

呼吸器疾患、COVID-19重症化の原因となる変異を検出！ α1-アンチトリプシン遺伝子変異検出キット

製品概要

α1-アンチトリプシン (AAT) は、肝臓で合成される糖タンパク質で、血流を介して肺内に拡散され、肺胞壁の障害を防ぐ作用があります。血中のAATが欠乏すると、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) や肺気腫などの重篤な呼吸器系疾患や肝障害の発症につながります。また、近年の疫学調査では、AATの欠乏が新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の重症化及び死亡に関連することも示唆されています¹⁾。

AATの欠乏は、AATの遺伝子変異によって引き起こされます。AATの代表的な遺伝子変異は「PiS」、「PiZ」の2種類で、従来ゲノムシーケンズや蛍光標識プローブを使用したリアルタイムPCRで検出されていますが、試薬が高額であったり、試験プロセスが煩雑などの課題がありました。

本品は、当社独自開発のプライマーとインターカレーション法を組み合わせ、PiS、PiZ遺伝子点変異を高感度かつ迅速に検出できるキットです。

特長

- ✓ 鼻咽頭拭い液および唾液から**精製なし**で直接検出可能
- ✓ 判定が容易
- ✓ **約70分**で測定完了！
- ✓ **インターカレーター**を用いたリアルタイムPCR法を採用

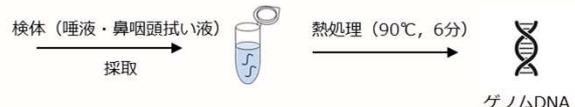


製品の的外観

操作方法

①検体の前処理

唾液・拭い液を熱処理 (90°C、6分) し、ゲノムDNAを抽出



②1st RT-PCR (約30分)

変異部位を含む領域で RT-PCR 増幅

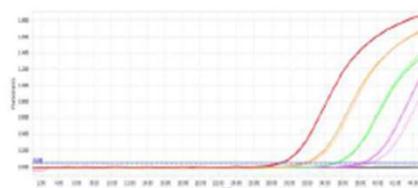
1st PCR		
Pre-denature	98°C	20秒
Denature	98°C	8秒
Annealing & Extension	68°C	10秒
		36サイクル
計	30分	



③2nd qPCR (約40分)

1st PCRで増幅させたDNAの発光強度をモニタリング

2nd PCR		
Pre-denature	98°C	20秒
Denature	98°C	5秒
Annealing & Extension	68°C	5秒
融解曲線反応	68°C~95°C	5秒
		0.5°C/サイクル
計	40分	

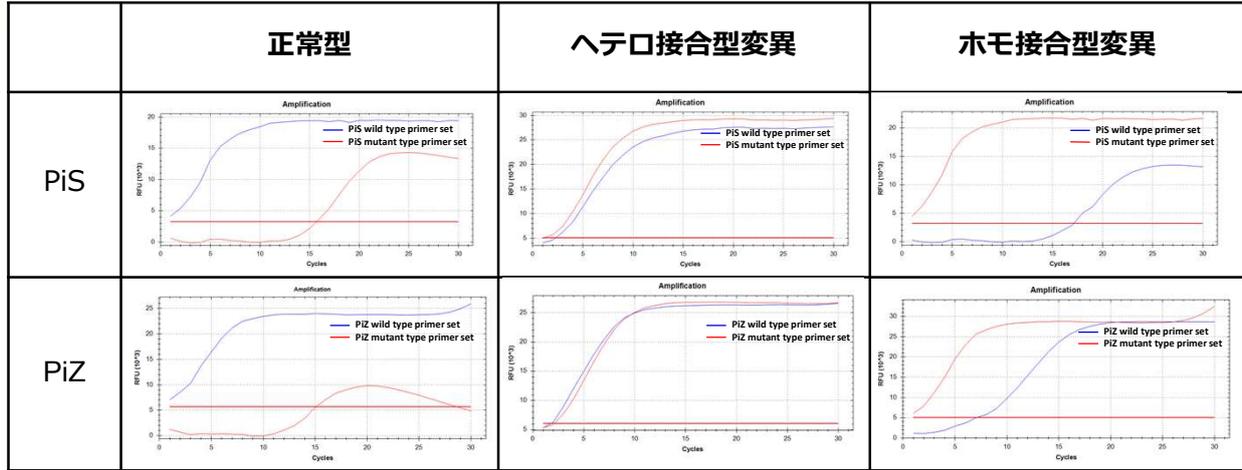


※図はイメージです

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
281-35101	α1-Antitrypsin Gene Mutation Detection Kit F ^o	遺伝子研究用	100反応用	80,000

判定方法

測定サンプル：コントロールプラスミドDNA (10pg/μL)



正常型：wild type primer set (青) の増幅曲線がmutant type primer set (赤) の増幅曲線よりも先に立ち上がる

変異型 (ヘテロ)：wild type primer set (青) の増幅曲線とmutant type primer set (赤) の増幅曲線がほぼ同時に立ち上がる

変異型 (ホモ)：mutant type primer set (赤) の増幅曲線がwild type primer set (青) の増幅曲線よりも先に立ち上がる

【参考情報】※弊社内でコントロールプラスミドDNAを用いて検討した場合のおおよそのCt値の目安

PiS/PiZ wildとmutantのCt値の差 (wild < mutant) ≥ 10 ・・・正常型

PiS/PiZ wildとmutantのCt値の差 (mutant < wild) ≥ 10 ・・・変異型 (ホモ接合型変異)

PiS/PiZ wildとmutantのCt値の差 ≤ 2 ・・・変異型 (ヘテロ接合型変異)

データ

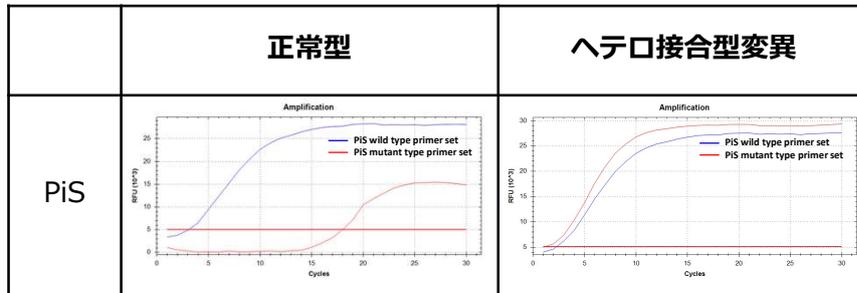
■ 欧米人由来鼻咽頭拭い液の測定

90℃で6分間熱処理した鼻咽頭拭い液と、本キットで調製したPCR反応液を混合し、リアルタイムPCRで測定した。

サンプル：欧米人由来鼻咽頭拭い液 (正常型、PiSヘテロ接合型変異)

プライマー：キット付属

1. qPCR PiS wild type primer set
2. qPCR PiS mutant type primer set



左のサンプルでは、正常 (野生) 型検出用の「qPCR PiS wild type primer set」の増幅シグナル (青色) が、PiS変異型検出用の「qPCR PiS mutant type primer set」の増幅シグナル (赤色) より15サイクル以上早く検出されたため、正常型 (変異なし) と判定した。

右のサンプルでは、正常 (野生) 型検出用の「qPCR PiS wild type primer set」の増幅シグナル (青色) とPiS変異型検出用の「qPCR PiS mutant type primer set」の増幅シグナル (赤色) の検出サイクル数はほぼ同じであったため、PiSヘテロ接合型変異と判定した。

■ 塩基配列解読結果

用いたPiSヘテロ接合型変異検体の塩基配列を解読した結果、確かに点変異 (A→T) が確認された。

```

Query 1  CTGCTGATGAAATACCTGGGCAATGCCACCGCCATCTTCTTCCTGCCTGATGAGGGGAAA 60
          |||
Sbjct 1  CTGCTGATGAAATACCTGGGCAATGCCACCGCCATCTTCTTCCTGCCTGATGAGGGGAAA 60

Query 61  CTACAGCACCTGGAAAATGAACTCACCCAGATATCATACCAAGTTCCTGGAAAATGAA 120
          |||
Sbjct 61  CTACAGCACCTGGTAAATGAACTCACCCAGATATCATACCAAGTTCCTGGAAAATGAA 120

Query 121 GACAGAAGGTGATTCCCCAACC 142
          |||
Sbjct 121 GACAGAAGGTGATTCCCCAACC 142
    
```

