

30-0551 W35-5

ELISA チップを用いた薬剤反応性関連遺伝子 SNP 検出法の開発

○海老澤 愛子¹, 平塚 真弘¹, 松原 洋一², 呉 繁夫², 曾家 義博³, 岸羽 暁子¹, 作山 佳奈子¹, 佐々木 崇光¹, 金野 由美子¹, 水柿 道直¹ (¹東北薬大,²東北大院医,³東洋紡績)

【目的】近年、ゲノム情報を利用して患者個々に最適な薬物療法を行うテーラーメイド医療の展開が期待されている。その実現のためには簡易迅速な SNP 検出法の開発が必須である。そこで、薬剤反応性関連遺伝子の SNP 検出について PCR 後の煩雑な操作を必要としない SNP 検出 ELISA チップを利用したベッドサイド遺伝子診断法の開発を行った。

【方法】我々が以前開発した Competitive Allele-Specific Short Oligonucleotide Hybridization (CASSOH) 法を利用した。つまり FITC 標識したプライマーを用いて、SNP を含む領域を PCR 増幅した。また、反応液中には複数ヶ所に Biotin 標識したアレル特異的検出プローブと未標識競合プローブを添加した。PCR 後、温度を段階的に低下させると、SNP が存在する場合、FITC 標識された PCR 産物に完全に相補的な Biotin 標識プローブがハイブリダイズし、FITC と Biotin のダブルラベル化体となる。SNP が存在しない場合はダブルラベル化体を生成しない。得られた反応物を SNP 検出 ELISA チップ (TOYOBO) に添加すると、反応物がダブルラベル化体の場合のみ青色に着色する。

【結果・考察】アミノグリコシド系抗生物質による難聴発症に関連するミトコンドリア DNA 1555A>G 変異の検出について検討した結果、1555A の DNA においては野生型検出プローブを使用した時のみ SNP 検出チップが青色に着色し、1555G の DNA においては変異型検出プローブを使用した時のみ青色に着色し、視覚的な遺伝子型の判別が可能であった。現在、他の薬剤反応性関連遺伝子の SNP 検出系についても検討中である。