

様 式 C - 7 - 1

## 平成 2 4 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 

3	2	6	9	2
---	---	---	---	---

      2. 研究機関名 東京工科大学
3. 研究種目名 基盤研究(C)      4. 補助事業期間 平成 2 2 年度 ~ 平成 2 4 年度
5. 課題番号 

2	2	5	0	1	0	3	7
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題 DNAメチル化のピンポイント検出法の開発

## 7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
0 0 3 6 7 1 9 5	カトウ テル 加藤 輝	応用生物学部	准教授

## 8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

## 9. 研究実績の概要

ヒトゲノム中のシトシンのピンポイントなメチル化検出法の開発  
 昨年度までに確立した、リアルタイムPCRを用いた2本鎖DNA中のシトシンのピンポイントなメチル化検出法により、ヒトゲノム中の1塩基のシトシンのメチル化検出を試みた。ヒトゲノムサンプルとしてTakara社製のメチル化/非メチル化ヒトゲノムDNAを用いた。はじめに腫瘍抑制遺伝子RB1の部分配列（79mer）を標的DNAとし、メチル化を解析したい特定のシトシンがthree-way junction (TWJ) 構造の分岐点上に位置するように設計したプローブDNAを結合させた。TWJ構造を形成させた標的DNAを亜硫酸水素ナトリウムとアミノオキシ化合物で化学修飾した後、リアルタイムPCRを行い未修飾の標的DNA量を定量した結果、分岐点上の塩基がシトシンの場合とメチルシトシンの場合で未修飾の標的DNA量に有意な差は見られなかった。そこで、プローブやPCRプライマーの濃度、ゲノムDNAの熱変性の方法などを変更し、未修飾の標的DNA量に有意な差が生じる条件を検討したが、メチル化/非メチル化を識別できる条件は見いだせなかった。すなわち、ゲノムDNA中の1塩基のシトシンのメチル化検出は困難であった。

## 10. キーワード

(1) メチルシトシン

(2) メチル化DNA

(3) エピジェネティクス

(4) がんマーカー

(5) 腫瘍マーカー

(6)

(7)

(8)

## 11. 現在までの達成度

(区分)

(理由)

24年度が最終年度であるため、記入しない。

## 12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

24年度が最終年度であるため、記入しない。

## 13.研究発表(平成24年度の研究成果)

〔雑誌論文〕計(0)件 うち査読付論文 計(0)件

著者名		論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					

〔学会発表〕計(3)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名		発表標題		
高梨健太, 加藤輝		リアルタイムPCRによるメチル化DNAのピンポイント検出		
学会等名	発表年月日	発表場所		
日本化学会第93春季年会	2013年03月23日	立命館大学びわこ・くさつキャンパス(滋賀県草津市)		

発表者名		発表標題		
高梨健太, 加藤輝		メチル化DNAのピンポイント検出法の開発		
学会等名	発表年月日	発表場所		
第35回日本分子生物学会年会	2012年12月13日	福岡マリンメッセ(福岡県福岡市)		

発表者名		発表標題		
Kenta Takanashi, Teru Kato		Development of a method for the pinpoint detection of methylated DNA		
学会等名	発表年月日	発表場所		
The 39th international Symposium on Nucleic Acids Chemistry	2012年11月15日	名古屋大学(愛知県名古屋市)		

(図書) 計( 0 )件

著者名	出版社			
書名			発行年	総ページ数

## 14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計( 0 )件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計( 0 )件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

## 15. 備考

--