

インフィニウム法による SNP タイピング

インフィニウム (Infinium) 法

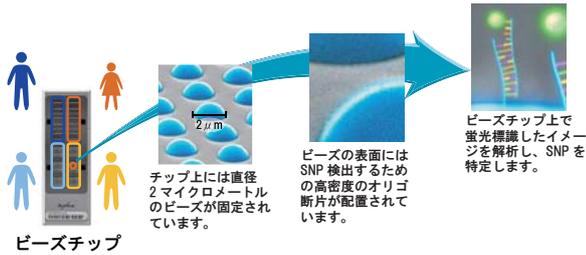
- ◆ 全ゲノム増幅を用い、ビーズチップ (BeadChip) 上でゲノム断片と試薬を反応させて行う SNP 型の判定 (ジェノタイプング) 法です。イルミナ社により開発されました。
- ◆ ゲノム全体の SNP を一度に数万～100万ヶ所検出可能です。

全ゲノム増幅 (WGA) 法

インフィニウム法で用いる WGA (Whole Genome Amplification) は、ある領域を特異的に増幅させる PCR 法と異なり、酵素を用いてゲノムの全領域を同時に増幅させる方法です。

PCR 法と同様に高精度な実験結果が得られ、さらに全ゲノム解析するために要する数多くの個別反応が必要なくなります。

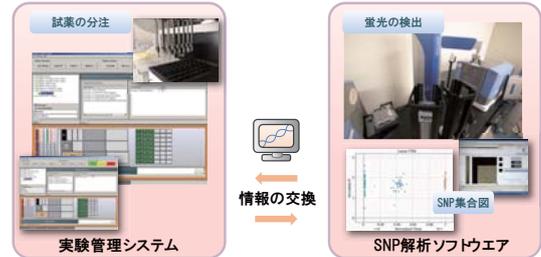
ビーズチップの特徴と利点



(Human 610-Quad Beadchip の場合)

1枚のビーズチップで4人分、1人あたり約61万ヶ所の SNP を同時に解析できます。1SNPにつき約15個の同一種類のビーズが配置されていて、信頼度の高いデータが得られます。

ロボットによる試薬分注とデータ解析の自動化



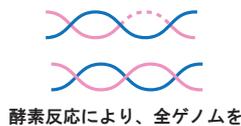
ロボットを使った試薬の自動分注と、専用ソフトによる SNP 解析をコンピュータ管理しています。さらに、ゲノムや試薬はバーコード管理されているため、実験過程の追跡が可能で、クオリティーの高いデータが得られます。

実験の流れ

1. ゲノムの増幅

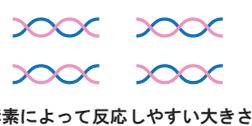


ゲノムを一本鎖にします。



酵素反応により、全ゲノムを同時に増幅させます (WGA)。

2. ゲノムの断片化～精製



酵素によって反応しやすい大きさ (約 300 bp) に切断します。



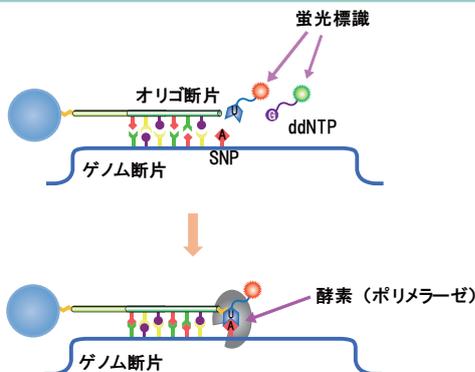
イソプロパノール沈澱で精製します。

3. ハイブリダイゼーション



ビーズチップは4つのセクションに分かれています。ひとつのセクションで1人分の実験ができます。各セクションにそれぞれゲノムを分注します。試薬とゲノムはビーズチップと表面シールの隙間に留まり (毛細管現象)、ビーズ表面から伸びている配列 (オリゴ断片) と特異的に結合し、一晩かけて反応が進みます。

4. 伸長反応



調べたい SNP に対応する部分を、酵素によって一塩基伸長します。

5. 染色



伸長反応で蛍光物質を取り込み、シグナルを拡大します。

6. スキャン・解析



ビーズチップから蛍光強度を検出します。緑と赤の蛍光強度から、それぞれの SNP 型を判定します。

ゲノム全体にわたって大規模に解析できるインフィニウム法は、ゲノム全体から候補 SNP を絞り込むのに適した手法です。