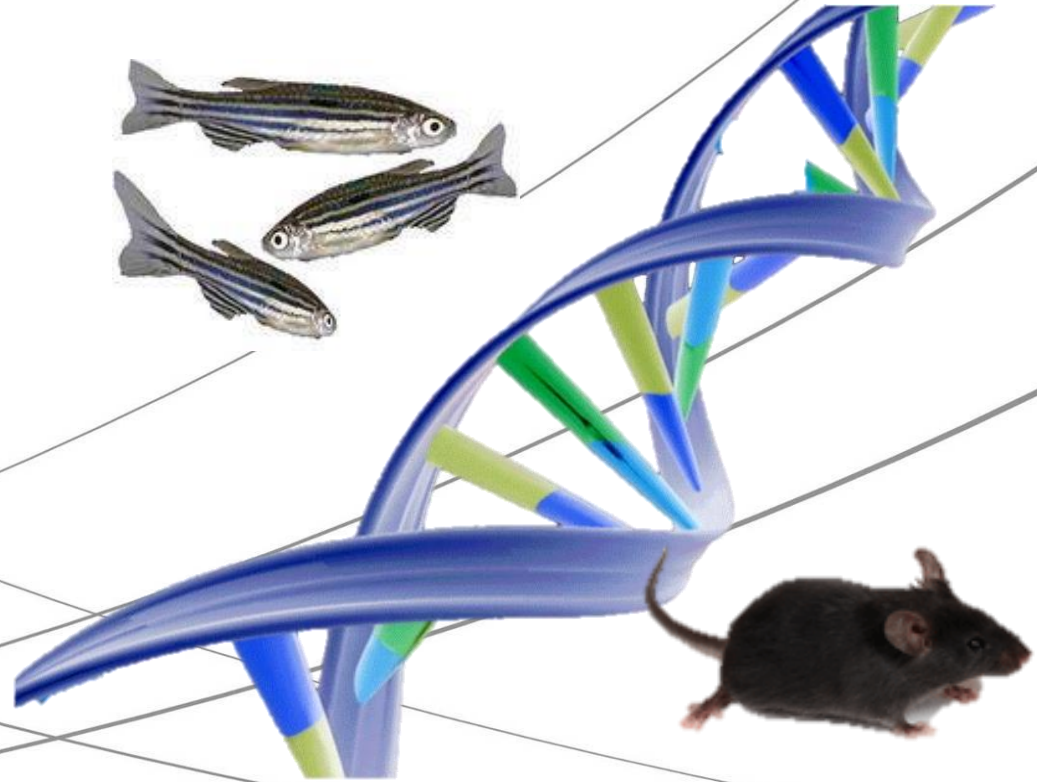
MultiNAの納入実績

官庁自治体大学の研究機関に
およそ500台



MultiNA

アプリケーション紹介



ノックアウト動物

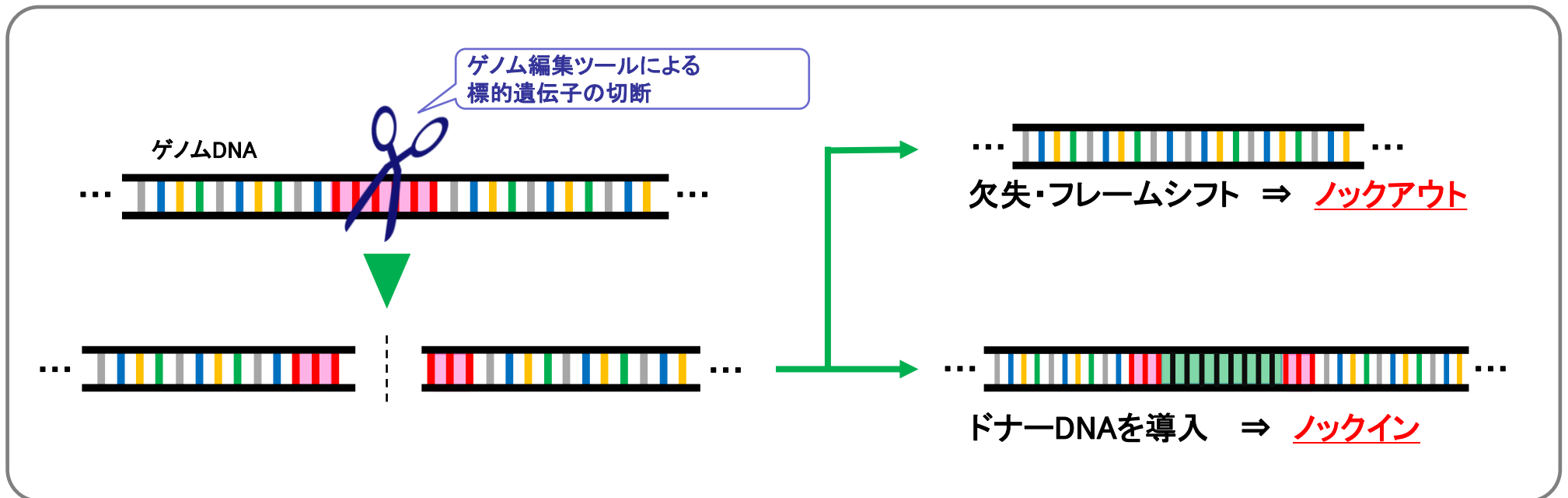
遺伝子ノックアウトの技法によって1個以上の遺伝子が無効化された動物



遺伝子の活動をノックアウトすることによって、正常な状態の遺伝子の働きについての情報が得られる。

ゲノム編集 (Genome Editing)

文字を加えたり削除したりする「文章の編集」と同様に遺伝子の配列を改変させる技術。ゲノム編集ツール(人口ヌクレアーゼなど)を用いてゲノム上の標的遺伝子の破壊(ノックアウト)や外来遺伝子の導入(ノックイン)などが可能



動物



植物



ES細胞 iPS細胞



ゲノム編集ツール

ZFN

1996 年～

(Zinc Finger Nucleases)

TALEN

2010 年～

(Transcription Activator-like Effector
Nucleases)

CRISPR/Cas9

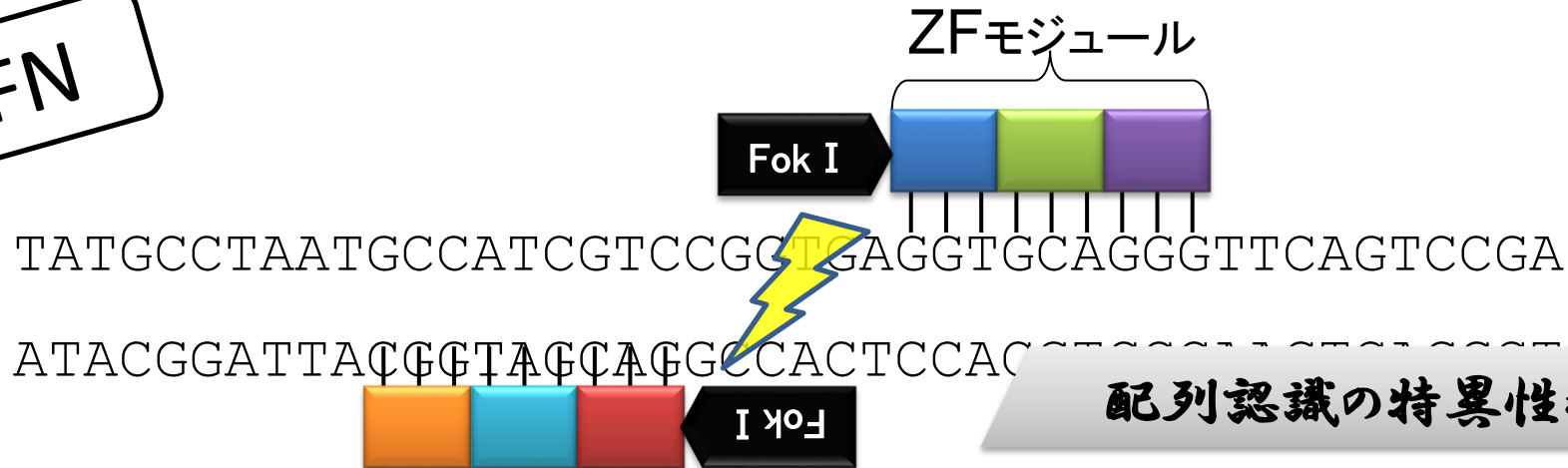
2013 年～

(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR
Associated protein9)

ZFNとTALEN → 人工ヌクレアーゼ

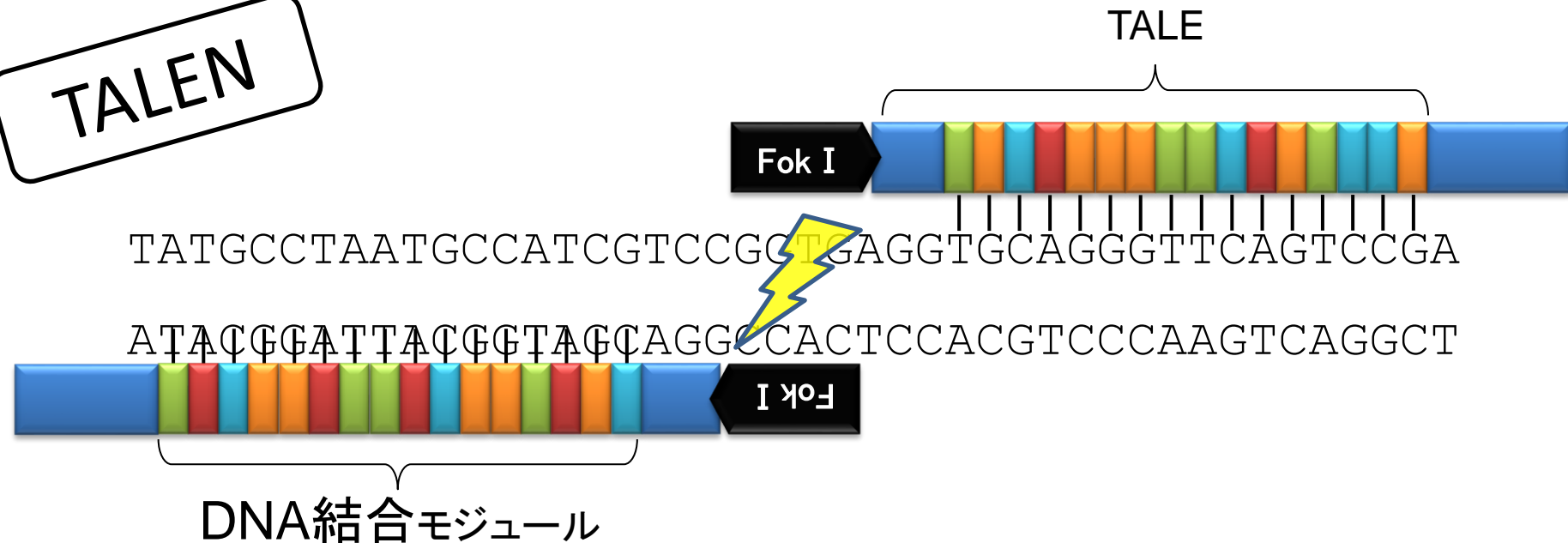
(Zinc Finger Nucleases)

ZFN



配列認識の特異性が低い

TALEN



CRISPR/Cas9 → RNA誘導型ヌクレアーゼ

(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR Associated protein9)

もともと細菌が持っている獲得免疫システムを応用したもの

CRISPR/Cas9

PAM配列

(Protospacer Adjacent Motif)

TATGCCTAATGCCATCGTCCGGTGAG **GTGCAGG** TTCAGTCCGA

ATA**CGG**ATTATCGGTTAG**CA**GGCCCACTCC**CA**CGTCCCAAGTCAGGCT

AUGCCUAAUGCCAUCGUCCGGUGAGGUGC

Cas9
nuclease

sgRNA

(single guide RNA)

ゲノムに導入した変異の検出方法

まずは標的部位周辺をPCRにより増幅する。

HMA

(Heteroduplex Mobility Assay、ヘテロ二重鎖移動度解析)

RFLP

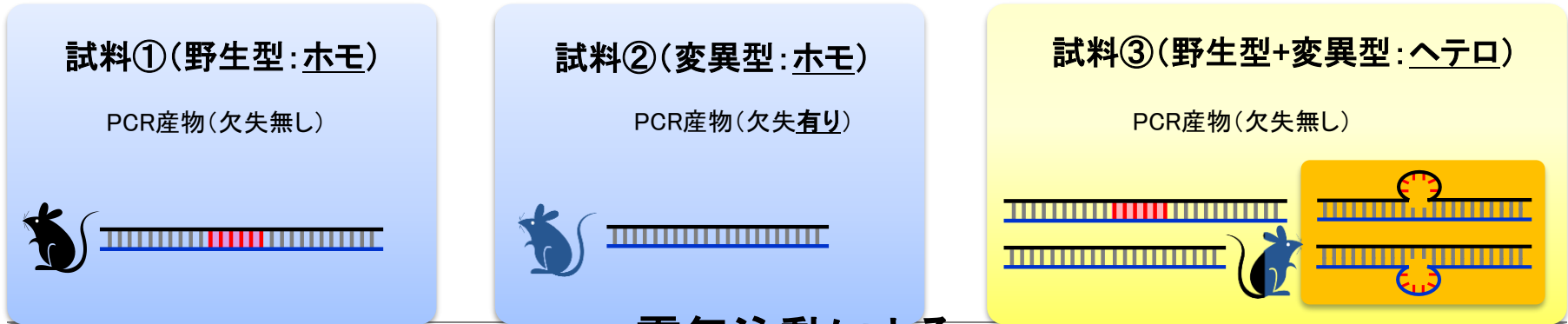
(Restriction Fragment Length Polymorphism、制限酵素断片長多型)

Cel I アッセイ

(遺伝子変異によるヘテロデュプレックスDNAのミスマッチを認識して切断する酵素)

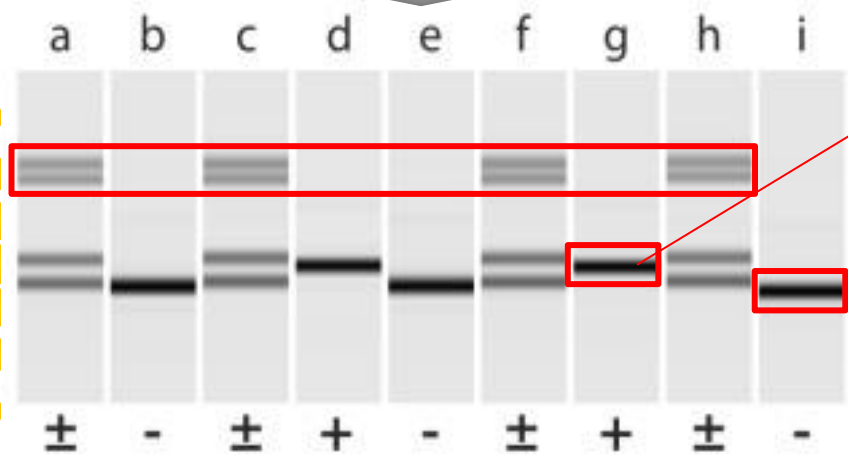
ゲノム編集

MultiNA×ヘテロ二重鎖移動度分析 (HMA) 例



電気泳動による

ヘテロ二本鎖を分離・検出



野生型:ホモのバンド

変異型(欠失):ホモのバンド

ヘテロ二本鎖のバンド

MultiNAでは

これが出る!

生物種の判定方法

加工された食品、カビなどの細菌などは
見た目では生物の種類が分かりません。



DNA分析による判定

食の安全・安心

近年

輸入食品、機能的食品、遺伝子組換え食品、食物アレルギーの増加、相次ぐ食品偽装事件の発生



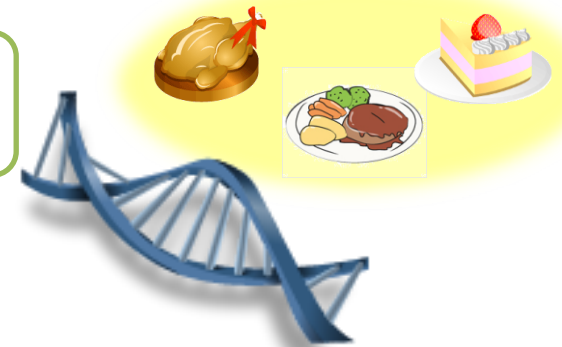
消費者の食に対する安全・安心への関心が高まっています。



迅速・簡便・正確な判別技術が求められています。

DNA分析による生物種の判定

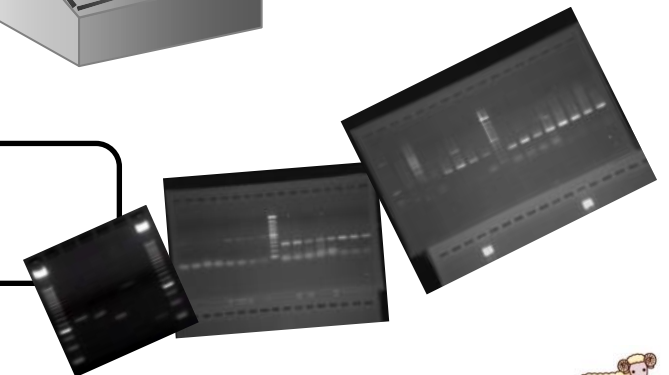
試料からDNAを抽出



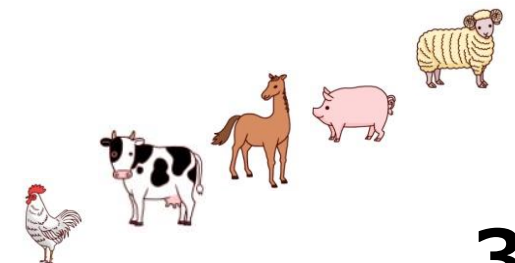
特定遺伝子の増幅反応(PCR法)



PCR増幅物のサイズを測定(電気泳動法)



生物種の判定



食品アレルギー

- 日本では世界に先駆けてアレルギーを含む食品表示制度が導入されています。
- アレルギー物質を含む食品の表示には「義務（7品目）」、「奨励（18品目）」があります。

表示	用語	名称
義務	特定原材料 (7品目)	卵, 乳, 小麦, そば, 落花生, えび, かに
奨励	特定原材料に 準ずるもの (18品目)	あわび, いか, いくら, オレンジ, キウイフルーツ, 牛肉, くるみ, サケ, サバ, 大豆, 鶏肉, バナナ, 豚肉, マツタケ, 桃, 山芋, リンゴ, ゼラチン

「えび」、「かに」のアレルギー表示は2010年6月完全施行されます。

- 特定原材料7品目のうち卵、乳以外の5品目についてはDNA分析(定性PCR法)による検出が可能です。

PCRキットが市販されています。

アレルギー物質の検出

【DNA抽出とPCR】

DNAの抽出方法とPCRの条件は

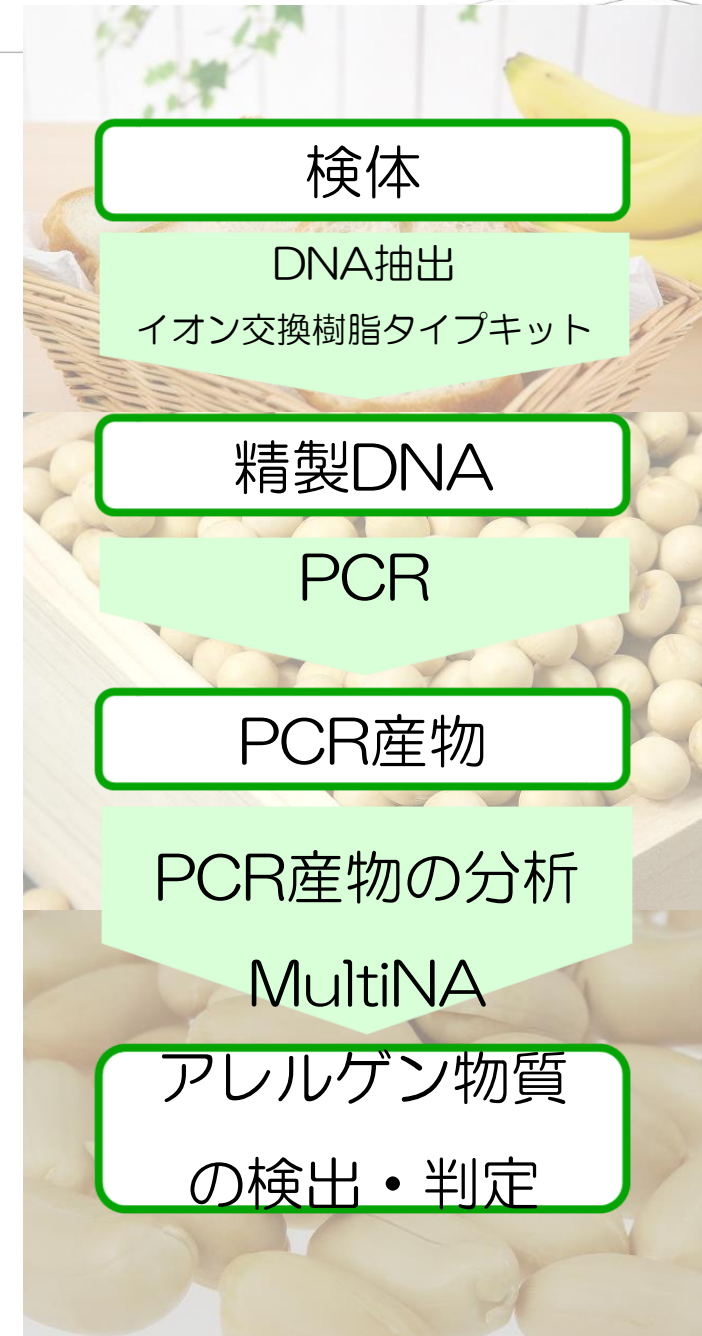
平成21年1月22日、食安発第0122001号「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」に従った。

小麦、そば、落花生、えび、かにがそれぞれ含まれる食品からDNAを抽出した。抽出は「イオン交換樹脂タイプキット法」で行った。

DNAの精製度の確認と定量は分光光度計“Biospec nano”を用いた。

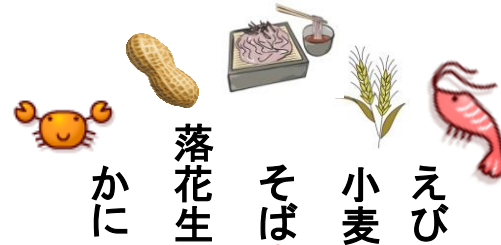
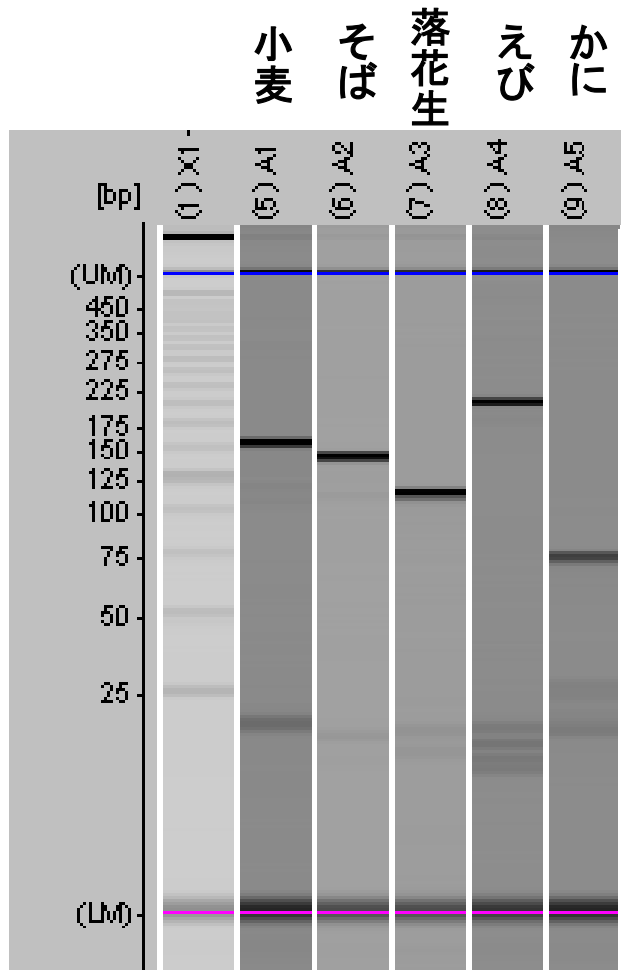
【MultiNA分析条件】

- DNA-500 Reagent Kit
(島津製作所) P/N292-27910-91
- SYBR® Gold nucleic acid gel stain
(インビトロジェン) S-11494
- 25bp DNAラダー
(インビトロジェン) 10597-011



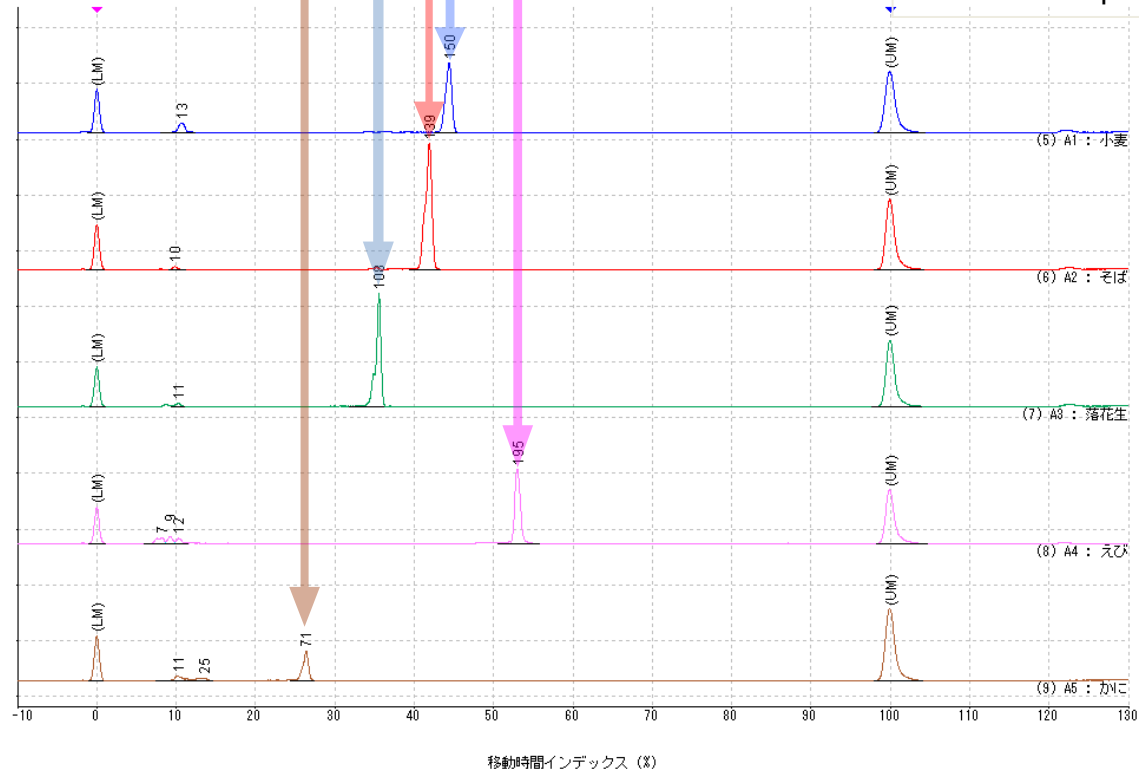
アレルギー物質の検出結果

- ◆ 食品中の小麦、そば、落花生、えび、かにを検出するPCRの増幅産物の分析結果 (ゲルイメージ、エレクトロフェログラム)



理論値

小麦	:141bp
そば	:127bp
落花生	: 95bp
えび	:187bp
かに	: 62bp



食肉偽装

食肉、特にミンチになった肉は外見からはどの動物由来の肉が使用されているのか分らない。

加工、調理されてしまうと更に分らない。



- 従来：免疫学的法（ELISAなど）可溶性蛋白分析法
加熱処理した加工食品や複数肉種混合に適用できない欠点あり
- 新法：ミトコンドリア DNAのシトクロム b 遺伝子を検出
肉種鑑別の応用の場合（松永らの論文など）
ミトコンドリアDNAは、各生物特有の遺伝学的特徴を有している。

食肉の肉種鑑別

【PCRのプロトコール】

PCRプライマー：

松永らの論文（日本食品科学工学会誌,
46(3), 187, 1999）を参考に塩基配列
を若干改変

試薬： Ampdirect®（島津製作所）
（新製品）Ampdirect Plus® 酵素セット
P/N 241-08890-92

【MultiNA分析条件】

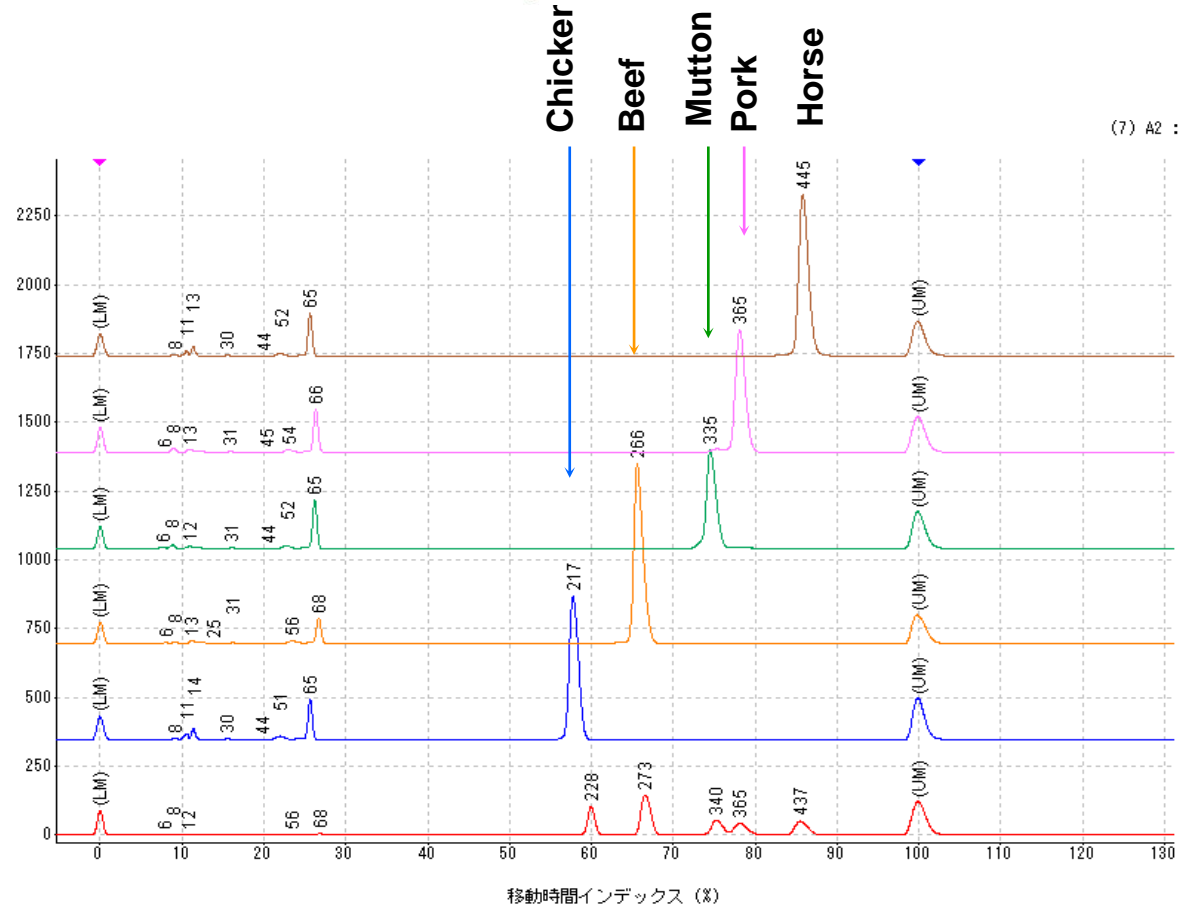
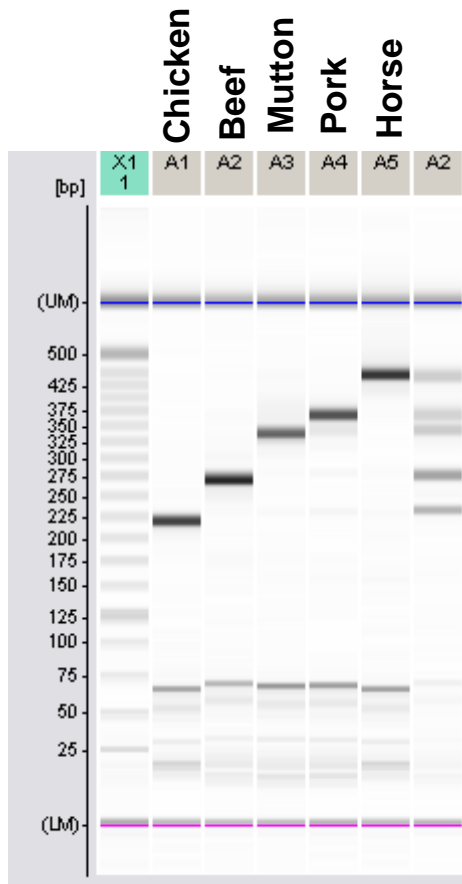
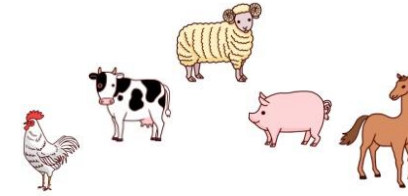
- DNA-500 Reagent Kit
（島津製作所）P/N 292-27910-91
- SYBR® Gold nucleic acid gel stain
（インビトロジェン）S-11494
- 25bp DNA ラダー
（インビトロジェン）10597-011

（注）Ampdirect® 試薬キットは旧製品になります。
新製品Ampdirect Plus® 酵素セットに関する
詳細な情報は、キット付属の取扱説明書を
ご参照ください。



迅速な肉種鑑別結果-その1-

- ◆ 食肉5種を鑑別するマルチプレックスPCRの増幅産物の分析結果 (ゲルイメージ、エレクトロフェログラム)

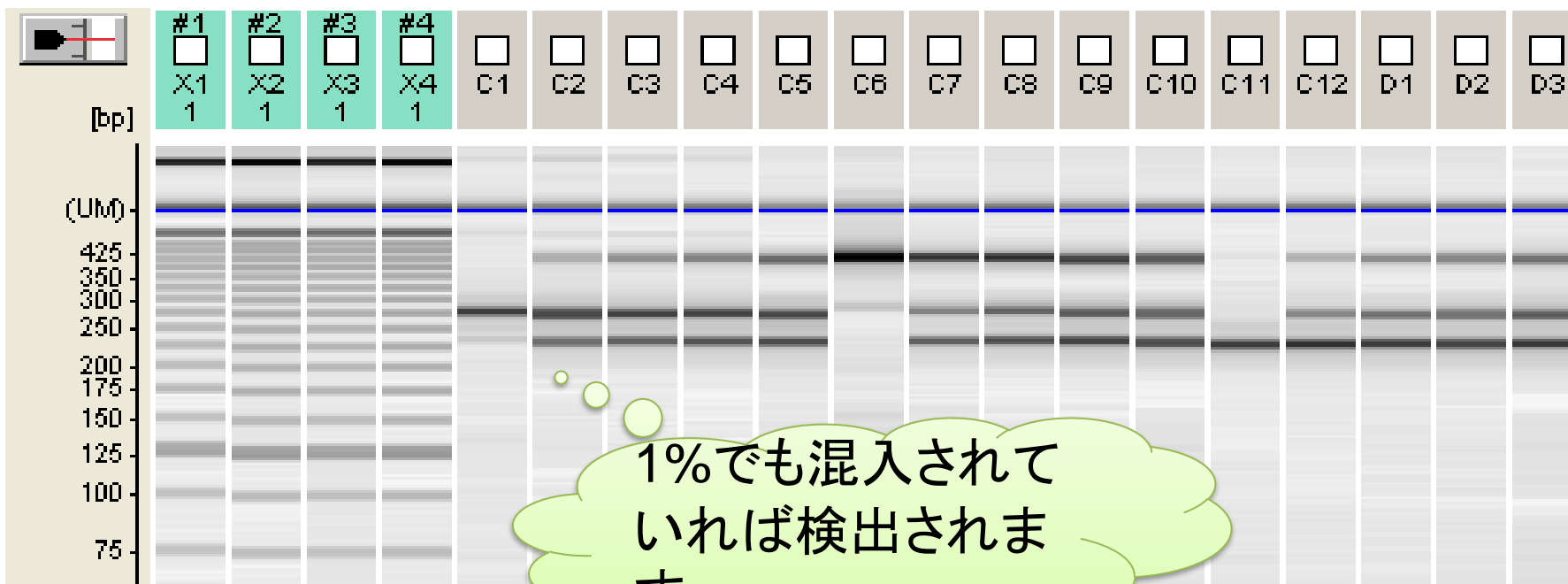


迅速な肉種鑑別結果-その2-

◆ 混合比を変えた食肉3種のマルチプレックスPCRの増幅産物の分析結果 (電気泳動イメージ)



Sample ID	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	D1	D2	D3
Pork (%)	0	1	5	10	20	100	98	90	80	60	0	1	5	10	20
Beef (%)	100	98	90	80	60	0	1	5	10	20	0	1	5	10	20
Chicken (%)	0	1	5	10	20	0	1	5	10	20	100	98	90	80	60



豚



牛



鶏

マグロの魚種判別

- JAS法により食品の名称、産地を正確に表示するよう義務付けられています。

マグロは生鮮、加工状態では外観での魚種判別が困難



流通過程での取違い、不正表示、偽装が問題



迅速・簡便・正確な魚種判別技術が求められています。

PCR-RFLP：(Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Polymorphism)

ミトコンドリアDNAに存在するマグロ特有の遺伝子配列を標的。PCRにより増幅したDNAを制限酵素で切断し、そのパターンから魚種を判定します。

PCR-RFLP法によるマグロ魚種判別

【サンプル】

太西洋産クロマグロ、ミナミマグロ、メバチマグロ α および β 、キハダマグロ、ビンナガマグロの魚肉片

【DNA抽出とPCR】

DNAの抽出方法とPCRの条件は

農林水産消費安全技術センターと水産総合研究センター中央水産研究所がマニュアル化した「マグロ属魚類の魚種判別マニュアル」(※)に従いました。

得られたPCR産物を制限酵素 (*Alu*I、*Mse*I、*Tsp509*I) で処理しました。

【MultiNA分析】

- DNA-500 Reagent Kit
(島津製作所) P/N292-27910-91
- SYBR® Gold nucleic acid gel stain
(インビトロジェン) S-11494
- 25bp DNAラダー
(インビトロジェン) 10597-011

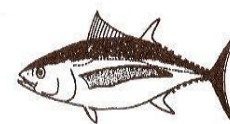
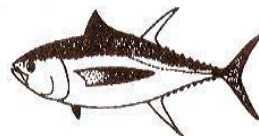
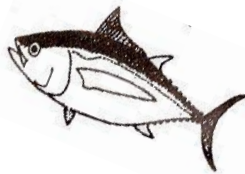
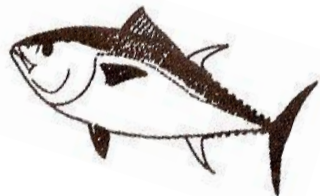
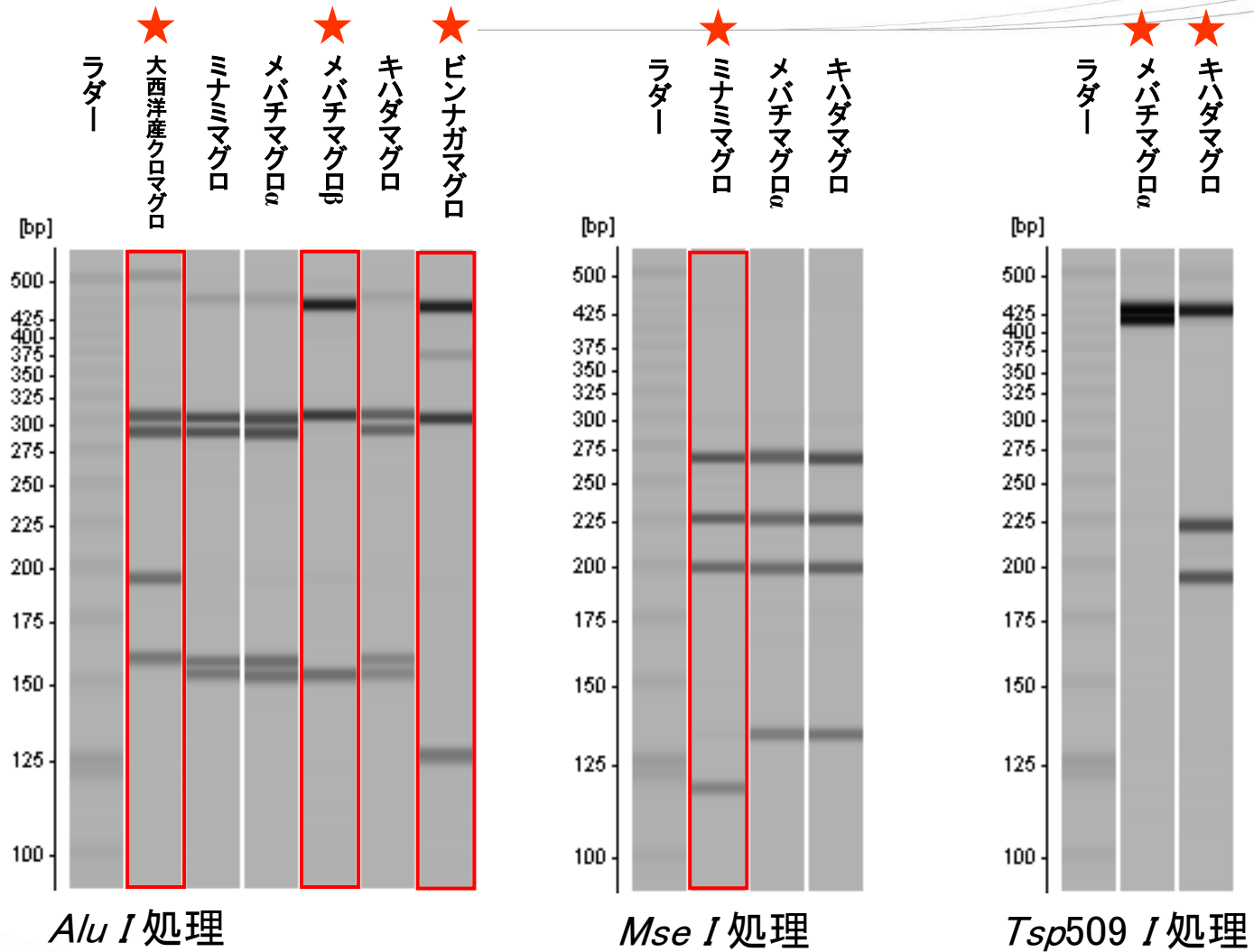
(※) マグロ属魚類の魚種判別マニュアル

(独立行政法人農林水産消費安全技術センター、独立行政法人水産総合研究センター)

http://www.famic.go.jp/technical_information/hinpyou/pdf/maguro_manual.pdf



マグロ魚種判別結果



コメの品種判別

- ◆ コメはJAS法によって品種、産地の表示が義務付けられています。
- ◆ 偽装表示が後を絶たないため表示内容を科学的に検証する技術が開発されています。



PCRにより品種特異的な遺伝子領域を増幅し、そのサイズを分析する方法が広く用いられています。

DNAの抽出からPCRまで行えるキットが市販されています。

コメの品種判別法

【DNA抽出】

- コメDNA抽出キット（精米20粒スケール）
（タカラバイオ株式会社）9103

【PCR】

- コメ判別用PCRキットI
（タカラバイオ株式会社）RR211A

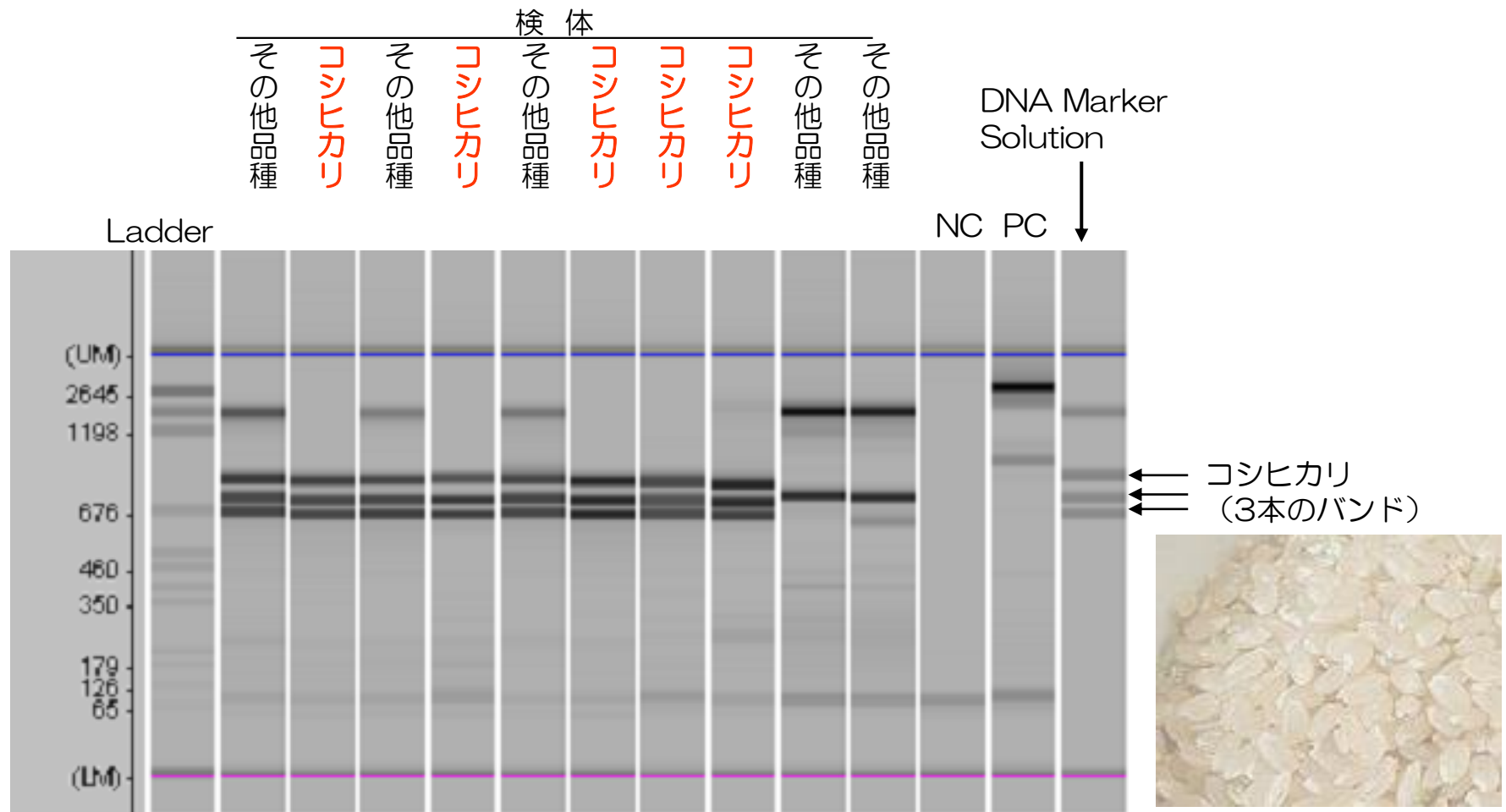
【MultiNA分析】

- DNA-2500 Reagent Kit
（島津製作所）P/N 292-27912-91
- SYBR® Gold nucleic acid gel stain
（インビトロジェン）S-11494
- pGEM® DNA Markers
（プロメガ）G1741



コメの品種判別結果

◆ コシヒカリとその他品種の判別分析結果（ゲルイメージ）



ウイルス性食中毒について

ウイルス性食中毒の原因

- ノロウイルス
- ロタウイルス
- サポイウイルス
- アデノウイルス
- アストロウイルス

国内ではほぼノロウイルスによるもの

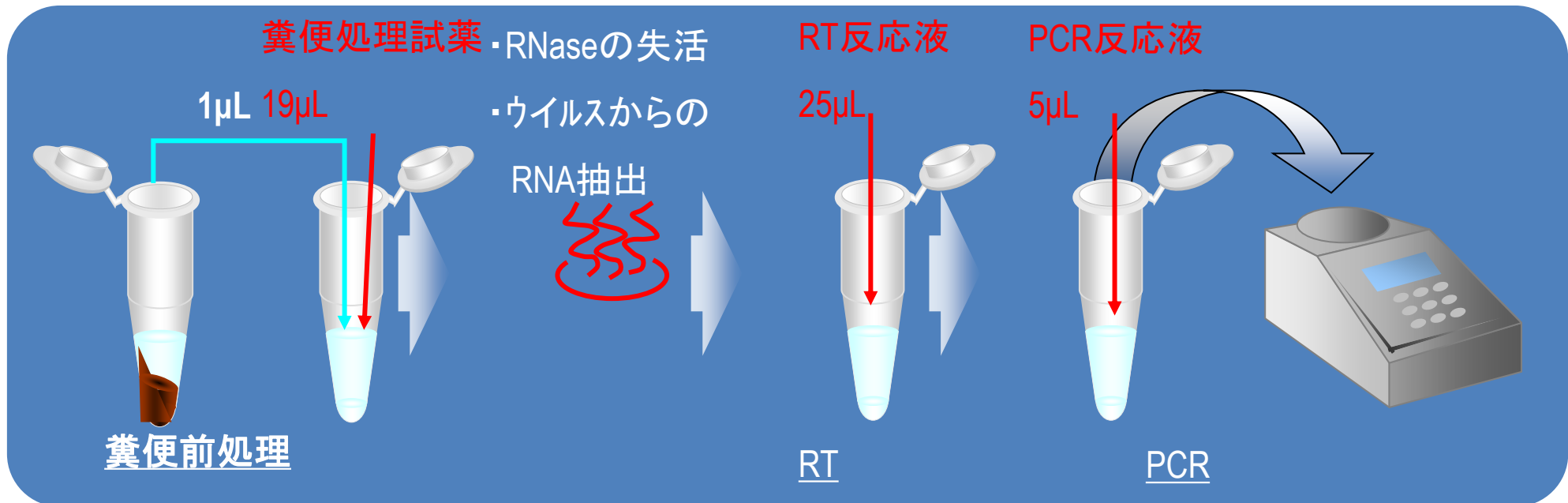
ノロウイルス

- ウイルス性急性胃腸炎の主原因
- 12月から1月をピークに流行
- 我が国における食中毒では多くの患者が発生
- 二枚貝（主にカキ）に付着
- ウイルスを保有している人から人への二次感染によって多くの患者が発生

ノロウイルスG1 & G2検出試薬キット

ノロウイルスは培養ができないので、検出には遺伝子増幅法が広く使われています。

糞便検体の簡便な前処理のみでRT反応からPCRまで迅速かつ簡便に結果が得られます。



ノロウイルス遺伝子の検出

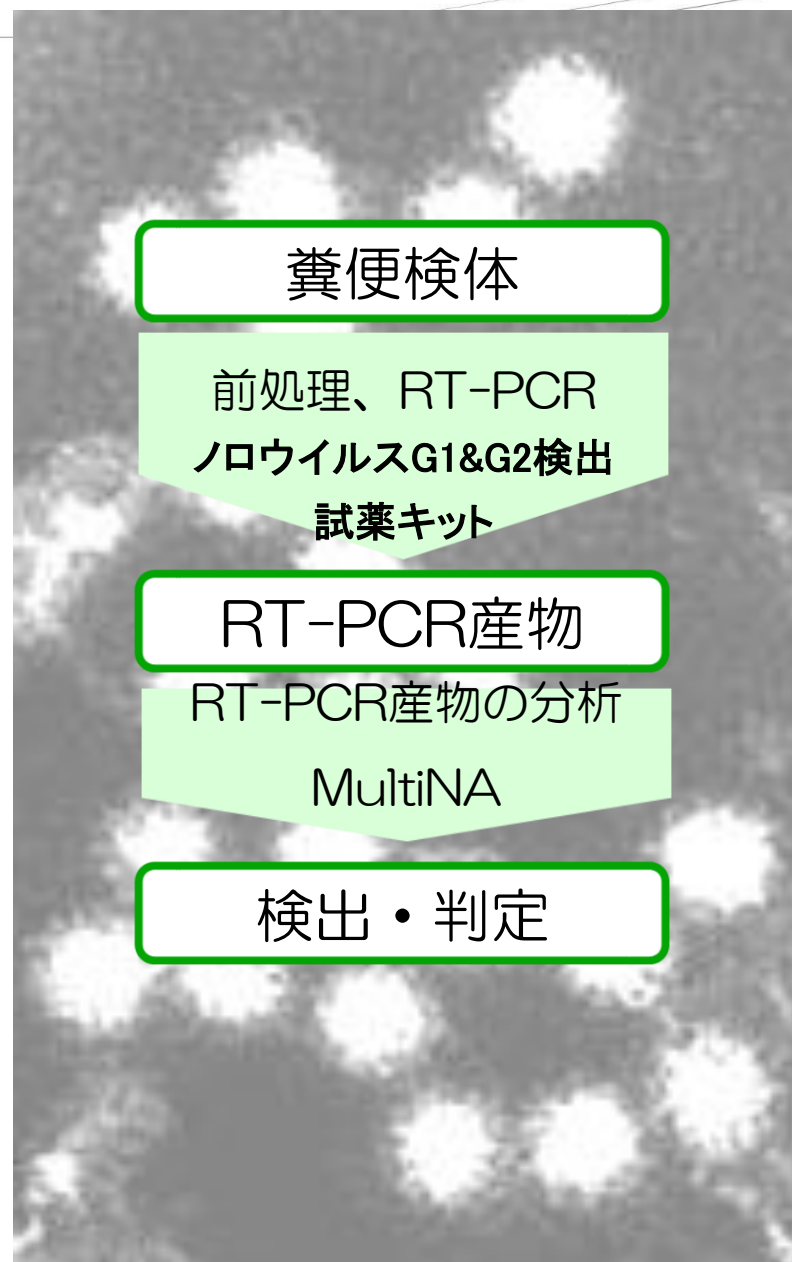
【RT-PCR】

試薬：ノロウイルスG1&G2検出試薬キット
(島津製作所) P/N 241-08991-91

【MultiNA分析条件】

- DNA-500 Reagent Kit
(島津製作所) P/N 292-27910-91
- SYBR® Gold nucleic acid gel stain
(インビトロジェン) S-11494
- 25bp DNA ラダー
(インビトロジェン) 10597-011

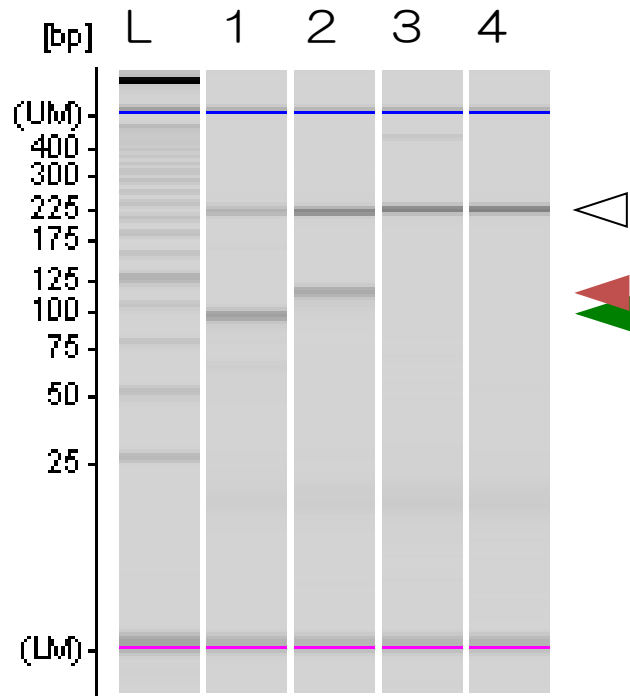
(注) ノロウイルスG1 & G2検出試薬キット
に関する詳細な情報は、キット付属の取扱説明
書をご参照ください。



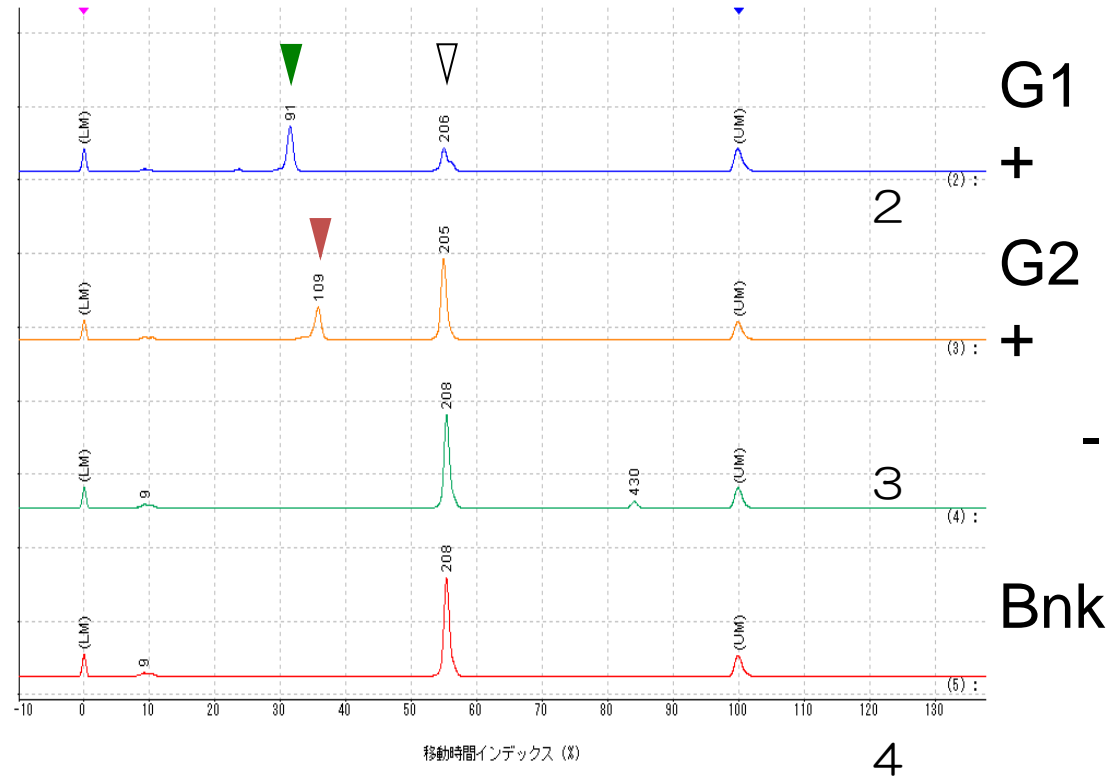
ノロウイルス遺伝子の検出結果

▶ : ノロウイルスG1 (85bp)
▶ : ノロウイルスG2 (101bp)
▷ : 内部コントロール (204bp - 211bp)

L : Ladder Marker (25bp DNA Ladder)
 Lane 1 : ノロウイルスG1陽性糞便
 Lane 2 : ノロウイルスG2陽性糞便
 Lane 3 : ノロウイルス陰性糞便
 Lane 4 : 蒸留水



ゲルイメージ



エレクトロフェログラム

DNA検査による異物(動物毛)の判定

食品、医薬品、化粧品などの製造過程において製品に異物が発見された場合



その正体を解明
衛生管理上、混入原因の解明や再発防止策の検討

異物の推定検査

- 顕微鏡観察によるものが一般的
- 専門知識と経験が必要なため、明確な判定結果を得ることは困難
- 特に動物毛については、その見た目からは種を判断することは困難



愛知県産業技術研究所食品工業技術センターは動物毛などの異物に対し、DNA検査により動物種を判定できる方法を開発

家畜6種（牛、豚、鶏、馬、羊、山羊）

ペット3種（犬、猫、兎）

ネズミ3種（ドブネズミ、クマネズミ、ハツカネズミ）の計12種

キットが市販
されています

DNA検査による異物(動物毛)の判定

【サンプル】

愛知県産業技術研究所食品工業技術センターからご提供いただいた牛、豚、鶏、馬、羊、山羊、兔、犬、猫、ドブネズミ、クマネズミ、ハツカネズミ

弊社で収集した毛サンプル：4種類の犬（柴犬、チワワ、コーギー、アフガンハウンド）、猫（ノルウェージャンフォレストキャット）、兔（ライオンヘッド）

【DNA抽出とPCR】

DNAの抽出方法とPCRの条件は愛知県産業技術研究所食品工業技術センターが開発した「動物毛のDNA 検査プロトコル」(※)に従いました。

【MultiNA分析】

- DNA-500 Reagent Kit
(島津製作所) P/N292-27910-91
- SYBR® Gold nucleic acid gel stain
(インビトロジェン) S-11494
- 25bp DNAラダー
(インビトロジェン) 10597-011

(※)動物毛のDNA 検査プロトコル

(愛知県産業技術研究所食品工業技術センター)

<http://www.pref.aichi.jp/cmsfiles/contents/0000016/16149/protocol0821.pdf>

特許出願番号 特願2007-240023

発明の名称 動物の識別用プライマーセット、およびプライマーキット

プライマーキットは愛知県の許諾の下、株式会社ベックスが製造・販売しています。

<http://www.bexnet.co.jp>

検体(動物の毛など)

DNA抽出

精製DNA

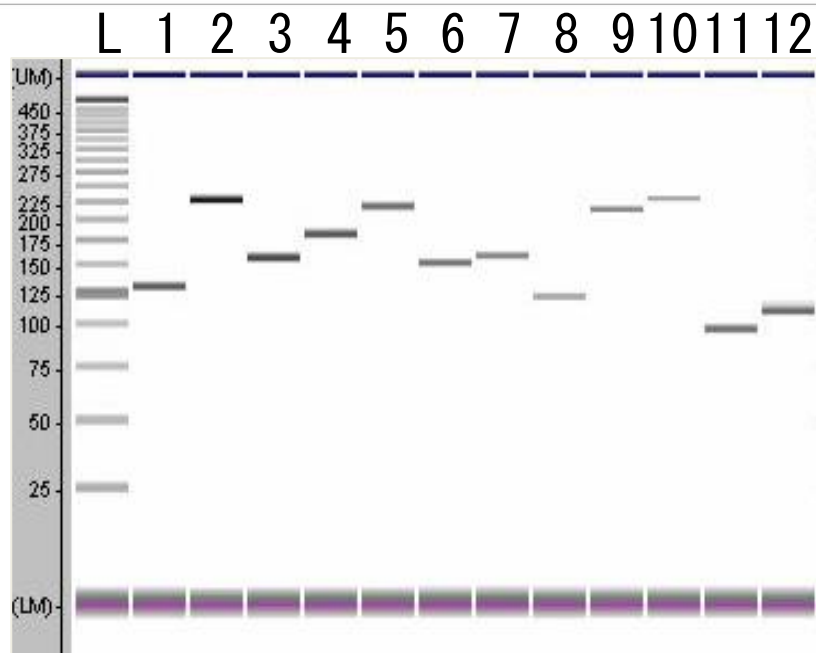
PCR

PCR産物
DNAの分析

MultiNA

動物種判定

DNA検査による異物(動物毛)の判定



- L : 25bp DNA Ladder
- 1 : 牛
- 2 : 豚
- 3 : 鶏
- 4 : 馬
- 5 : 羊
- 6 : 山羊
- 7 : 兎
- 8 : 犬
- 9 : 猫
- 10 : ドブネズミ
- 11 : クマネズミ
- 12 : ハツカネズミ



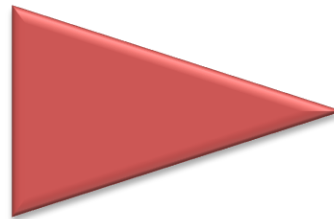
- L : 25bp DNA Ladder
- a : 犬 (チワワ)
- b : 犬 (コーギー)
- c : 犬 (アフガンハウンド)
- d : 犬 (柴犬)
- e : 兎 (ライオンヘッド)
- f : 猫 (ノルウェージャンフォレストキヤット)

MultiNA導入のメリット

従来法より高感度・高精度な分析に加えて

操作の自動化

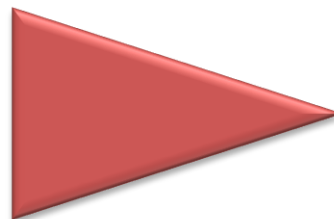
- 試薬の充填
- サンプルローディング
- 電気泳動
- 洗浄



作業の省力化
データ再現性の向上

データの数値化

- サイズ・濃度の算出
- 電子データとして保存



データ管理や結果比較が
容易

まとめ

当社のマイクロチップ電気泳動装置MultiNAは、

- 複数個のマイクロチップとロボティクスによる自動化により、迅速・簡便な電気泳動分析を実現します。
- 従来のアガロースゲル電気泳動法の操作の煩雑さ、結果のあいまいさを解消することができる
- DNA分析による「食の 安全・安心」のための様々な検査応用が可能



食品中のDNAレベルの品質検査（カビ・食中毒菌の検出、遺伝子組換え植物の定性分析、食品の品種判別など）に有用です。

アプリケーションノート

1. はじめに

① CRISPR/Cas System (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR associated protein) などと呼ばれるゲノム上での反復配列 DSB (Double-strand Break) (二本鎖切断) を導入するゲノム編集のための技術開発されました。TALEN はスクエアドメインを持つメタランシドナー等の、人工ヌクレアーゼ CRISPR/Cas System は RNA を介した RGEN (RNA-Guided Endonuclease) RNA 誘導型ヌクレアーゼ」とそれぞれ呼ばれています。② ①の技術、これら各技術に代わるゲノム編集技術の開発が期待されています。この技術をもたらした最大の利点の一つは、これまで5倍程度の存在するマウスなど動物に代わってマウスに代わって利用できるゲノム編集技術の開発が期待されています。③ ①の技術、これら各技術に代わるゲノム編集技術の開発が期待されています。この技術をもたらした最大の利点の一つは、これまで5倍程度の存在するマウスなど動物に代わってマウスに代わって利用できるゲノム編集技術の開発が期待されています。

1. はじめに

① 人工 DNA 切断酵素を基盤としたゲノム編集技術の発展は、創製動物においてパラダイムシフトをもたらした技術の一つであり、その多様な大規模な導入と多岐にわたります。人工 DNA 切断酵素の中でも、その開発から世界中の研究者が利用しているのが CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) / Cas システムです。このシステムは RNA 誘導型ヌクレアーゼ (RNA Guided Endonuclease; RGEN) である Cas と標的配列特異性 guide RNA (gRNA) から構成されます。gRNA は CRISPR RNA (crRNA) と trans-activating crRNA (tracrRNA) を組み合わせた DNA であり、crRNA の 20 塩基 (プロトスペーサー配列) が DNA 上の標的配列の特異性を決定します。その際、このゲノム上の標的配列 90 bp の下流 PAM (Protospacer Adjacent Motif (PAM)) と呼ばれる、NGG (N は任意の塩基) / Streptococcus pyogenes CasII の配列が必要となります。

●ご清聴ありがとうございました。



共同研からのご案内

▶ MultiNAによるDNA電気泳動解析(受託サービス) 受付中

サイズを決定したいDNAサンプルをご提出ください。担当職員がMultiNAを用いて解析し、データファイルを返却します。

詳細は共同研ホームページの受託サービスをご確認ください。

<https://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/ctrlab/service/MultiNA/>



▶ 申し込み方法

共同研MyPageにログイン後、MultiNAのオンライン受付ページにて必要事項を入力し、お申込みください。

▶ サンプル提出

【提出時間】月曜日～木曜日 9:30～16:00 金曜日および休前日 9:30～12:00(祝日を除く)

【提出場所】共同研究棟7階 管理室(D71-03)

担当:後藤(内線3594)