

High-throughput SNP Typing技術のご紹介

I. 本技術の特徴

当社は、Exonuclease Cycling Assay法をベースにしたhomogeneous SNP typing技術を開発しました。(特許出願中:WO 2006/061994)

簡便

検体はPCRによる増幅産物です。PCR産物の前処理は一切不要で、直接2種類の試薬を添加し、37℃でインキュベートするだけのhomogeneous assay法です。反応にはマイクロプレートが使用可能。High-throughputな自動化システムの構築が容易です(図1)。試薬構成がシンプルです(2試薬)。

迅速

反応開始後、30分のエンドポイント蛍光測定にて判定します。リアルタイム蛍光測定により更なる短時間化が可能です。

低コスト

現在の試薬の原料コストは1 SNPあたり10~20円です。量産化により、数円/SNP程度を目指します。

用手法でのアッセイに必要な装置は汎用性の高いもの(サーマルサイクラーと蛍光プレートリーダー)のみです。

II. アッセイ例

NAT2 Genotyping

N-acetyltransferase 2 (NAT2)は抗結核薬イソニアジドの代謝に関与する酵素で、日本人ではNAT2*4 (WT), *5, *6, *7の4つの遺伝子型の存在が知られており、3つのSNPsを決定することで、これらを全て同定することができます。

本法によるヒトゲノムDNAのtyping結果は非常に明瞭であり(図2)、すべてdirect sequencing法によるタイピング結果と一致しました。

BRAF Mutant Sequence Detection

プロトオンコジーンの一つであるBRAFの正常な配列と変異型の配列を混合したサンプルを使用した試験により、正常DNA中に含まれるわずか2%の変異型BRAF配列を検出できることが示されました(図3、矢印)。

同じ混合サンプルを使用してリアルタイム蛍光測定を行った結果を図4に示します。この結果より、rate assayも可能であることが示され、アッセイ時間の更なる短縮が可能であると考えられました。

III. 当社の目標

血液検体の採取から判定まで**30分以内**で完了するhigh-throughput SNPタイピングシステムの開発を目指します。

SNPタイピング反応

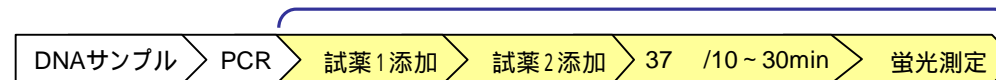


図1. アッセイ手順

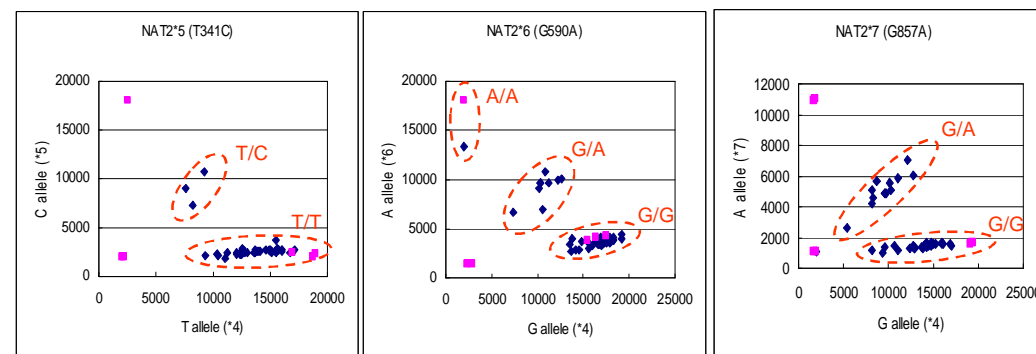


図2. ヒト検体のNAT2 genotypingの例 (●:ヒトゲノムDNA, ○:コントロールDNA)

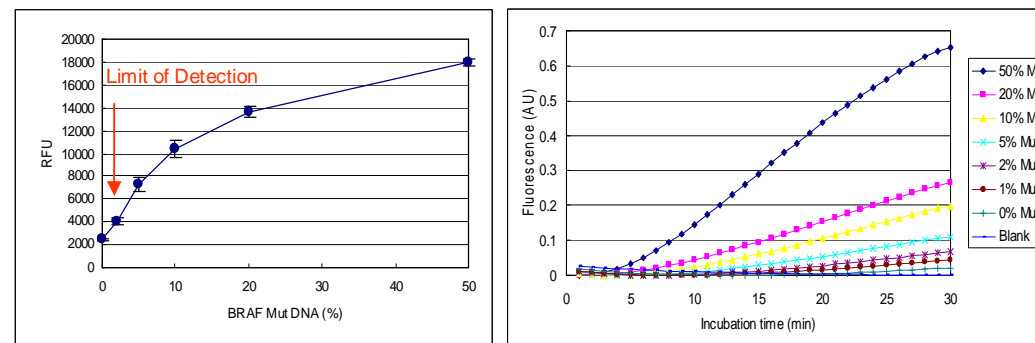


図3. 野生型 / 変異型混合DNAからの変異型BRAF配列の検出 (n = 4, mean ± SD). 反応時間:30分。エンドポイント測定。

図4. 野生型 / 変異型混合DNAからの変異型BRAF配列の検出 (n = 4). 30分まで1分毎にリアルタイム測定。

2007年1月

詳細につきましては下記までお問い合わせ下さい

株式会社ジーンケア研究所 テーラーメイド医療研究部

担当: 山本 健

〒247-0063 神奈川県鎌倉市梶原200

Tel: 0467-46-9590(代) Fax: 0467-45-2871

E-mail: tyamamoto@gene-care.co.jp

URL: <http://www.we-care-gene.com>