

## ● 原著論文 ●

# PCR-MPH2 法を用いた日本人集団における HLA-A, -B, -C, -DRB1 および -DQB1 遺伝子型決定法の確立

松下 正毅<sup>1)</sup>、小川 貴裕<sup>1)</sup>、松見 達也<sup>2)</sup>、長門 正貴<sup>1)</sup>、岡 孝紀<sup>1)</sup>、川井 信太郎<sup>1)</sup>

1) 湧永製薬株式会社, 創薬研究所

2) 湧永製薬株式会社, 診断薬営業部

(平成 15 年 9 月 12 日受付)

**要約:** 我々は、マイクロタイタープレートを用いた新しい HLA タイピング法である PCR-MPH2 法を確立した。この方法では PCR から発色操作までの条件をすべて統一することにより HLA-A, -B, -C, -DRB1 および-DQB1 遺伝子のタイピングを同時に行うことが可能となった。各遺伝子座に対して、日本人に報告されている 2 桁のタイピングを行うために HLA-A 遺伝子用に 24 種類, HLA-B 遺伝子用に 24 種類, HLA-C 遺伝子用に 23 種類, HLA-DRB1 遺伝子用に 24 種類, および HLA-DQB1 遺伝子用に 17 種類の SSO プローブを用いた。各プローブの陽性および陰性シグナルの区別が明確となるようにプローブ配列の最適化を行った。従来のマイクロタイタープレートを用いた方法と比べ、ハイブリダイゼーション温度を 37°C にしたこと, TMAC での洗浄操作が不要となったことで、操作性が大きく向上した。本法は PCR 反応から判定の出力まで約 5 時間半で終了し、一人の検査者が一度の操作で 32 項目のタイピングが可能である。また、少数検体の多遺伝子座を同時にタイピングする必要がある場合にも有用な方法である。

**キーワード:** HLA 遺伝子タイピング, PCR-MPH

**Simultaneous HLA genotyping using the microtiter plate hybridization-2 method in Japanese population.**

Masaki Matsushita<sup>1)</sup>, Takahiro Ogawa<sup>1)</sup>, Tatsuya Matsumi<sup>2)</sup>, Masaki Nagato<sup>1)</sup>, Takanori Oka<sup>1)</sup>, Shintaro Kawai<sup>1)</sup>

1) Institute for Medical Research, Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd., Hiroshima, Japan

2) Diagnostic Sales Department, Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd., Hiroshima, Japan

**Summary:** We have established a simple and economical HLA genotyping method using the microtiter plate hybridization (MPH), which enables us to perform simultaneous DNA typing of HLA-A, -B, -C, -DRB1 and -DQB1 loci using the same PCR parameters and hybridization conditions. To discriminate HLA alleles at serological group existing in Japanese population, 24, 24, 23, 24, and 17 motif sequences were selected for HLA-A, -B, -C, -DRB1, and DQB1 genes, respectively. Using this method, 32 HLA loci can be typed within 5 h by one technologist.