



Application

# 造血幹細胞移植前におけるマルチプレックスPCRによるSTR\*解析 –ドナーとレシピエントの識別–

\*STR: Short Tandem Repeat

製品名

KAPA2GFast Multiplex PCR Kit (KK5801)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記フィードバックは、神戸市立医療センター中央市民病院 細胞遺伝子検査室 丸岡隼人様のご厚意により掲載させていただきました。

造血幹細胞移植後のキメリズム解析によるドナーとレシピエントの細胞比率の測定は生着確認と拒絶反応の早期発見に有力な情報を提供します。STR領域の繰り返し配列の違いに基づくSTR-PCRを用いて、移植前に複数のローカスをスクリーニングし、レシピエントとドナーを識別できるローカスを検索することにより、移植後のキメリズム解析が可能となります。

今回、KAPA2GFast Multiplex PCR Kitを用い、5ローカスをターゲットとしたマルチプレックスSTR-PCRを検討しました。

## 方法

### PCR

### 検出

### 判定

#### ● サンプル

血液 (または骨髄) サンプルから精製したゲノムDNA (スピンカラム精製)

#### ● 5plex反応組成

H <sub>2</sub> O	9.5μl
2×master mix	12.5μl
primer mix	2μl (終濃度各0.2μM)
DNA(25ng/μl)	1μl
Total	25μl

#### ● 反応プログラム

95℃	3min	} 25cycle
95℃	30sec	
60℃	30sec	
72℃	15sec	
10℃	∞	

46min で終了

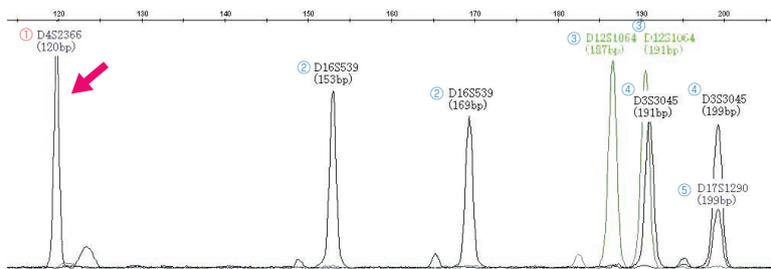
使用機器: BIOER 社 Life Pro Thermal Cycler

#### ● 解析

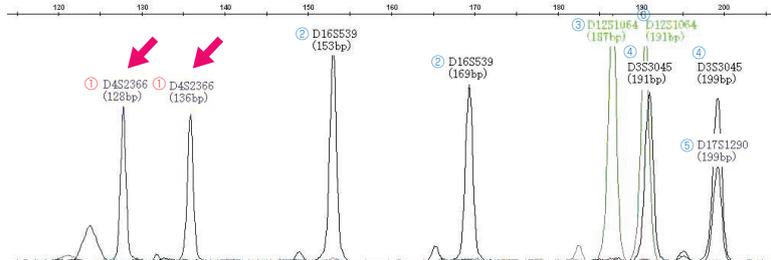
PCR後、ABI310 Genetic Analyzerにてフラグメント解析しました。

## 結果

### ドナーの ピークパターン



### レシピエントの ピークパターン



上図①D4S2366において、ドナー(120bp)とレシピエント(128bp,136bp)で異なるピークパターンが得られ(矢印)、識別が可能でした。また、PCRの反応時間は、僅か46分間でした。



### お客様のコメント

5ローカス全てにおいて良好な結果が得られました。また、文献\*で表記されている条件(トータル時間:5時間)に比して2時間以上の時間短縮が可能でした。

\*文献: Leukemia(2003) 17, 224-227

Copyright(C) NIPPON Genetics Co, Ltd All Rights Reserved. 2012.MAR

