

ORNi-PCR® 説明書

【概要】

ORNi-PCR®とは、Oligoribonucleotide interference-PCR の略で、20塩基程度の短い RNA (ORN) を利用して、遺伝子変異及びゲノム編集細胞の検出や、細菌叢解析等で優占種由来の PCR 増幅を阻害することによる NGS 解析の高精度化等を可能にする技術です。ORNi-PCR®法では、標的とする DNA 配列（野生型遺伝子配列情報や細菌固有の DNA 配列）を基に設計した ORN を PCR 増幅反応時に添加することで、標的 DNA の増幅を阻害し、変異型遺伝子を含む DNA や標的細菌以外の DNA を増幅します。

尚、本製品は研究用試薬です。医薬品製造、臨床検査及び各種診断には使用できません。

【製品】

① カスタムデザインオーダーORN

ご希望のターゲットに合わせて ORN をデザインします。

納品物は ORN と検出プロトコル案（机上案）となります。

② カスタムデザインオーダーORN（上記①）の検出プロトコル検証

弊社でプロトコルの検証を実施し、至適プロトコル案として納品致します。

③ デザイン済み ORN

デザイン済み ORN*一覧（2020年10月現在）

*ご希望の検出ターゲットに関しまして、事前に確認をさせていただきます。

製品番号	製品名	用途	保証収量	状態	保存	安定性
50011	ORN_hCDKN2A-g5	ヒトCDKN2A (p16) 遺伝子のExon1の変異検出の際の陽性対象ORN (変異配列に相補的)	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50021	ORN_hCDKN2A-g4	ヒトCDKN2A (p16) 遺伝子のExon1の変異検出	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50031	ORN_hKRAS_G13	ヒトKRAS遺伝子G13変異検出	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50041	ORN_hEGFR_L858	ヒトEGFR遺伝子L858変異検出	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50051	ORN_hEGFR_T790_20b	ヒトEGFR遺伝子T790変異検出	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50061	ORN_hEGFR_T790_19b	ヒトEGFR遺伝子T790変異検出	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50071	ORN_hEGFR_T790_18b	ヒトEGFR遺伝子T790変異検出	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50081	ORN_hEGFR_Exon20	ヒトEGFR遺伝子変異検出の際の陰性対象ORN	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50091	ORN_SARS-CoV-2_S84	SARS-CoV-2_L84型検出	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50101	ORN_SARS-CoV-2_L84	SARS-CoV-2_S84型検出	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50111	ORN_SARS-CoV-2_D614	SARS-CoV-2_G614型検出	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月
50121	ORN_SARS-CoV-2_G614	SARS-CoV-2_D614型検出	3 OD	凍結乾燥品	-20°C以下	出荷時より6ヶ月

50031(KRAS_G13) : KRAS 遺伝子コドン 12 の一部にも相補的であることが確認されており、コドン 12 の一部の変異型の検出も可能だと予想される。

50041 (EGFR_L858) : EGFR 遺伝子コドン 861 にも相補的であり、同変異検出にも利用可能。

【調製及び保存について】

本製品は凍結乾燥品です。調製方法は製品ごとに同封されている「依頼合成報告書」をご参照下さい。-20℃以下の保存で未開封の場合は、販売元出荷後 6 ヶ月の有効期限とさせて頂いております。尚、本製品は初回融解時に小分けし-20℃以下で保存した場合、できるだけ少ない再凍結再融解で期限内にご使用下さい。（社内検討による）

【使用上の注意】

本製品は合成 RNA です。開封、溶解等の際には RNA 分解酵素等の混入にご注意下さい。

【検出プロトコール】

製品①のカスタムデザインの場合はオーダー頂いた ORN と同時に納品。

製品③のデザイン済み ORN の場合は一般的な条件を弊社ホームページよりダウンロード頂けますが、ご使用になる機器等によっても至適条件は変わる可能性がございます。参考文献等をご確認いただき設定して下さい。

ご不明な点、ご質問などは下記へご連絡下さい。

・株式会社 Epigeneron

<https://epigeneron.com/> 「お問合せ」からご連絡下さい。

【知財関連】

公開番号： WO 2019/203350

登録番号： 特許第 6,653,932 号（国内特許）

発明者： 藤井 穂高、藤田 敏次

発明の名称： 標的核酸領域内の基準配列に対する差異を検出する方法 / Method for detecting difference in reference sequence in target nucleic acid regions

特許権者： 株式会社 Epigeneron

取得日： 2020 年 1 月 31 日（国内特許）

【参考文献】

1. Tanigawa N, Fujita T, and Fujii H: Oligoribonucleotide (ORN) interference-PCR (ORNi-PCR): a simple method for suppressing PCR amplification of specific DNA sequences using ORNs. PLoS One (2014) 9, e113345.
2. Fujita T, Yuno M, Kitaura F, Fujii H: Detection of genome-edited cells by oligoribonucleotide interference-PCR. DNA Res. (2018) 25, 395-407.

3. Fujita T, Yuno M, Kitaura F, Fujii H: A refined two-step oligoribonucleotide interference-PCR method for precise discrimination of nucleotide differences. *Sci. Rep.* (2018) 8, 17195.
4. Fujita T, Motooka D, Fujii H: Target enrichment from a DNA mixture by oligoribonucleotide interference-PCR (ORNi-PCR). *Biology Methods and Protocols (BIOMAP)* (2019) 4, bpz009.
5. Baba K, Fujita T, Tasaka S, Fujii H: Simultaneous detection of the T790M and L858R mutations in the EGFR gene by oligoribonucleotide interference-PCR. *Int. J. Mol. Sci.* (2019) 20, 4020.
6. Shimizu T, Fujita T, Fukushi S, Horino Y, Fujii H: Discrimination of CpG methylation status and nucleotide differences in tissue specimen DNA by oligoribonucleotide interference-PCR. *Int. J. Mol. Sci.* (2020) 21, 5119.

【注意事項】

- 本製品は研究用試薬であり、医薬品の製造、品質管理および各種診断、人体への使用など研究用試薬以外の目的には使用しない。
- 本製品の配列情報やそれを使用する実験手順等は、学術的な用途以外ではこれを第三者に公開せず、参考文献引用の場合は必ずそれを明記する。
- 本製品または本製品を利用して製造したものを商業目的で使用する際は、株式会社 Epigeneron との事前合意・契約などを必須とする。
- 本製品を特定の個人や社会及び環境に危害を加える目的をもって使用せず、且つ将来に亘ってもそのような目的では使用しない。
- 本製品によって作出した産物及びそれらに由来する遺伝子組み換え生物等を特定の個人や社会及び環境に危害を加える目的をもって使用せず、且つ将来に亘ってもそのような目的では使用しない。
- 本製品の使用にあたっては、「武力攻撃事態等における国民の保護のための措置に関する法律（国民保護法）」、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（カルタヘナ法）」、その他法令を遵守する。
- 本製品の使用により作出した産物及びそれらに由来する遺伝子組み換え生物等は外部への影響を鑑み適切に使用および管理する。

上記注意事項を遵守しなかったことにより発生したあらゆる損害・罰則について、株式会社 Epigeneron は一切の責任を負いかねますのでご了承下さい。