一般演題抄録

Ⅰ—1　血液および固定組織を用いたORNi-PCRによる塩基配列差異の簡易診断法の開発

○福士　咲恵　　清水　武史　　藤田　敏次　　藤井　穂高
（弘前大学大学院医学研究科　ゲノム生化学講座）

Oligoribonucleotide (ORN) interference-PCR (ORNi-PCR) は、PCR増幅領域の塩基配列に相補的な17～29塩基のORN（短鎖RNA）を増幅領域にハイブリダイズさせ、プライマー伸長反応を阻害することで塩基配列特異的に増幅を抑制する技術である。ORN結合部位に変異がある場合、ORNはハイブリダイズせずPCR増幅される。ORNi-PCR法は安価かつシンプルな操作で実施可能であり、演者らはこれまでにがん細胞やゲノム編集済み細胞の遺伝子における1塩基の差異を高精度で判別できることを明らかにした。本技術は臨床における診断や検査での利用が期待されるが、そのためにはより簡便で低侵襲なプロトコールの確立が必要である。そこで、本研究はラットの生体組織、固定済み組織および血液をサンプルとして、ORNi-PCRによる塩基配列差異の検出を試みた。

ラット*glutathione S-transferase mu 1* (*GST-M1*) 遺伝子における2塩基多型（GA塩基型とTT塩基型）を塩基配列差異のモデルとして、GA型に相補的なORNを作製し、ORNi-PCRで多型を判別できるか検討した。その結果、以下（1）～（3）が判明した。（1）GA型ラットおよびTT型ラットの生体肝組織から抽出したゲノムDNAを用いてORNi-PCRを行ったところ、GA型ではORNによって*GST-M1*遺伝子の増幅が抑制され、TT型では抑制されず*GST-M1*遺伝子が増幅した。（2）GA型ラットおよびTT型ラットのアセトン固定肝組織標本からゲノムDNAを抽出してORNi-PCRを行ったところ、生体肝組織を用いた場合と同様にGA型では*GST-M1*遺伝子の増幅が抑制され、TT型では抑制されなかった。（3）GA型ラットおよびTT型ラットの血液を直接PCR反応液に添加してORNi-PCRを行ったところ、同様にGA型では*GST-M1*遺伝子の増幅が抑制され、TT型では抑制されなかった。

いずれの解析においてもORNi-PCRで*GST-M1*遺伝子の多型を判別できたことから、本技術は生体組織のみならず固定組織や血液といった臨床検体を用いた場合においても簡便に塩基配列差異を検出できることが示唆された。本研究の成果は、遺伝子疾患やがんの早期診断など、臨床における迅速・簡便・低侵襲な塩基配列差異検出法の確立に寄与すると考える。