

リアルタイムPCR法によるSNP解析

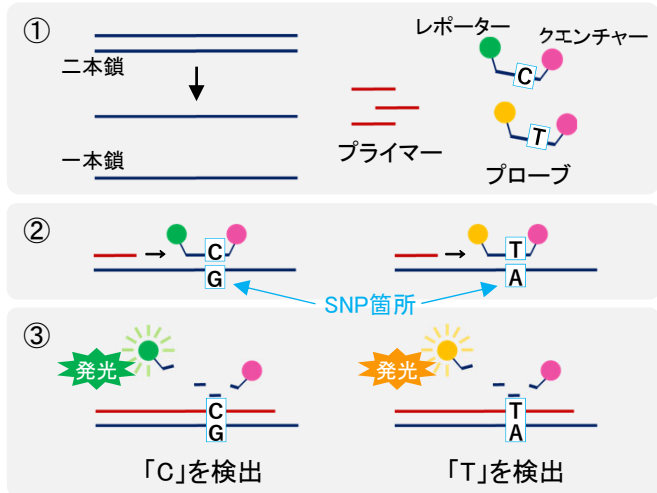
リアルタイムPCR法(プローブ法)により、SNPの解析が可能です

概要

リアルタイムPCR法とは、PCR反応によるDNA断片の増幅を1サイクルごとに蛍光シグナルとして検出する方法です。リアルタイムPCR法のうちプローブ法を利用するSNP(※)解析を紹介します。レポーター(蛍光色素)とクエンチャー(消光物質)を標識した特異的な塩基配列(プローブ)を用いて、下に示す①~③の3つのステップを繰り返します。塩基によって異なるレポーターを用いることで、蛍光強度からSNPの塩基を判別します。

各ステップでの反応

- ① 熱変性
DNAを二本鎖から一本鎖にする
- ② アニールングとハイブリダイゼーション
プライマーとプローブがそれぞれ特異的に一本鎖DNAに結合する
- ③ 伸長反応
プライマーによる伸長反応によってプローブが分解され、クエンチャーからレポーターが遊離することで蛍光を発する



※Single Nucleotide Polymorphism: 一塩基多型

測定例: 対立遺伝子「C」と「T」のSNP解析

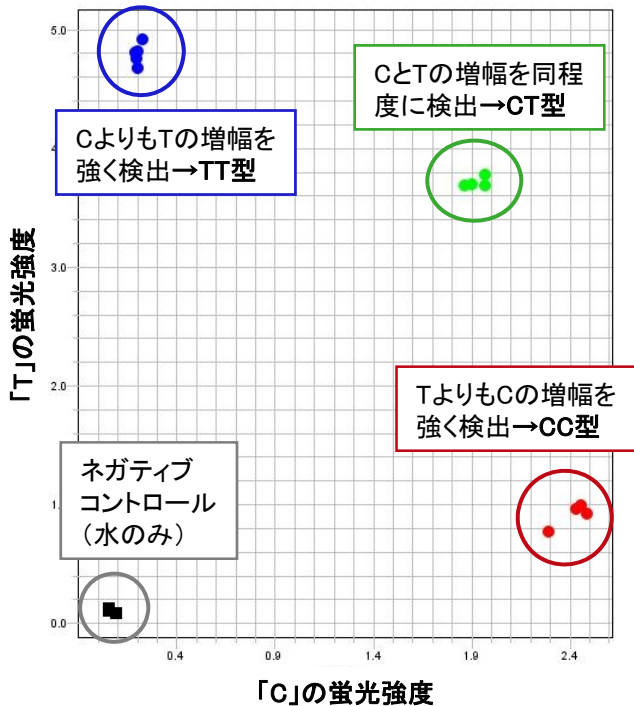


図1 CC型・CT型・TT型のプロット図

2種類の塩基の増幅をもとに分類し、SNPの塩基を決定します。
※「CC」と「TT」はホモ型を、「CT」はヘテロ型を示しています。

表1 測定結果

サンプル名	判定
Sample 01	TT
Sample 02	TT
Sample 03	CC
Sample 04	CT
Sample 05	CT
Sample 06	TT
Sample 07	CT
Sample 08	CC
Sample 09	CC
Sample 10	TT
Sample 11	CC
Sample 12	CT
Sample 13	TT

- 測定の結果、3つの型に分類されなかった場合は、出現頻度に基づいて塩基を推定します。
- 事前にポジティブコントロールを作成することで、確実に分類することも可能です。

分析サービスで、あなたの研究開発を強力サポート!