

遺伝子特異的非バイアス増幅法

サンプル中のコピー比率を変えずに、目的遺伝子群の増幅や配列解析が可能です！

概要

T細胞受容体(TCR)レパートリー解析に代表される網羅的遺伝子発現解析では、cDNAライブラリを鋳型とするPCR増幅において目的遺伝子群のみに特異的で、かつその中でも特定の遺伝子にのみに偏らない非バイアスな増幅産物を得ることが重要である。従来、cDNAライブラリ作成時に付加するアダプターの配列を利用する増幅や、制限酵素で該アダプターを処理して特異性の上昇を試みる手法が開発されてきたが、過剰な未反応(残存)アダプターや不十分な酵素処理(消化)が影響し、特異的で非バイアスな増幅産物の取得には課題が残されていた。

本発明は、複数のウラシルを有するアダプターの採用と、アダプター導入後のcDNAへのウラシルDNAグリコシラーゼ(UNG)処理の採用により達成される特異的非バイアス遺伝子増幅法(図1参照)に関する。

効果

TCRシーケンス成功率を指標として、TCRレパートリー解析に本発明を用いた効果を従来のアダプターライゲーション増幅法と比較した。本発明では、TCR特異的な増幅はもちろん、十分なリード長とリード間オーバーラップ域を確保できる増幅とシーケンシングによる確かなTCR解析を達成でき、従来法より顕著に優れていることが確認された(図2参照)。

本発明はサンプル中のコピー比率を変えないシーケンシングを可能にするため、TCRレパートリー解析のほかRNA seq解析、腸内細菌叢解析、環境DNA(セルフリーDNA)解析などにも利用できる。またそのためのキット化は、通常のPCR用キットにUNG含有アダプターとUNGを追加して達成できる。

特許データシート

出願番号(整理番号): WO2016/136716(T14-107)

発明者: 小笠原康悦

出願人: 東北大学

図1. TCRレパートリー解析に本発明を用いた場合の特異的非バイアス増幅のしくみ

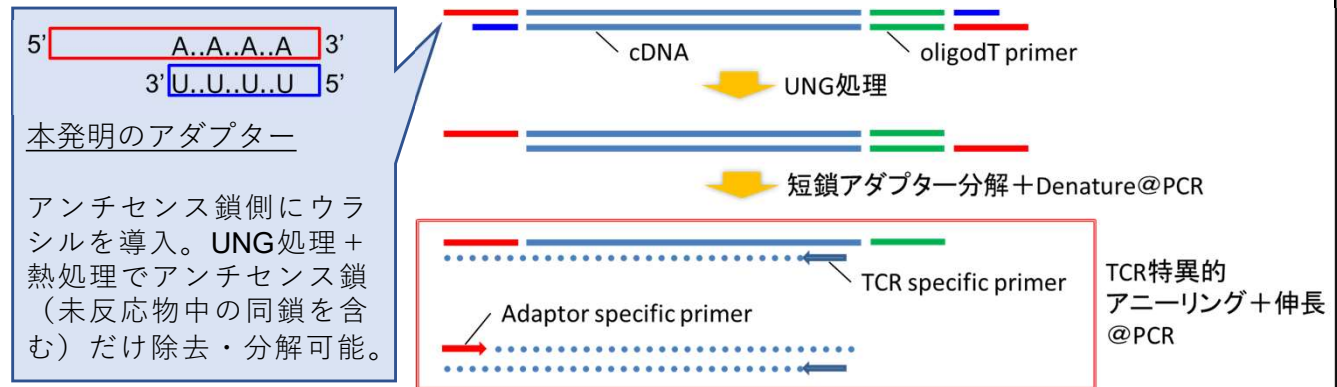


図2. TCRシーケンス成功率(=マージ成功率 × TCR成功率)の比較

		overlap			TCR			
		総リード数	マージ数	成功率(%)	解析リード数	成功数	失敗数	成功率(%)
 東北大学	sample21	142955	126106	88.2	10000	9838	162	98.4
	sample61	219646	193596	88.1	10000	9575	425	95.8
	Average	181301	159851	88.2	10000	9707	293	97.1
X社	T11	164995	16370	9.9	10000	8966	1034	89.7
	T12	416040	24999	6.0	10000	6023	3977	60.2
	Average	290518	20685	8.0	10000	7495	2505	75.0

東北大学 : **85.6%** >>>>>> X社 : **6.0%**

連絡先

株式会社 東北テクノアーチ

TEL 022-222-3049 FAX 022-222-3419

お問い合わせは、[こちら](#) からお願い致します。