



一塩基多型を検出する方法および 試薬キットに関する技術

大阪大学産業科学研究所 教授・中谷和彦

技術概要

●特徴

ヘアピンプライマーと競合するコンティタープライマーを組み合わせるCHP法(コンペティティブヘアピンプライマー法)に関する技術で、テンプレート上の一塩基多型(SNP)の塩基とマッチもしくはミスマッチするヘアピンプライマーとコンティタープライマーを用い、両者とテンプレートで生じる優先結合と続きポリメラーゼ反応の効率の違いを利用し、蛍光強度をモニタリングすることで、信頼性のあるSNP検出を簡便にできることを特徴。

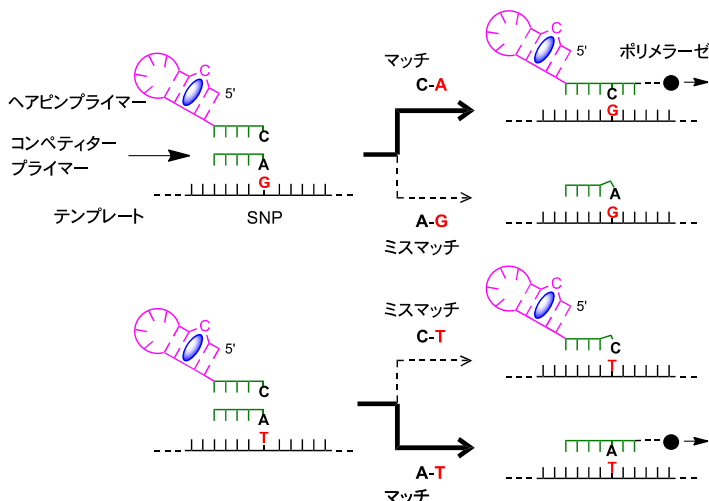
●背景

一塩基多型(Single Nucleotide Polymorphism: SNP)の検出にはリアルタイムPCR法等の核酸を増殖する方法が用いられているが、信頼性のあるSNPの検出結果を得るために、PCRの最中にプライマーを検出対象のSNPが存在するテンプレートに特異的に結合させることが必要。このため、プライマーを一旦設計し、さらに、アレル特異性が最も高くなるようプライマー配列やPCR条件を厳密に最適化するなど、テンプレート毎に個別対応する必要があった。

●従来技術との比較

✓ CHP法を用いることで、非検出対象のテンプレートの増幅にヘアピンプライマーが用いられることを防ぐことができ、蛍光分子の蛍光強度をモニタリングすることで確認可能。

✓ CHP法において、コンペティタープライマーを5'末端側に1塩基~3塩基長くすることで、偽陽性の発生を顕著に抑制でき、ヘアピンプライマーのアレル特異性を顕著に向上。



実用化イメージ

●実用化イメージ

- ✓ 一塩基多型を検出するための試薬キット
- ✓ 患者ベッドサイド等における最適治療法、投薬法等の診断を可能とするテーラーメイド医療

知財状況

●公開情報

・特開2011-182763「一塩基多型を検出する方法および試薬キット」

※参考文献

Competitive allele-specific hairpin primer PCR for extremely high allele discrimination in typing of single nucleotide polymorphism, *ChemBioChem* 2012, 13, 1409-1412.

研究者からの一言

ヘアピンプライマーPCR法の応用例。PCRを行い、そのまま蛍光強度を測定するだけで、SNPタイピングが可能です。アレル特異的PCR法の選択性を極めた方法で、私が見る限り最も簡単で確実なSNPタイピング法です。プライマーが消費されることが蛍光強度変化に繋がる、HP-PCR法の特徴が活かされています。

研究者情報

部局・専攻: 産業科学研究所・第3研究部門精密制御化学研究分野
役職・氏名: 教授・中谷和彦
研究室URL:
<http://www.sanken.osaka-u.ac.jp/labs/rbc/index.html>