

ふりがな	いわさきまさおみ
氏名	岩崎 匡臣
学位	博士(理学)
学位記番号	新大院博(理)第236号
学位授与の日付	平成17年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Novel single-nucleotide polymorphism (SNP) typing methods based on loop-mediated isothermal amplification (LAMP) (環状構造を介在する等温増幅(LAMP)法を基にした新規一塩基多型(SNP)タイピング法に関する研究)
論文審査委員	主査 教授 堀 米 恒 好 副査 教授 小 谷 昌 司 副査 教授 澤 田 清 副査 助教授 古 川 和 広

博士論文の要旨

ゲノム全域に存在する塩基配列の変異である一塩基多型(SNP)は、疾病素因や薬物耐性、薬物効力を調べる際のマーカーとして注目されている。本研究では、LAMP法という新しい遺伝子増幅法に着目し新規 SNP タイピング法の開発を試み、LAMP法の、迅速・簡易・高感度という特徴をそのまま生かした SNP タイピング方法を2種類開発した。

一つはアレル特異的インナープライマーを使用する方法で、LAMP法の増幅過程で生じるダンベル様構造物で SNP を識別する。薬物代謝関連遺伝子チトクロム P-450 の1種 CYP2C19 を標的遺伝子とし、アレル特異的インナープライマーを設計し、種々の条件を最適化した。そして対応したアレルのみを特異的に増幅し、一塩基だけ違うアレルや配列が非常によく似たファミリー遺伝子は増幅しなし系を確立している。また、この系は熱処理だけの血液を直接使用し30分でタイピングを可能にし、非常に簡便な方法である。さらにこの系を他の遺伝子にも適用し、広く様々な遺伝子に適用可能であることを示している。

もう一つの、ポリメラーゼの Exo-proofreading 活性と LAMP法を組み合わせた PR-LAMP法は、蛍光標識したタイピングプライマーを使用し、検出に蛍光偏光法を使っている。蛍光偏光法を使う事でプライマーの設計がたいへんたやすくなり、いろいろな SNP に適用しやすい高感度、簡便、迅速な方法が開発された。

審査結果の要旨

本研究で確立されたアレル特異的プライマーを使用する方法は、血液を特別な処理することなく使うことができ、30分のタイピング反応でアレル判定可能な、迅速診断・大量測定・自動化への応用が期待できるシステムである。一方、Exo-proofreadingを使った方法は、

アレル特異的インナープライマーに比べてプライマー設計が非常に簡単なシステムである。蛍光偏光法を使う点が若干特殊であるが、測定機器が揃えば、大量測定・自動化への応用が期待できる簡易なシステムである。以上から、2種類の SNP タイピング法は、広範な SNP に適応できる可能性を持ち、試料調製の簡易化、測定時間の短縮化により、将来のハイスループット SNP タイピングに大いに貢献すると考えられる。この研究は、申請者がその開発にも関わった“日本発”の遺伝子増幅法である LAMP 法を発展させて開発された新規の SNP 法であり、その研究姿勢も評価される。

よって本論文は博士（理学）の学位論文として十分であると判断した。