

演題名 遺伝子多型解析への gFCS 法の応用

氏名 ○近藤 聖二、佐藤 和久、田邊 哲也、中村 誠

所属 オリジナル株式会社 バイオ開発1部

gFCS 法 (Gene analysis by Fluorescent Correlation Spectroscopy) は、蛍光相関分光法 (Fluorescent Correlation Spectroscopy) による遺伝子解析法の名称であり、蛍光物質で修飾したプライマーを用いて PCR 反応を行い、PCR 反応の進行を、蛍光ゆらぎの測定により検出する遺伝子解析方法です。

【主な特徴】

1. ホモジニアスな系

溶液中の微小領域(約 1 fL)の蛍光のゆらぎを蛍光相関分光法¹により解析し、分子運動の差から分子量の差として、PCR反応の進行を測定します。PCR溶液を希釈するのみの簡便な操作で計測が可能です。また、蛍光相関分光法はタンパク質相互作用など幅広い応用が可能な測定方法です。

2. 簡便な操作性

各ステップでの精製・分離は不要で、前段階の反応物を持ち込むだけで反応するように調整されています。また、測定装置の光学系の調整は自動化されており、プレートをセットし測定条件を指定するだけで測定ができます。

3. 使用実績

約 3000SNPsの試薬を設計、調整しており、gFCS法で多くの多型の解析が行われています。大量の検体を扱う多型解析センターでの利用実績があります²。

4. 定量性

PCRのエンドポイントの測定で、変異率の半定量的な解析が可能です³。

【サンプル必要量】

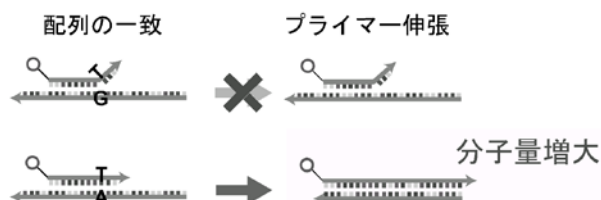
体細胞変異の解析: ゲノム DNA 20 ng ~

SNP 解析: ゲノム DNA 5 ng ~

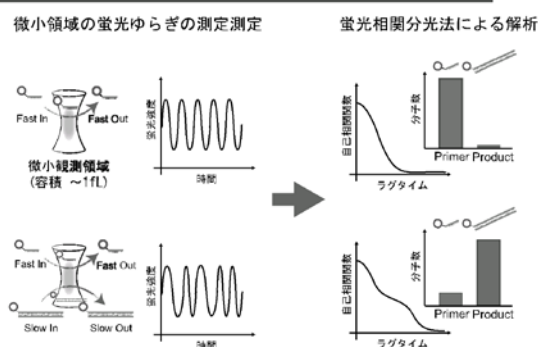
【gFCS 法 反応フロー】

gFCS 法では蛍光標識した配列特異的プライマーを用いて、伸長反応を行い、プライマー伸長反応産物を蛍光相関分光法により検出します。

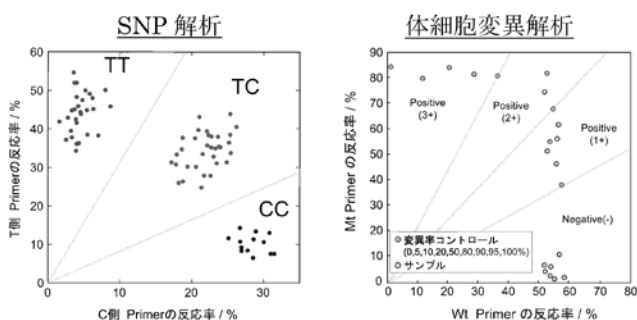
識別反応



蛍光ゆらぎの測定と解析



【測定例】



【文献】

1. Palo K, Kask P. Fluorescence Correlation Spectroscopy. 396-409 (2001)
2. 西田 奈央, 徳永 勝士, 'ゲノム研究実験ハンドブック' 羊土社. 139-144 (2005)
3. Ohyashiki K, Aota Y, Akahane D, Gotoh A, Miyazawa K, Kimura Y, Ohyashiki JH. Leukemia. 2005 Dec;19(12):2359-60