Illumina® BeadChip 610Quadで分析評価した、血液からと Oragene®/唾液および口腔スワブ のサンプルから採取されたDNAの比較

Rafal Iwasiow†, Scott Rabuka†, 斉藤督‡、小峰富美子‡、佐藤寛子‡、市川和奈‡、倉本宜昭‡、河原三紀郎‡

† DNA Genotek, Inc.、オタワ、オンタリオ州、カナダ
‡ 株式会社理研ジェネシス 神奈川県横浜市鶴見区末広町1-7-22

製品の紹介

非侵襲性で使い易いDNA サンプル採取テクノロジーは提供者から研究への応諾や承諾を得ることを確実にすることにより、調査研究の成功を大いに高めることを可能にします。しかし、全ての非侵襲性の採取キットから同様の分析的なパフォーマンスが得られるわけではありません。この研究の目的とは、口腔スワブから採取されたサンプルよりもOragene®/唾液サンプルから採取されたDNAの方がより良いパフォーマンスであることを証明することです。これら双方の採取方法は類似した長所があり採用し易いが、そのパフォーマンスは全く違います。Oragene [DNA Genotek]は2 mLの唾液サンプルから、室温で数年間安定した上質なDNAを大量に産出することができる非侵襲性のサンプル採取法です。

血液からと、Oragene/唾液および口腔スワブからのサンプルからDNAを収集、浄化し、Illumina® BeadChip 610Quad分析評価で処理しました。血液から採取したDNAはこの研究で検査基準サンプルとして使用しています。

方法および結果

次の3つの異なる技法を用い、16人の提供者のサンプルを採取しました。A – EDTA チューブを用いた静脈血液採取、 B – DNA Genotek の Oragene•DNA (OG-500) を用いた唾液採取、 C – 綿棒を用いた口腔スワブ採取。各サンプルから抽出されたDNAを浄化し、Illumina BeadChip 610Quadで処理しました。浄化後、各サンプルの吸収度を用い定量化し、 Nanodrop 器具でA_{260}/A_{280}比率を測定しました [図1参照]。その後サンプルを100 ng/µLに正常化し、 PicoGreen®を用い再度定量化しました [図2参照]。 そしてメーカーの指示通り、薄めたサンプルをIllumina BeadChip 610Quadで処理しました。

吸収度によるサンプルの定量化 (A_{260})

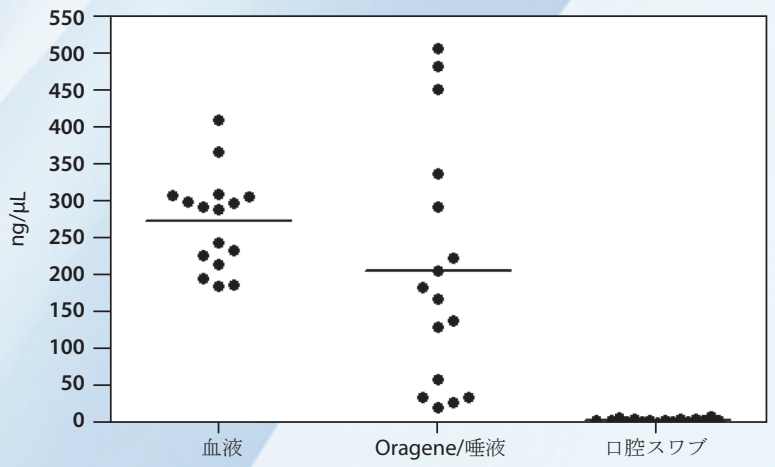

図1: 吸収度により測定した血液、唾液、および口腔スワブの総計核酸定量化 (A_{260})。

正常化させたサンプルのPicoGreen定量化

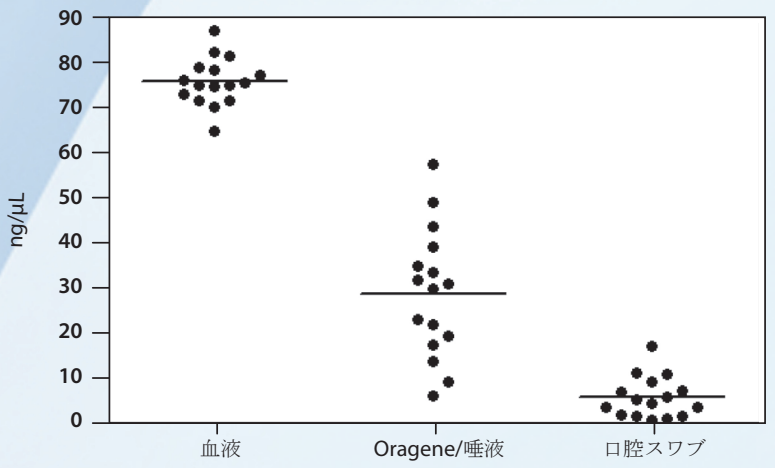

図2: PicoGreenを用いて測定したDNA 濃度。血液および唾液サンプルは定量化前に、吸収度(A_{260})データに基づき100 ng/µL となるように薄めた。吸収度により測定したRNA量は考慮されなかったため、PicoGreenにより測定した濃度は推定DNA値より下回る結果となった。

血液および唾液の双方が平均1.7以上のA_{260}/A_{280} 比率を持ったDNAを十分に含んでいました。それと対照的に、口腔スワブサンプルはかなり低い量のDNAしか含んでおらず、A_{260}/A_{280} 比率も不十分でした (平均 = 1.2) [図3]。 サンプルの正常化後、PicoGreenにより定量化されたDNA量が推測されていた100 ng/µLに達していなかったことに注意してください。血液の平均値は80 ng/µL、そして唾液の平均値は30 ng/µLでした。PicoGreenによる測定値が推測値よりも低くなったのは、吸収度によりRNA断片が定量化されたによるものであると思われます。唾液に含まれていたRNAが血液に含まれていたものよりはるかに多かったことを考慮すると、唾液のDNA量が少ない結果となったことが理解できます。このことはPicoGreenを用いた適切な定量化の重要性を示しています。

A_{260}/A_{280} 比率

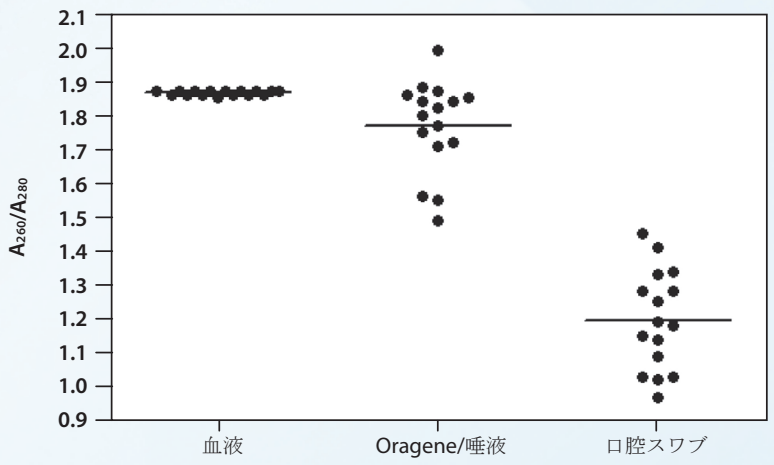

図3: 血液、唾液、および口腔スワブのA_{260}/A_{280}比率。

結論

Illumina BeadChip 610Quadを用い全てのサンプルを処理すると、血液および唾液の双方が99.5%以上の平均コールレート、そして全てが99%以上のコールレートでした。血液と唾液間の再現性は99.99%と算出されました。対照的に、口腔スワブの平均コールレートは97.2%で、その中には89.8%と低いものもありました [図4参照]。

Illumina 610Quad Bead Chipコールレート

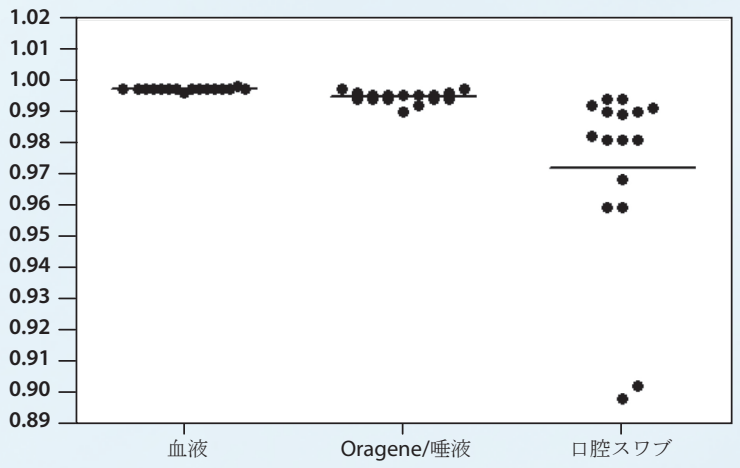

図4: 血液、唾液、および口腔スワブに対するIllumina 610Quad Bead Chip コールレート。血液および唾液には0.99以上の優れたコールレートが含まれていた。口腔スワブは低質のDNA (A_{260}/A_{280})および低い DNA 量(A_{260})のため、コールレートも著しく低かった。

Orageneは本研究で証明されている通り、マイクロアレイ検査に信頼を持って使用することができる実証済みの非侵襲性の採取法です。

riken genesis

DNA genotek

Oragene®•DNAはアメリカ合衆国内での販売はされていません。
一部のDNA Genotek製品は全ての地域で購入可能とは限りません。
®OrageneはDNA Genotek Incにより登録されている商標です。
その他の商標や名称を含んでいるものは全て他社の所有物となります。

U.S.特許No. 8,221,381 および 7,482,116; 欧州特許No. 1 513 952 および 1 956 969; 出願中特許
カナダ・デザイン番号127470; 132896; 132897; U.S. D631,554 SおよびD640,795 S
コミュニティ・デザイン番号 001095186-0001; -0002; -0003

MK-00097 (JA - Japanese) Issue 1/2012-08 © 2012 DNA Genotek Inc.、OraSure Technologies, Inc.の子会社、 無断複写・複製・転載を禁ず。

より優れたサンプル•実証済みパフォーマンス

www.dnagenotek.com • support@dnagenotek.com