

LAMP法用測定装置LF-8 お客様活用事例



LAMP-FLP 法を用いた遺伝子多型解析装置として開発されたLF-8 の活用事例をご紹介します。
LAMP-FLP法は、LAMP法による遺伝子増幅と、蛍光共鳴エネルギー移動現象(FRET)を利用して、
遺伝子多型を簡便に検出することができる方法です。

LAMP-FLP法を用いたムギ類赤かび病菌MBC薬剤抵抗性系統の迅速検出

以下に掲載している写真およびデータは、三重大学大学院 生物資源学研究所 植物医科学研究室 中島千晴 先生よりご提供いただきました。

MBC (Methyl-2-benzimidazole carbamate) 薬剤は β -チューブリンに重合することで細胞分裂を阻害する殺菌剤であるが、ムギ類赤かび病菌において β -チューブリン遺伝子の変異による薬剤抵抗性系統の存在が問題となっている。そこで β -チューブリン遺伝子の変異部位にLAMP-FLP法プライマー・プローブセットを設計し、LAMP法用測定装置LF-8 を用いてムギ類赤かび病菌MBC薬剤抵抗性系統の迅速検出を試みた。

① LAMP-FLP法プライマー・プローブセットの性能評価

β -チューブリン遺伝子の167番目のアミノ酸変異を検出するLAMP-FLP法プライマー・プローブセット（以下、プライマーセット）と、同遺伝子の198番目と200番目のアミノ酸変異を検出するプライマーセットをそれぞれ設計した。

設計した各プライマーセットの性能を評価するため、ムギ類赤かび病菌MBC薬剤感受性株と抵抗性株由来のPCR産物を鋳型にして、会合曲線解析によるFRETのピーク温度に感受性株と抵抗性株で明確な差が生じるかを確認した。

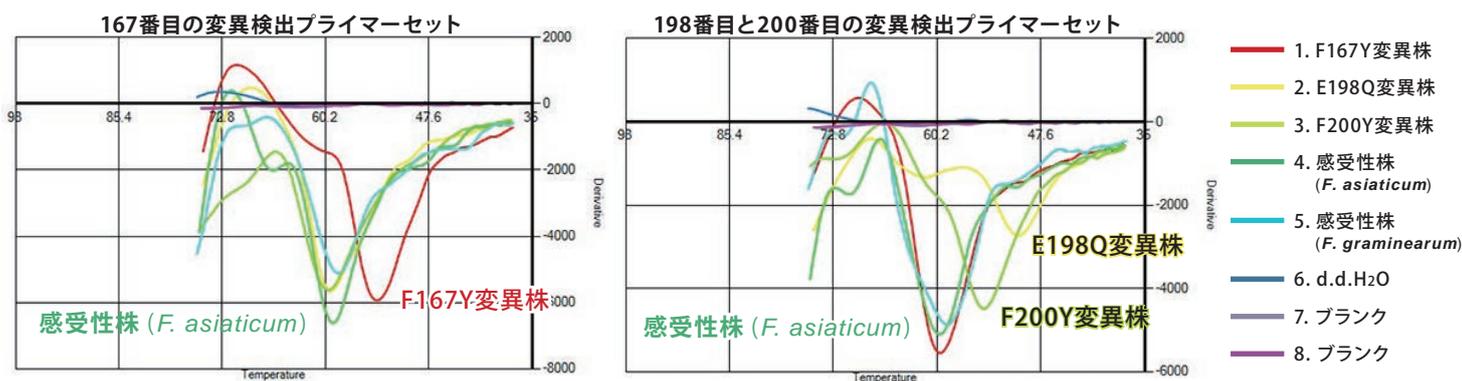


図1 LF-8 Manager (解析ソフトウェア) による会合曲線解析

表1 会合曲線解析にて観察されるFRETのピーク温度

感受性株 (*Fusarium asiaticum*) と変異株とのFRETピーク温度の差を赤字で表記している。

	167番目の変異検出プライマーセット	198番目と200番目の変異検出プライマーセット
F167Y変異株	53.5°C 約5°Cの差	58.2°C
E198Q変異株	57.7°C	50.9°C 約10°Cの差
F200Y変異株	57.7°C	54.8°C 約5°Cの差
感受性株 (<i>F. asiaticum</i>)	59.0°C	60.2°C
感受性株 (<i>F. graminearum</i>)	58.2°C	59.8°C



図2 LF-8 本体の自動判定機能によるLED点灯パターン

LAMP-FLP法による会合曲線解析の結果、感受性株と抵抗性株のFRETピーク温度に明確な温度差が生じたので、LF-8 で自動判定を行うことが可能であった。

2 実検体を用いた検討

ムギ類赤かび病菌MBC薬剤耐性系統を検出する LAMP-FLP法プライマー・プローブセット (以下、プライマーセット) ができたので、実検体を用いて感受性株と抵抗性株を判定できるかを確認した。



図3 迅速検出の操作の流れ

198番目と200番目の変異検出プライマーセット



Lane 1. E198Q変異系統と感受性系統が混在する分生子塊
Lane 2. 感受性系統のみからなる分生子塊
Lane 3. d.d.H₂O

図4 病斑上に形成された分生子塊を用いたLF-8の判定結果

LAMP-FLP法により、実検体からもムギ類赤かび病菌MBC薬剤抵抗性系統を簡便かつ迅速に検出することができた。

【詳細は以下の文献をご覧ください】

Simultaneous detection of benzimidazole-resistant strains of Fusarium head blight using the loop-mediated isothermal amplification-fluorescent loop primer method

Komura, R., Kawakami, T., Nakajima, K. et al. J Gen Plant Pathol (2018).

<https://doi.org/10.1007/s10327-018-0788-1>

関連製品

Code No.	品名	包装単位	希望納入価格(税別)
NE4041	LAMP法用測定装置 LF-8 Plus	1台	650,000 円
NE6991	LAMP-FLP法用DNA増幅試薬セット	192テスト用	24,000 円

【ライセンスに関して】

- LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) 法は、栄研化学株式会社が特許を保有しています。
- 株式会社ニッポンジーンは、LAMP法を用いた本品の開発、製造、および販売を許諾されています。

ご購入に関しては e Genome Order をご利用下さい

富士通Japan株式会社
e Genome Order事務局

[TEL] 0120-202-294
[URL] <https://genome.e-mp.jp>
[E-mail] contact-egenome@cs.jp.fujitsu.com

性能等・技術的なご質問は以下にお問い合わせ下さい

 株式会社ニッポンジーン

[Address] 〒930-0834 富山県富山市問屋町二丁目7番18号
[TEL] 076-451-6548 [FAX] 076-451-6547
[URL] <http://nippongene-analysis.com>
[E-mail] support@nippongene-analysis.com