

DNAメチル化解析のための試料調整方法

ライセンス契約を受けていただき 本発明の実用化を目指していただける企業様を求めます。

バイサルファイトを用いるDNAメチル化解析において、バイサルファイト処理後のPCR増幅可能なDNA試料の収量を増加させる新たな方法を確立した。

◆背景

DNAのメチル化はエピジェネティック機構の一つであり、胚発生、細胞分化、表現型の差異、様々な疾病などと深く関わっている。現在、DNAメチル化解析のための様々な方法が開発されている中で、特定ゲノム領域のDNAメチル化解析法としてバイサルファイト処理を用いる方法が多用されている。この一つにRRBS(Reduced Representation Bisulfite Sequencing)法があり、メチル化をシングルセルレベルで調べることができる。しかし、シングルセル由来のDNAなどの微量試料のDNAメチル化解析を行う際、バイサルファイト処理によって、DNA試料が断片化し、次工程であるPCR増幅のための十分な量のDNAが供給されないという問題があった。

◆発明概要と利点

本発明者らは、バイサルファイト処理によって生じるDNA試料の損失を抑制するために、バイサルファイト処理後のDNA試料を一本鎖DNAリガーゼで処理することで、断片化したDNA試料を連結しPCR増幅のための十分な量のDNAを供給できるようになることを発見した。断片化したDNAをレスキューする反応は以下の手順で行う。

1. ビーズへの固定化
2. ホスファターゼ反応
3. キナーゼ反応
4. 1本鎖DNAリガーゼ反応

[図1]

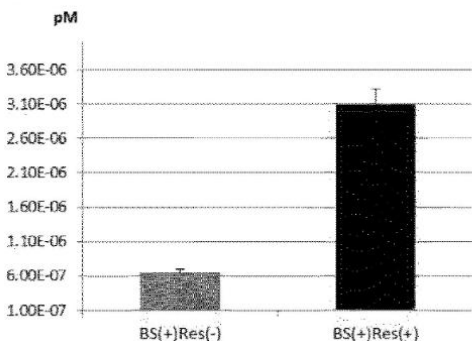


図1.バイサルファイト処理した後、レスキュー反応を行わなかった時(左)、行った(右)時のPCR増幅で得られたDNA量。レスキュー反応を行うと、およそ4.8倍もの量が得られた。

[図2]

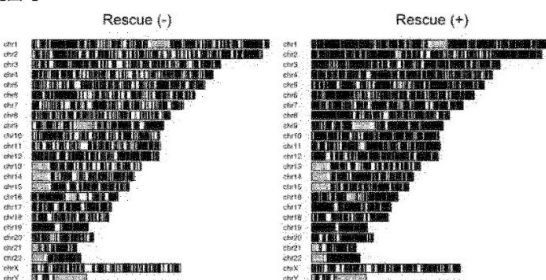


図2. 次世代シーケンサーを使用し、取得した遺伝子配列を解析した図。レスキュー無(左)レスキュー有(右)

色の濃い部分(黒)は各染色体において取得できたCpGサイトの部位を示しており、レスキュー反応を行うことにより、取得できるCpGサイトの数が約1.6倍に増加した。

◆開発段階

本発明のレスキュー方法を用いることにより、バイサルファイト処理後のPCR増幅可能なDNA試料の収量増加を確認済み。

◆適応分野

- ・ がん、遺伝性疾患の診断
- ・ 創薬ターゲットの探索
- ・ シングルセルレベルでの遺伝子発現制御の理解
- ・ 作物改良、家畜の生産性向上

◆特許権

- ・ 特許6976567
- ・ WO2017/104675

「DNAメチル化解析のための試料調製方法」

出願人：国立大学法人京都大学

◆希望の連携形態

- ・ 実施許諾契約
- ・ オプション契約(技術検討のためのF/S)

※本発明は京都大学から特許出願中です。

◆お問い合わせ先

京都大学産学連携担当
株式会社TLO京都

〒606-8501

京都市左京区吉田本町

京都大学国際科学イノベーション棟3F
(075)753-9150

licensing_ku@tlo-kyoto.co.jp

IAC Institutional
Advancement and
Communications

TLO 京都