

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シング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

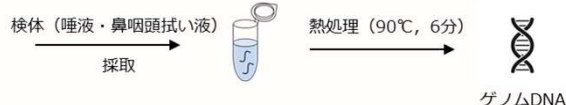


製品の外観

操作方法

①検体の前処理

唾液・拭い液を熱処理 (90℃、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

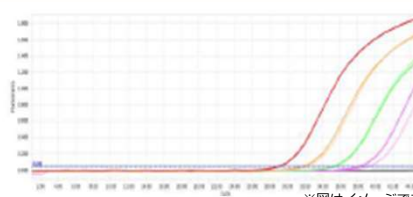
1st PCR			
Predenature	98℃	20秒	} 36サイクル
Denature	98℃	8秒	
Annealing & Extension	68℃	10秒	
計		30分	



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			
Predenature	98℃	20秒	} 30サイクル
Denature	98℃	5秒	
Annealing & Extension	68℃	5秒	
融解曲線反応	68℃~95℃	5秒	} 0.5℃/サイクル
計		40分	

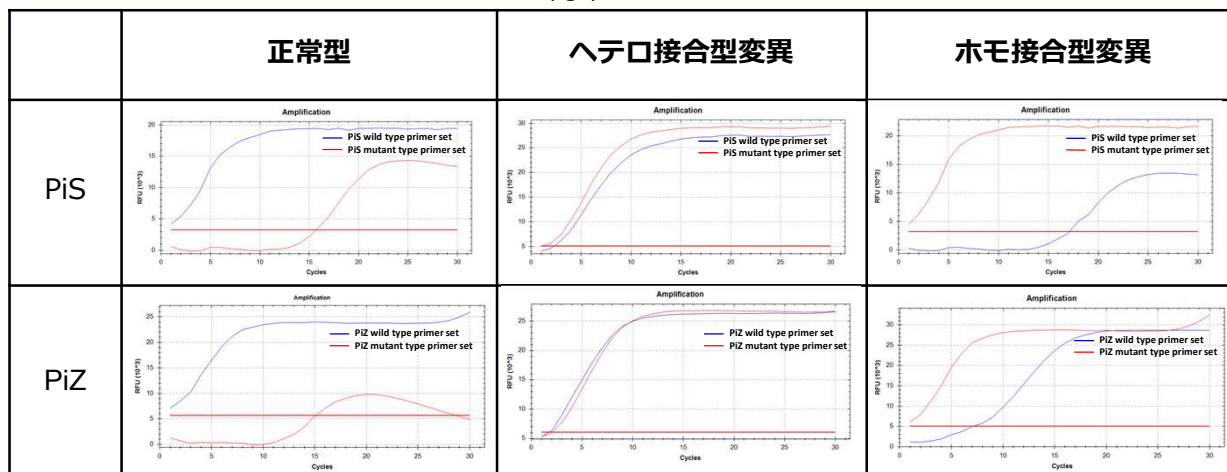


※図はイメージです

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 [°]	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

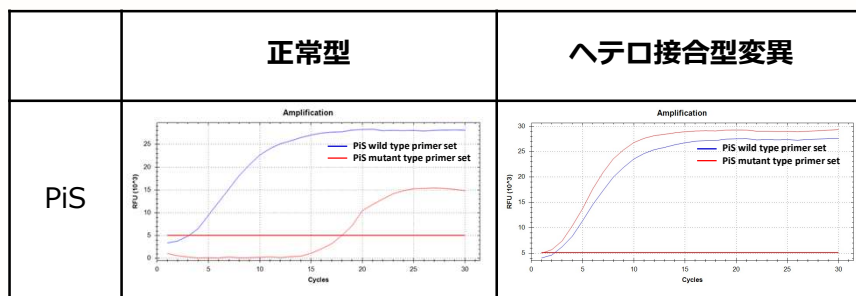
■ 欧米人由来鼻咽頭拭い液の測定

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   CTGCTGATGAAATACCTGGGCAATGCCACGGCATCTTCTTCCTGCCTGATGAGGGGAAA 60
          |||
Sbjct 1   CTGCTGATGAAATACCTGGGCAATGCCACGGCATCTTCTTCCTGCCTGATGAGGGGAAA 60

Query 61   CTACAGCACCTGGTAAATGAACACCCACGATATCATCACCAGTTCCTGGAAAATGAA 120
          |||
Sbjct 61   CTACAGCACCTGGTAAATGAACACCCACGATATCATCACCAGTTCCTGGAAAATGAA 120

Query 121  GACAGAAGGTGATTCGCCAACC 142
          |||
Sbjct 121  GACAGAAGGTGATTCGCCAACC 142
  
```

キット構成

100反応用	
1st PCR PiS primer set	100 μ L x 1本
1st PCR PiZ primer set	100 μ L x 1本
qPCR PiS wild type primer set	100 μ L x 1本
qPCR PiS mutant type primer set	100 μ L x 1本
qPCR PiZ wild type primer set	100 μ L x 1本
qPCR PiZ mutant type primer set	100 μ L x 1本
2 x PCR master mix	1,500 μ L x 2本
20 x Intercalator*	200 μ L x 1本

*Biotium, Inc.から商用ライセンスを得て、研究用試薬として販売しています (US 7803943 B2, US 7776567 B2)。

別途必要な試薬および器具

- qPCR(Real-Time PCR) 装置
- マイクロチューブ遠心機
- Nuclease フリー滅菌水（例:コード No. 316-90101, ニッポンジーン）
- マイクロピペットおよび Nuclease フリーピペットチップ
- Nuclease フリー1.5mL チューブ
(DNA/RNA 低吸着品が望ましい。例：Micro tube 1.5ml DNA LowBind, Sarstedt)
- qPCR(Real-Time PCR) プレートとプレートシール、
もしくは qPCR(Real-Time PCR)チューブとキャップ
- 氷もしくは保冷剤

関連製品

当社ではBio Molecular Systems社のMicリアルタイムPCR装置を取り扱っています。
詳細は、当社HPをご覧ください、
<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/equipment/products/00100.html>



◎特長

- ✓ クラスNo1の温度制御性能
- ✓ 高速リアルタイムPCRが可能
- ✓ 光学系キャリブレーション不要
- ✓ 15cm x 15cm の手のひらサイズ

<参考文献>

- 1) Shapira, G., Shomron, N. and Gurwitz, D. : FASEB J., 34(11),14160(2020).

Ref[○]…2～10℃保存 F[○]…-20℃保存 -80[○]…-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。

特定薬-I ……特定毒物 毒-I 毒-II ……毒物 劇-I 劇-II 劇-III ……劇物 毒…毒薬 劇…劇薬 危…危険物 向…向精神薬 特麻原…特定麻薬向精神薬原料 カルタヘナ…カルタヘナ法

審-1 ……化審法 第一種特定化学物質 審-2 ……化審法 第二種特定化学物質 化兵1 ……化学兵器禁止法 第一種指定物質 化兵2 ……化学兵器禁止法 第二種指定物質

覚せい剤取締法…「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、**譲受証及び譲渡証**による受け渡しが必要となります。覚

国民保護法…生物・毒素兵器の製造、使用防止のため、「毒素等」を試験研究用に使用することを確認する証を頂戴しております。

上記以外の法律及び最新情報は、弊社試薬サイト (<https://labchem-wako.fujifilm.com>) をご参照下さい。

- 本文に収載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医療品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
● 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL 06-6203-3741 (代表)
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所
- 東海営業所
- 筑波営業所
- 北海道営業所
- 中国営業所
- 横浜営業所
- 東北営業所



 フリーダイヤル 0120-052-099

試薬URL : <https://labchem-wako.fujifilm.com>

- **FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation**
1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA
TEL:+1-804-714-1920 FAX:+1-804-271-7791

- 富士膠片和光 (香港) 有限公司**
 Room 1111, 11/F, International Trade Centre,
 11-19 Sha Tsui Road, Tsuen Wan, N.T., Hong Kong
 TEL: +852-2799-9019 FAX: +852-2799-9808

- **FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH**
Fuggerstr 12, 41468 Neuss, Germany
TEL: +49-2131-311-0 FAX: +49-2131-311-100

- 富士膠片和光 (廣州) 貿易有限公司
 廣州市越秀區先烈中路69號東山廣場30樓3002-3003室
 TEL: +86-20-8732-6381 (廣州)
 TEL: +86-21-6288-4751 (上海)
 TEL: +86-10-6413-6388 (北京)