

標的 DNA の PCR 増幅阻害用 カスタムオリゴリボヌクレオチド (ORN) 作製サービス



特定遺伝子変異の新規検出ツールとなる ORNi-PCR® 法を開発！

遺伝子変異の検出は、ゲノム編集細胞のスクリーニング、治療法を選択するための遺伝子診断、病原性微生物の検出等、現代の生命科学・医学において不可欠です。遺伝子の変化を高感度・低価格に検出するための手法の必要性は高まっています。Epigeneron 社では、点突然変異のような微小な遺伝子変異も高感度で検出することができる手法として、短い RNA (ORN) を用いたブロック PCR 法である oligoribonucleotide (ORN) interference-PCR (ORNi-PCR®) 法を開発しました。

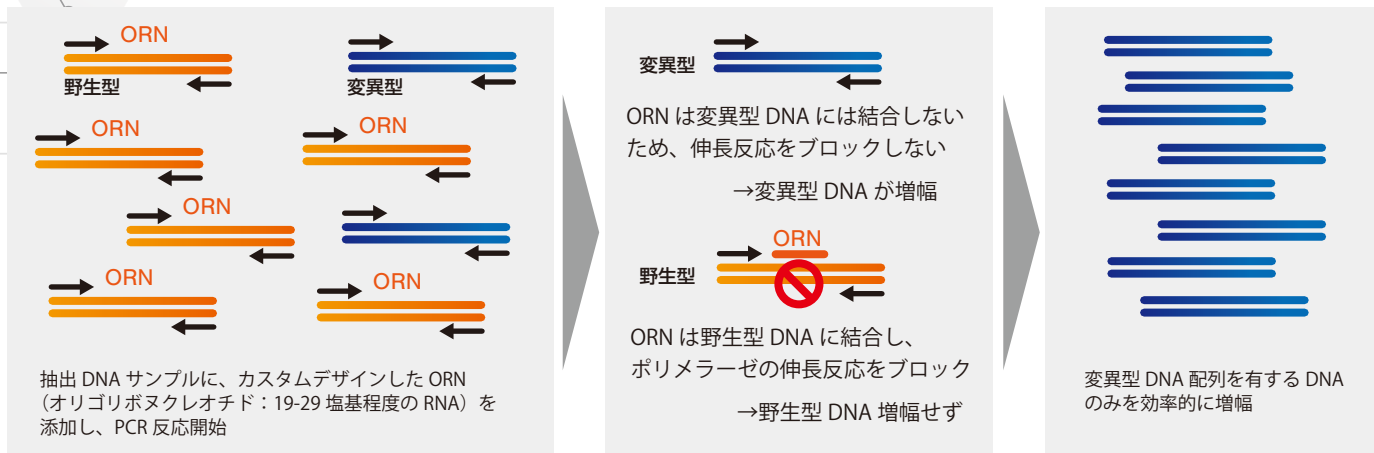
簡便な操作で遺伝子の変化を
広範囲かつ簡便に検出可能な
ORNi-PCR®

応
用
例

- 点突然変異などの微小な遺伝子変異の検出
- ゲノム編集細胞の検出
- メチル化 DNA 修飾の検出
- NGS による細菌叢解析における多様な細菌叢の検出

原理とアッセイフロー

ORNi-PCR® 法では、カスタムデザインした短い RNA とハイブリッド形成する野生型(鋳型)DNA の増幅を阻害することにより、ミスマッチを持つ変異型 DNA のみを増幅する。



PCR 増幅に使用する DNA ポリメラーゼは、KOD、Pfu 等のブルーフリーディング活性を有する酵素を使用可能です。なお、使用を検討されている酵素の使用可否については、見積もり時にご確認ください。また、ORN は、RPA 法や LAMP 法等の DNA 増幅法でも使用可能です。

記事 ID 検索 **37037**

詳しい情報は

コスモ・バイオ Web サイトへ

コスモ・バイオ Web サイトトップページ「記事 ID 検索」に、記事 ID で示された数字を入力して検索してください。ダイレクトにページへ行くことができます。

会社概要

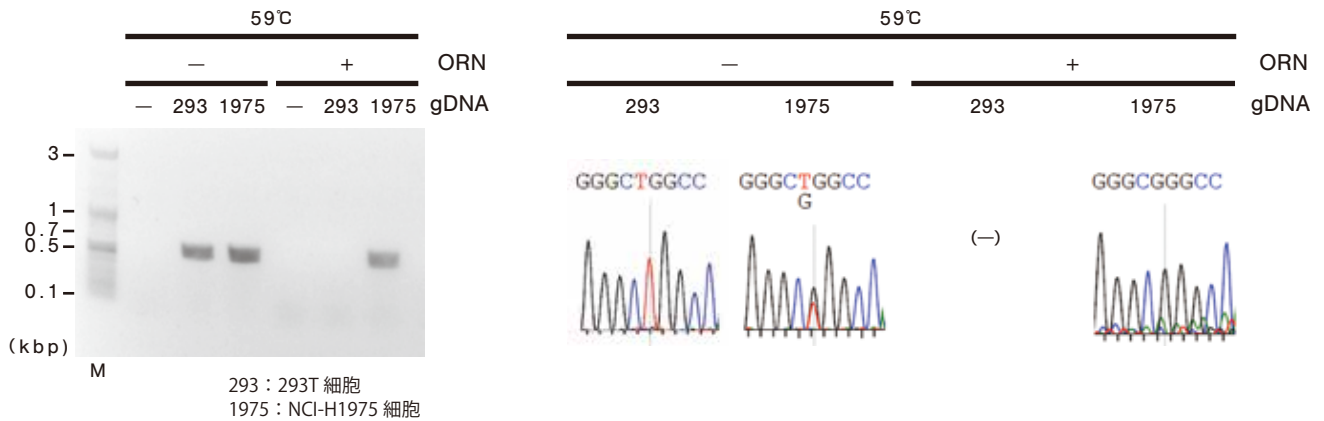
株式会社 Epigeneron は、現 弘前大学 大学院医学研究科 藤井穂高研究室の研究成果を社会に還元すべく設立した大学発バイオベンチャー企業です。生命科学研究や創薬のための新規技術開発を積極的に進めています。その先駆けとして Oligoribonucleotide (ORN) interference-PCR (ORNi-PCR®) という 20 塩基程度の短い RNA を利用して、PCR 反応において標的とする DNA 配列の増幅を阻害する技術を開発しました。Epigeneron 社では独自のノウハウ及び特許技術により ORNi-PCR® に用いる ORN を提供致します。



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

アプリケーション例 1 一塩基変異の検出例



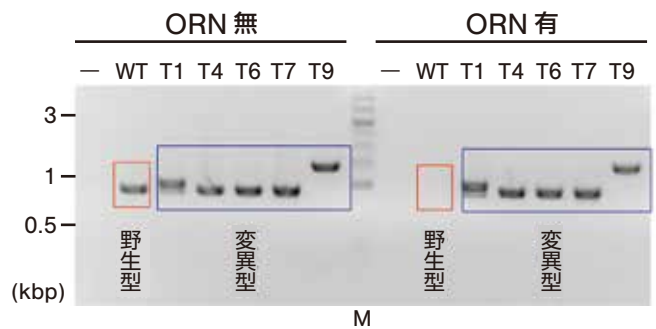
左図) EGFR 遺伝子の Leu858 の周辺を標的とする野生型、293T 細胞に対して相補的な ORN を用いて PCR を行った。ORN 存在下では対立遺伝子に Leu858Arg 変異を持つ NCI-H1975 細胞のみバンドが検出された。

右図) シーケンス解析の結果、ORN によって野生型の PCR 増幅が抑制されることが示唆された。

Sci. Rep. (2018) 8, 17195.

アプリケーション例 2 ゲノム編集細胞選別の実施例

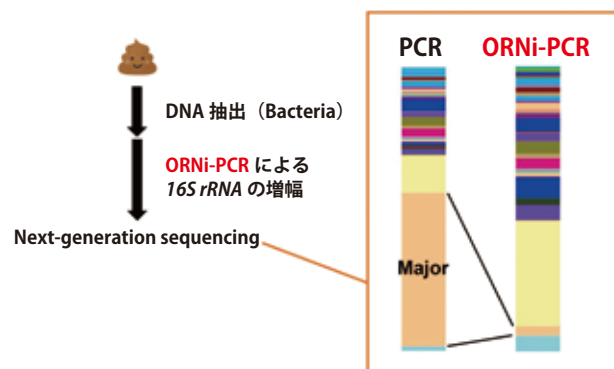
PCR 増幅時に野生型を標的とする ORN を添加することで野生型は増幅されず、変異型の増幅が確認された。点突然変異のような微細な変異で野生型と変異型の PCR 増幅産物のサイズでの区別が難しくても、変異型のみが増幅されるため識別が容易となる。



DNA Res. (2018) 25, 395-407

アプリケーション例 3 NGS 解析時のサンプル濃縮の実施例

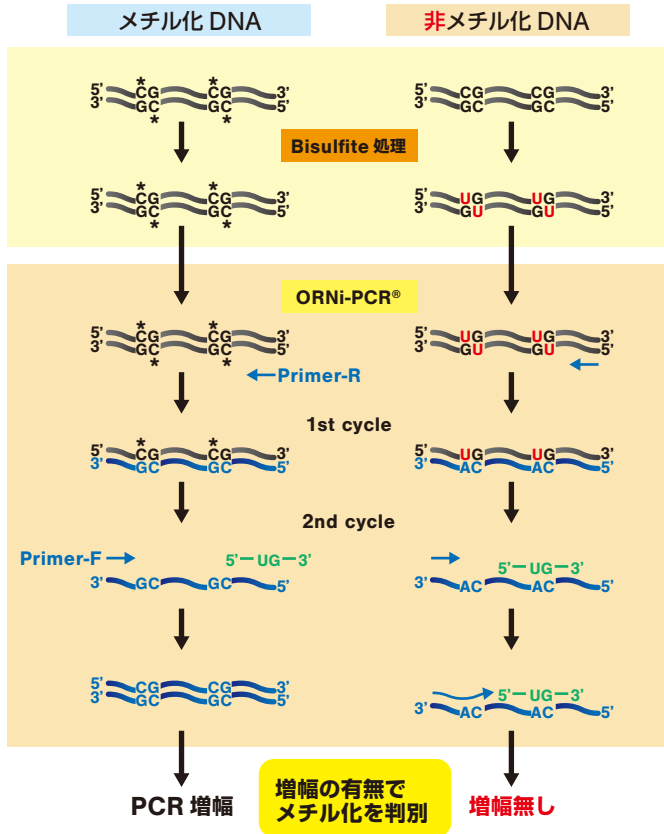
糞便検体から細菌叢 DNA を抽出し、優占種由来の 16S rRNA を標的とする ORN によって PCR 増幅を阻害した。その結果、NGS 解析においてこれまで検出が困難だった希少な菌種の検出が可能となった。



アプリケーション例 4 エピゲノム解析への応用 - CpG-メチル化 DNA 検出例

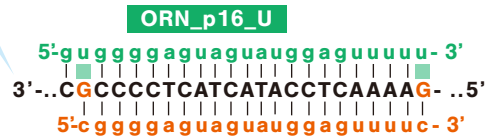
ORN を非メチル化 DNA のバイサルファイト処理後の配列にハイブリダイズするようにデザインした。
バイサルファイト処理したメチル化 DNA は配列が変化するため、ORN による阻害を受けずに増幅される。

ORNi-PCR[®] によるメチル化 DNA 検出のスキーム



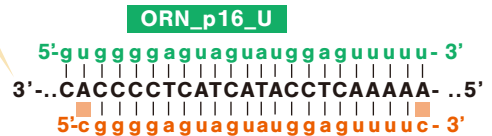
p16 遺伝子メチル化 / 非メチル化 DNA 判別用 ORN のデザイン

メチル化 DNA

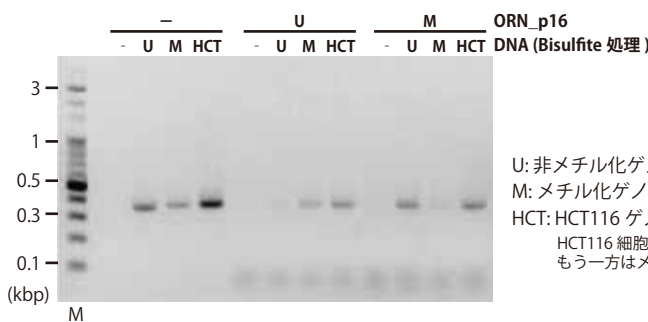


ORN_p16_M : メチル化 DNA
ORN_p16_U : 非メチル化 DNA

非メチル化 DNA



ORNi-PCR[®] の結果



ORN_p16_M はメチル化 DNA の増幅を抑制し、ORN_p16_U は非メチル化 DNA の増幅を特異的に阻害した。

Int. J. Mol. Sci. (2020) 21, 5119

ご要望にあわせて ORN をデザインします。詳細はお問合せください。

参考価格

都度お見積もり

納品物

ORN (HPLC グレード、PCR 反応およそ 500 回相当分とする)

納期

3 週間～

オプションサービス

● プロトコール検証サービス

カスタムデザインした ORN に対して最適なプロトコールを開発・検証します。

関連商品

デザイン済み ORN

記事 ID 検索 **38983**

各種遺伝子の変異検出用にデザインされた ORN を販売しております。

株式会社 Epigeneron メーカー略号：EPG

品名	品番	用途	希望販売価格
ORN_hCDKN2A-g5	50011	ヒト CDKN2A (p16) 遺伝子の Exon1 の変異検出の際の陽性対象 ORN	¥ 100,000
ORN_hCDKN2A-g4	50021	ヒト CDKN2A (p16) 遺伝子の Exon1 の変異検出	¥ 100,000
ORN_hKRAS_G13	50031	ヒト KRAS 遺伝子 G13 変異検出	¥ 100,000
ORN_hEGFR_L858	50041	ヒト EGFR 遺伝子 L858 変異検出	¥ 100,000
ORN_hEGFR_T790_20b	50051	ヒト EGFR 遺伝子 T790 変異検出	¥ 100,000
ORN_hEGFR_T790_19b	50061	ヒト EGFR 遺伝子 T790 変異検出	¥ 100,000
ORN_hEGFR_T790_18b	50071	ヒト EGFR 遺伝子 T790 変異検出	¥ 100,000
ORN_hEGFR_Exon20	50081	ヒト EGFR 遺伝子変異検出の際の陰性対象 ORN	¥ 100,000
ORN_SARS-CoV-2_S84	50091	SARS-CoV-2_L84 型検出	¥ 100,000
ORN_SARS-CoV-2_L84	50101	SARS-CoV-2_S84 型検出	¥ 100,000
ORN_SARS-CoV-2_D614	50111	SARS-CoV-2_G614 型検出	¥ 100,000
ORN_SARS-CoV-2_G614	50121	SARS-CoV-2_D614 型検出	¥ 100,000

参考文献

1. Tanigawa N, Fujita T, 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 *et al.*, Detection of genome-edited cells by oligoribonucleotide interference-PCR. *DNA Research* (2018) 25: 395-407.
3. Fujita T, Yuno M, Kitaura F *et al.*, A refined two-step oligoribonucleotide interference-PCR method for precise discrimination of nucleotide differences. *Scientific Reports* (2018) 8: 17195.
4. Fujita T, Motoooka D, Fujii H, Target enrichment from a DNA mixture by oligoribonucleotide interference-PCR (ORNI-PCR). *Biology Methods and Protocols* (2019) 20, 4020.
5. Baba K, Fujita T, Tasaka S *et al.*, Simultaneous Detection of the T790M and L858R Mutations in the EGFR Gene by Oligoribonucleotide Interference-PCR. *International Journal of Molecular Sciences* (2019) 4, bpz009.
6. Shimizu T, Fujita T, Fukushi S *et al.*, Discrimination of CpG methylation status and nucleotide differences in tissue specimen DNA by oligoribonucleotide interference-PCR. *International Journal of Molecular Sciences* (2020) 21, 5119.

本商品は研究用試薬です。臨床診断や治療を目的とした用途には使用できません。商業用を目的とした使用を希望される場合は別途ご相談ください。

▶ コスモ・バイオでは、多数の受託サービスを取り扱っています。詳細は以下のページをご参照ください。



1 www.cosmobio.co.jp

2

3

4 委託サービス

コスモ・バイオオリジナルキャラクター
コウタイガーとペプチドン

取扱店

お問い合わせ

お願い / 注意事項 記載の社名・商品名等の名称は、弊社または各社の商標または登録商標です。

希望販売価格 当社 Web ページ記載の希望販売価格は 2020 年 12 月 1 日現在の価格で、予告なく改定される場合があります。また、「希望販売価格」「キャンペーン中の参考価格」は参考価格であり、販売店様からの実際の販売価格ではございません。ご注文の際には販売店様へご確認くださいませようお願い申し上げます。表示価格に消費税は含まれておりません。

使用範囲 記載の商品およびサービスは全て、「研究用」です。人や動物の医療用・臨床診断用・食品用等としては使用しないよう、十分ご注意ください。

人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

— 各受託サービスの詳細や価格、納期に関するお問い合わせ —

TEL: 03-5632-9615

E-mail: jutaku_gr@cosmobio.co.jp

本社所在地 〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル