

# rhAmp™ SNP Genotyping System

## 進化した新しいPCR

### 正確で低価格なジェノタイピングシステム

rhAmp SNP Genotyping Systemを用いれば、既存のPCRベースのSNPジェノタイピングの正確性を改善できます。この技術は正しくSNPsを検出するために2種のユニークな酵素とRNA-DNAハイブリッドのプライマーを用いています (Figure1)。IDTの有するレポーターケミストリーと組み合わせることで、高性能なSNP検出法でありながら、低価格での提供を実現できました。

## 従来法との比較

ブロッキング修飾を施したプライマーが非特異増幅を最小化します。rhAmpプライマーの3'末端には、ブロッキング修飾が付加されており、酵素：(RNaseH2)による切断が起こらなければ、伸長が抑制されます。RNaseH2により、正確なPCRが起こります。rhAmpプライマーは、3'末端近くにRNA塩基を含みます。RNaseH2は相補鎖とハイブリダイズしたRNAのみを認識・切断します。切断により、プライマーの3'末端が露出し、DNAの伸長反応が進みます。

高い識別能力を持つTaq DNAポリメラーゼ。rhAmp Genotypingは、IDT <sup>ホークアイ</sup>Hawkeye™ Taq Polymeraseというアレルミスマッチに対して特異性の高いユニークな改変が施されたポリメラーゼを採用しています。

## benefits

99.5%以上の精度(call accuracy)を試行の90%以上で示しました。最も安定性に優れている測定手法です。

アンプリコンサイズが40bpしかないような難しい領域にあるSNPsでも検出できます。

バリデート済みのADMEマーカーでも安価にご利用頂けます。

コントロールテンプレートとしてgBlocks Gene Fragments (二本鎖DNA断片) を使って、実験の正確性を確認できます。

Discover more at  
[sg.idtdna.com/jp/site/rhAmp.html](http://sg.idtdna.com/jp/site/rhAmp.html)

### rhAmp™ SNP Genotyping systemの原理

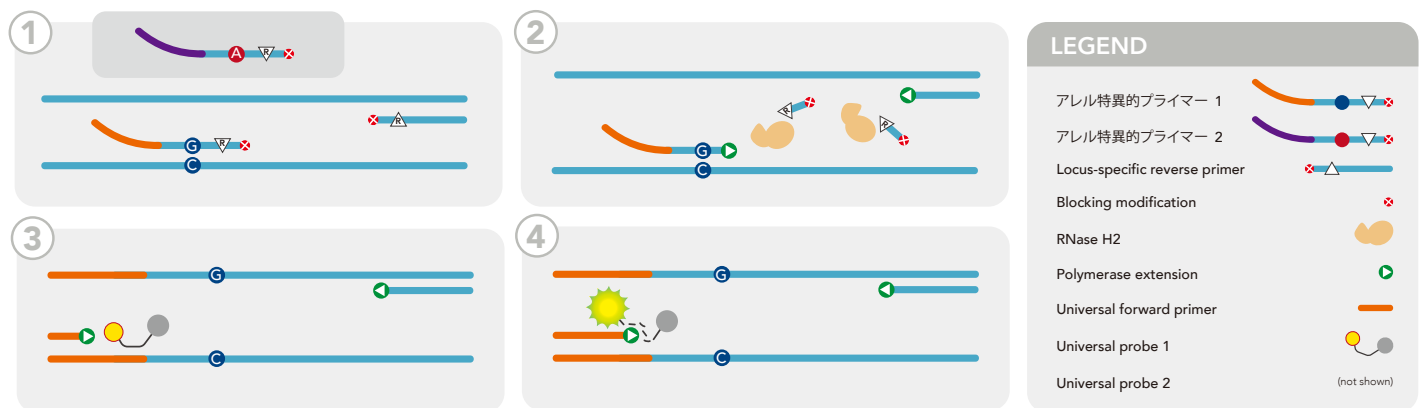


Figure 1. rhAmp SNP Genotyping System の原理

- ① 両アレル特異的プライマーがPCR開始前にすべてのSNPをチェックします。
- ② ターゲット配列に完全にハイブリダイズしている場合、RNaseH2酵素が3'末端のブロッキング部位を切断し、<sup>ホークアイ</sup>Hawkeye™ Taq Polymeraseにより伸長反応が起こります。
- ③ 最初の2回の増幅サイクルでテール配列が増幅産物に付加されることで、プローブが増幅産物を認識し、プローブ法の様に増幅をモニタリングできます。
- ④ ポリメラーゼの伸長により、プローブが分解され、シグナルを発します。

[sg.idtdna.com/jp/site](http://sg.idtdna.com/jp/site)

**IDT**  
INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES

## シンプルなプローブデザインと簡単な実験操作

rhAmp SNP Genotyping System は、一般的なリアルタイムPCR機器で高品質なジェノタイピングが行えます。

- プレデザインアッセイ - ヒト遺伝子のジェノタイピングに
- カスタムデザインツール - 新規のヒトSNPsやヒト以外の種での設計に
- マスターミックスとユニバーサルレポーターミックス - 複雑な試薬の調製なしにすぐにお使い頂けます。リファレンスダイの有無も選択できます。

## rhAmpプレデザインアッセイ

rhAmpプレデザインアッセイは、頻度の低いSNP(>1%)に対してもプレデザインを提供しています。rhAmp SNPアッセイは、試行の90%以上で、99.5%以上の精度 (call accuracy)を示します。弊社のデータベースには数百万のプレデザインが設計されており、現在も増え続けています。アッセイライブラリーには下記が含まれています。

- 約 70,000 個のCoding SNPs\*
- RefSeqで検索可能な330,000 個のcommon SNPs\*
- 薬物動態のADME - 吸収 (absorption)、分布(distribution)、代謝 (metabolism)、排泄(excretion) に対するバリデートされたSNPsアッセイ

\*2017年9月現在

## カスタムアッセイデザインツール

rhAmp Genotyping Design Toolは、現在プレデザインされていないヒトSNPsやヒト以外の種のSNPsに使用可能です。IDTのカスタムアッセイは、短いものでは40bpのアンプリコンでデザインできるため、高い確率でデザインを提供でき、これまで他のツールでは解析ができなかった難しい領域のSNPsが検出できます。カスタムアッセイのデザインは、ターゲットのSNPsをFASTA形式でウェブサイトアップロードして頂くだけで簡単に完了します。

## シングルチューブで迅速かつ効率的に

rhAmp SNP Genotyping Systemはとても簡単に使うことができます (Figure 2)。シングルチューブで特別な操作もなく、90分のサイクリングタイムでジェノタイピングデータが得られます。rhAmpジェノタイピングは、リアルタイムPCR機器で実施でき、サーマルサイクラーとしてPCR機器を用い、それをリアルタイムPCR機器に移して分析することも可能です。rhAmp SNP Genotyping Systemは、様々なリファレンスダイを必要とする機器に対するマスターミックス及びレポーターミックスを提供しています。

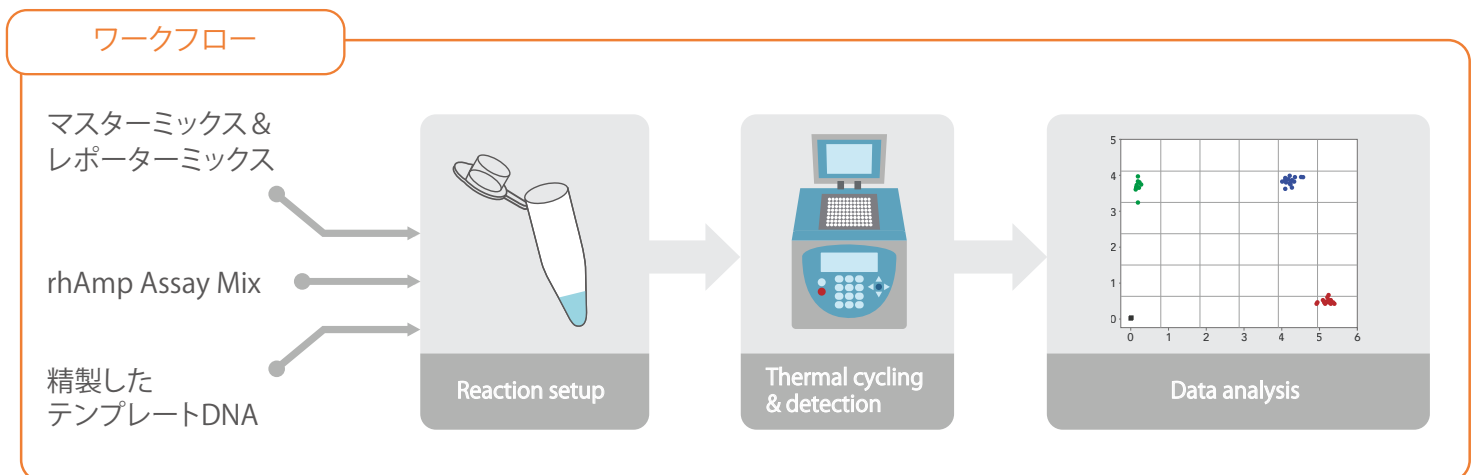


Figure 2. シンプルな実験操作は、ラボワークを効率化します。

ジェノタイピングに必要な試薬は全て製品中に含まれており、室温でも48時間は安定です。rhAmp SNP Genotyping Systemは、一般的なPCR機器でお使い頂けます。

## SN比の向上で得られるより信頼性の高いコール

rhAmp SNP Assays は、これまでの5'ヌクレースアッセイ法よりも高いSN比が得られます(Figure 3 - 4)。rhAmpテクノロジーは、RNA-DNAハイブリッドプライマーが3'末端をマスクしているためプライマーダイマーや非特異アンプリコンの増幅を防ぎ、リアクション試薬の無駄な消費も避けられます。さらにrhAmp universal reporterの配列は、安定したシグナルの供給に最適化されており、クラスターの分離を改善することでより信頼性の高いジェノタイピングコールが得られます(Figure3)。

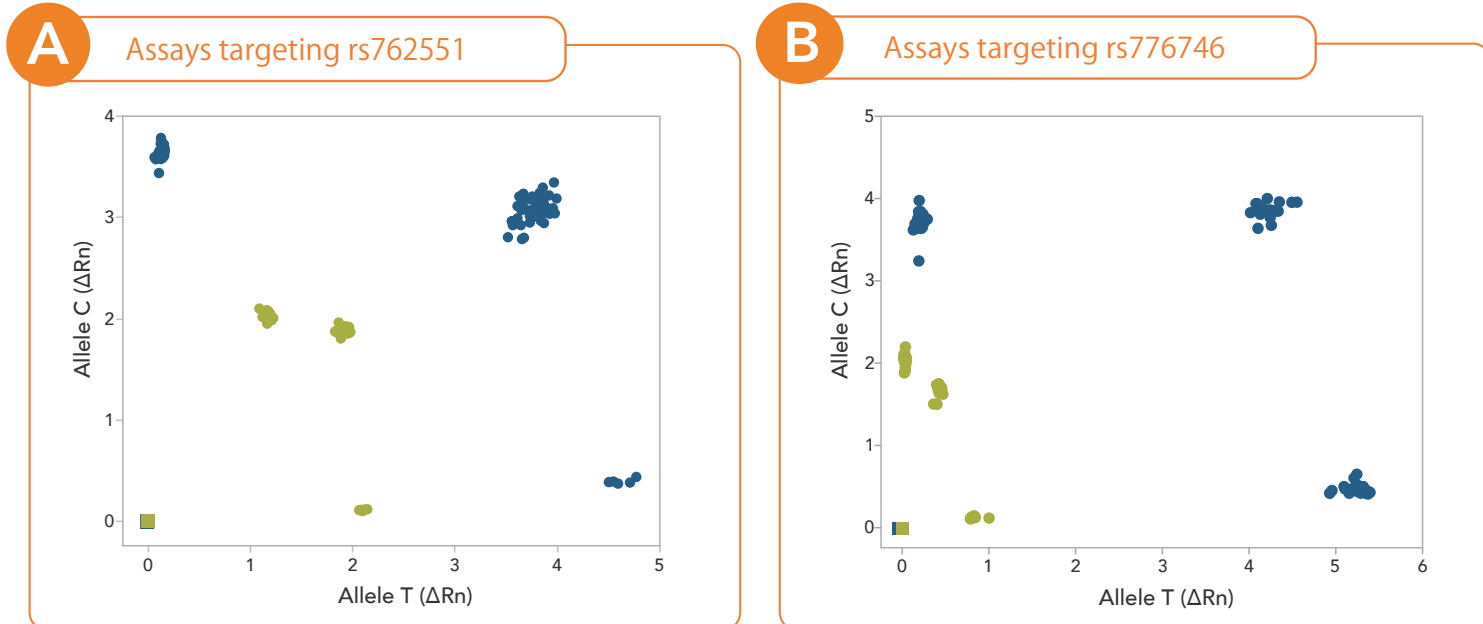


Figure 3. rhAmp™ SNP Genotypingは、Supplier Tと比較して、より強い蛍光シグナルとはっきりとしたクラスターの分離が見られました。

rhAmp ADME Assays(● blue circles)のアレル識別プロットは、ADME遺伝子である(A)CYP1A2(rs762551)、(B)CYB3A5(rs776746)において、Supplier T(● green circles)の5'ヌクレースアッセイよりも強いシグナルを示しています。Coriell Instituteで91名のゲノムDNAを5μLの系に3ngずつ用いて分析を行い、分析にはQuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR System (Thermo Fisher)を用いました。ADME = absorption (吸収), distribution (分布), metabolism (代謝), and excretion (排泄)。

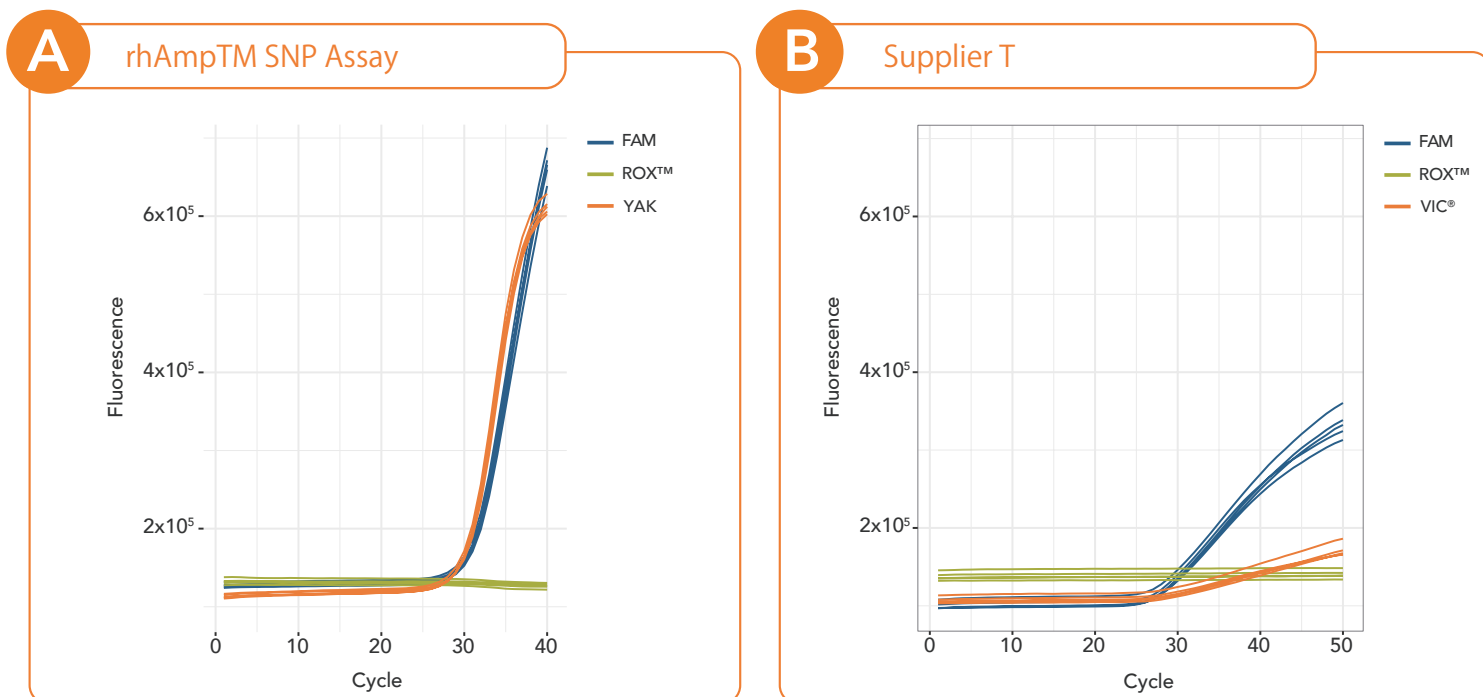


Figure 4. rhAmp™ SNP Assayは、Supplier Tと比較して、少ないサイクル数で高いシグナルを示します。

ADME遺伝子のCYP3A5(rs776746)をターゲットとしたマルチプレックスのジェノタイピングアッセイにおいて、(a)rhAmp SNP Assayは、(B) Supplier Tの5'ヌクレースアッセイと比較して、より均一で高い蛍光を示しています。Coriell Instituteで5名のゲノムDNAを5μLの系に3ngずつ用いて分析を行い、分析にはQuantStudio™ 7 Flex Real-Time PCR System (Thermo Fisher)を用いました。サイクル条件は、それぞれのサプライヤーの推奨条件に従いました。rhAmp SNP Genotyping: 40サイクル、5'ヌクレースジェノタイピングアッセイ (Supplier T): 50サイクル

## Ordering information

rhAmp SNP Genotyping Systemには、ご選択頂いたアッセイとGenotyping Master Mix、Reporter Mixが必要です。マスターミックスとレポーターミックスは、ご使用量に応じたサイズをご選択頂けます。SNP及びADMEアッセイはチューブ及びプレート形式でオーダー頂けます。コントロールテンプレート(二本鎖DNA)もオーダープロセス中に簡単にご購入いただけます。

## rhAmp SNP Assays and rhAmp ADME SNP Assays

rhAmp SNP Assaysは、ユニバーサルレポーターをベースとし、特異性と正確性を向上させたカスタムデザインツールによって設計され、RNaseH2反応型プライマーを用いるSNPジェノタイピングアッセイです。rhAmp ADME SNP Assaysは、薬物動態に重要な吸収、分布、代謝、排泄に関わる遺伝子群を対象としたバリデート済みのアッセイです。

納期：1～2週間

Product	サイズ	反応数	濃度	価格 (Assay)	価格 (ADME Assay)
rhAmp™ SNP Assay or	XS	100	20 X	¥11,540	¥12,690
	S	750	20 X	¥29,070	¥31,970
rhAmp™ ADME SNP Assay	M	2500	80 X	¥50,980	¥56,075
	L	6000	80 X	¥102,100	¥112,310

\*反応数は10 µL反応系での回数です。

## rhAmp Genotyping Master Mix

rhAmp SNP アッセイに必要な酵素と試薬類を含む2xのマスターミックスです。

納期：1週間

Product	サイズ	ユニットサイズ	カタログ #	価格
rhAmp™ Genotyping Master Mix	0.5	1 x 0.5 mL	1076014	¥7,300
	5	1 x 5 mL	1076015	¥40,750
	10	2 x 5 mL	1076016	¥72,300
	25	5 x 5 mL	1076017	¥145,920
	50	1 x 50 mL	1076018	¥281,760

## rhAmp Reporter Mix

40xのユニバーサルレポータープローブミックスです。リファレンスダイの有無を選択できます。rhAmp Genotyping Master Mix、rhAmp Assaysと合わせて使います。

納期：1週間

Product	ユニットサイズ	カタログ #	価格
rhAmp™ Reporter Mix w/Reference	25µL	1076020	¥1,930
	250µL	1076021	¥7,230
	500µL	1076022	¥8,840
	1250µL	1076023	¥12,050
	2500µL	1076024	¥15,910
rhAmp™ Reporter Mix	25µL	1076025	¥1,750
	250µL	1076026	¥6,570
	500µL	1076027	¥8,030
	1250µL	1076028	¥10,955
	2500µL	1076029	¥14,460

## gBlocks® Gene Fragments (optional)

gBlocks Gene Fragmentsは、コントロールとして有用な配列確認済みの2本鎖DNAです。主に500bp以下の配列を提案させて頂きます。(¥11,000、納期：5営業日～) 詳細はウェブサイトをご確認ください。

### ご注文の流れ



代理店

お問い合わせ先

2017.10

INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES 株式会社

<http://sg.idtdna.com/jp/site>

IDT プライマー

検索

[japan-cc@idtdna.com](mailto:japan-cc@idtdna.com)

〒108-0073 東京都港区三田一丁目4番28号 三田国際ビル24階

TEL 03-6865-1217 FAX 03-6865-1218