

表 1 リアルタイム PCR に用いた **TaqMan** プローブ、プライマーの配列とその位置

	Sequence	Position
Hp5'-F	5'-CACATTACTGATTCAGGCTGGA-3'	sequence from 513–536 bp, GenBank no. M10935
Hp5'-R	5'-CCTTTTCACAGTAATTTCTCCACCT-3'	reverse sequence from 571–596 bp, GenBank no. M10935
Hp5'-Taqman-probe	5'-CAL Fluor Red 610-AGCTTTTAAGCAATAGGGAGATGGCCACA-BHQ2-3'	sequence from 538–566bp, GenBank no. M10935
Hp2-F	5'-GGAGCTGCTCTGCACATCAA-3'	reverse sequence from 4547 to 4566 bp in GeneBank no. M10935)
Hp2-R	5'-CCCTTTCAATGAATTCAGGGA-3'	sequence from 4448 to 4469 bp in GeneBank no. M10935
Hp2-Taqman-probe	5'-CAL Fluor Orange 560-ACCCCGAATAGAAGCTCGCGAACTGTA- BHQ1-3'	reverse sequence from 4511 to 4537 bp in GeneBank no. M10935
Hpdel-F	5'-TCTTTATGGCACTGGGGAACA-3'	sequence from 694–714 bp, GenBank no. AB025320
Hpdel-R	5'-AGCAAGACACTCGTGAGTGGAA-3'	reverse sequence from 822–801 bp, GenBank no. AB025320
Hpdel-Taqman-probe	5'-FAM-TGTGCAAGAGCCTTTCCAATTTGATCABHQ1-3'	reverse sequence from 772–799 bp, GenBank no. AB025320
Hpdel-690F	5'-TATTTCTTTATGGCACTGGGGAACA-3'	sequence from 690 to 714 bp in GeneBank No. AB025320
Hpdel-823R	5'-GAGCAAGACACTCGTGAGTGGAAAT-3	reverse sequence from 823-799 bp of GeneBank No. AB025320 and reverse sequence from 13,067 to 13,043 bp of GeneBank No. NC_000016.9
Hpr-F	5'-CTGCAACTATTGGAAATGAGATCAGC-3'	sequence from 12,920 to 12,945 bp in GeneBank No. NC_000016.9, located in the 3' end of the deleted region in Hpdel, Intron 4 of the HPR

***Hp<sup>del</sup>*** の欠失点は **GenBank no. AB025320** の **782 -783 bp** に位置している。

表 2 モンゴル人 946 サンプルのハプトグロビン遺伝子型

<i>Hp</i> 型	サンプル数	$2^{-\Delta\Delta Ct}$ sample ( <i>Hp</i> 2: <i>Hp</i> 5')の 平均値 ± 標準偏差	データ範囲
<i>Hp</i> <sup>1</sup> / <i>Hp</i> <sup>1</sup>	70	0 ± 0	0 - 0
<i>Hp</i> <sup>1</sup> / <i>Hp</i> <sup>2</sup>	363	0.49 ± 0.04	0.38 - 0.64
<i>Hp</i> <sup>2</sup> / <i>Hp</i> <sup>2</sup>	493	1.00 ± 0.08	0.76 - 1.27
<i>Hp</i> <sup>1</sup> / <i>Hp</i> <sup>del</sup>	5	0 ± 0	0 - 0
<i>Hp</i> <sup>2</sup> / <i>Hp</i> <sup>del</sup>	12	1.01 ± 0.10	0.92 - 1.29
<i>Hp</i> <sup>1</sup> / <i>Hp</i> <sup>3</sup>	2	1.02	0.98 - 1.06
<i>Hp</i> <sup>2</sup> / <i>Hp</i> <sup>3</sup>	1	1.36	1.36

表 3 2型糖尿病患者の臨床データとハプトグロビン遺伝子型

	<i>Hp</i> <sup>1</sup> / <i>Hp</i> <sup>1</sup>	<i>Hp</i> <sup>1</sup> / <i>Hp</i> <sup>2</sup>	<i>Hp</i> <sup>2</sup> / <i>Hp</i> <sup>2</sup>	その他	<i>P</i> value
男/女( <i>M</i> )	13/14 (27)	53/45 (98)	75/74 (149)	3/4 (7)	0.793
年齢 ( <i>y</i> )	50.9±11.0	51.3±9.8	53.2±9.1	54.4±14.5	0.217
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29.6±5.2	29.7±5.7	29.6±5.5	27.3±2.9	0.995
体脂肪率 (%)	37.4±10.2	36.7±9.2	37.1±10.9	35.3±9.8	0.936
ウエスト/ヒップ比	0.92±0.08	0.94±0.08	0.93±0.08	0.91±0.10	0.527
最高血圧 (mmHg)	144.8±26.3	145.7±27.6	147.6±29.1	128.6±14.4	0.827
最低血圧 (mmHg)	87.8±15.5	87.0±15.5	88.1±14.3	80.4±11.5	0.841
総コレステロール (mg/mL)	200.9±46.7	192.8±39.9	190.6±40.8	184.8±30.7	0.634
HDLコレステロール (mg/mL)	50.1±12.6	49.3±11.6	49.5±10.4	49.4±13.3	0.968
トリグリセリド (mg/mL)	132 (39-1740)	164 (37-1480)	135 (49-1161)	112 (70-168)	0.517
空腹時血糖 (mmol/L)	12.1 (5.3-18.9)	11.1 (4.4-27.5)	10.4 (2.7-24.8)	8.6 (7.3-13.6)	0.443
空腹時インシュリン (mU/mL)	16.8 (5.2-88.8)	18.9 (1.6-85.5)	18.1 (1.6-121.0)	16.1 (1.5-29.0)	0.594
アディポネクチン (ng/mL)	21.3 (4.4-86.6)	18.9 (3.1-267.6)	17.6 (1.0-220.6)	13.3 (5.2-38.5)	0.829
フルクトサミン (mmol/mL)	323 (153-516)	368 (225-589)	343 (216-709)	366 (248-529)	0.396

表 4 非糖尿病患者の臨床データとハプトグロビン遺伝子型


	<i>Hp<sup>1</sup>/Hp<sup>1</sup></i>	<i>Hp<sup>1</sup>/Hp<sup>2</sup></i>	<i>Hp<sup>2</sup>/Hp<sup>2</sup></i>	その他	<i>P</i> value
男/女( <i>N</i> )	15/28 (43)	119/146 (265)	134/210 (344)	8/5 (13)	0.244
年齢 (y)	47.6±11.4	50.1±10.6	49.4±10.4	52.2±8.4	0.319
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.3±4.6	26.9±4.9	26.6±4.5	29.0±6.1	0.700
体脂肪率 (%)	36.2±12.6	33.7±9.8	34.7±9.6	36.9±8.6	0.235
ウエスト/ヒップ比	0.80±0.10	0.82±0.11	0.82±0.11	0.80±0.17	0.272
最高血圧 (mmHg)	132.6±22.6	131.5±22.6	130.0±23.1	136.4±34.3	0.649
最低血圧 (mmHg)	83.8±13.3	84.0±14.4	83.6±15.5	85.0±17.7	0.957
総コレステロール (mg/mL)	176.8±37.4	176.8±34.1	180.4±38.3	203.8±42.1	0.592
HDLコレステロール (mg/mL)	53.3±9.6	54.9±11.5	53.8±11.7	56.5±9.4	0.556
トリグリセリド (mg/mL)	101 (32-568)	87 (30-1210)	96 (34-635)	134 (67-292)	0.237
空腹時血糖 (mmol/L)	5.6 (4.6-6.8)	5.5 (4.2-6.9)	5.5 (4.2-6.8)	5.6 (4.4-6.6)	0.921
空腹時インシュリン (mU/mL)	11.6 (2.5-213.0)	11.7 (1.5-87.7)	11.3 (1.0-161.0)	12 (2.86-44.0)	0.792
アディポネクチン (ng/mL)	33.8 (4.3-85.4)	32.3 (2.0-249.5)	34.0 (3.0-103.2)	27.9 (4.81-66.9)	0.891
フルクトサミン (mmol/mL)	238 (206-288)	236 (191-340)	236 (194-307)	227 (205-255)	0.855


参考資料 1

神田芳郎、副島 美貴子、上村 繁雄、岩本 禎彦. ハプトグロビン多型とモンゴル人集団における生活習慣病の相関解析. 第 日本法医学会九州地方会. 2009; 佐賀

2010/4/4

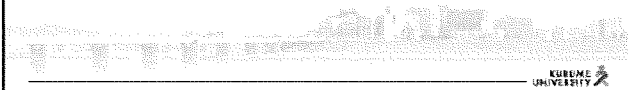
ハプトグロビン多型とモンゴル人集団における  
生活習慣病の相関解析




神田 芳郎<sup>1)</sup>, 副島 美貴子<sup>1)</sup>, 上村 繁雄<sup>1)</sup>, 岩本 禎彦<sup>2)</sup>  
<sup>1)</sup>久留米大, <sup>2)</sup>自治医大 

**Hpの多型**

- 1955年  
Smithiesにより多型の存在が報告される。
- 主要な表現型  
Hp1, Hp2-1, Hp2
- その他の表現型  
Hp Johnson, Hp2-1M, Hp0 (*Hp<sup>del</sup>*)





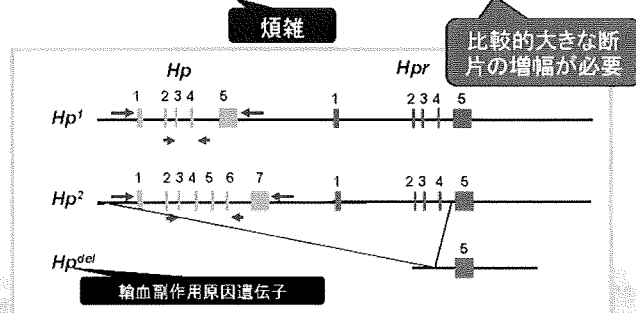
## Hpとさまざまな疾患との相関(1)

- 糖尿病合併症
- 心血管障害 (虚血性心疾患、高血圧など)
- 妊娠高血圧症候群
- 脂肪代謝 (脂肪肝)
- セリアック病
- 感染症 (マラリア、結核、HIV、C型肝炎など)
- がん (頸部腫瘍、乳癌、卵巣癌、白血病など)
- 骨粗しょう症

どれも相関は不確定

## Hpの型判定法

1. 表現型: 電気泳動法、HPLC法、ELISA法
2. 遺伝子型: Southern blot法、PCR法



Hp, Hprの構造 (Hp<sup>1</sup>, Hp<sup>2</sup>およびHp<sup>del</sup>)

## Hpとさまざまな疾患との相関(2)

- 疾患との関連解析の効率化
- ↓
- Hpの簡便な型判定法の確立が必要
- ↓
- Real-time PCR (TaqMan) 法の利用
1. 比較Ct法による主要な遺伝子型の判定
  2. 輸血副作用原因遺伝子  $Hp^{del}$  の検出が可能  
(日本DNA多型学会第17回学術集会)

KURUME  
UNIVERSITY

## 方法

### 比較Ct法 ( $\Delta\Delta$ CT法) によるコピー数の定量

基準となるサンプル

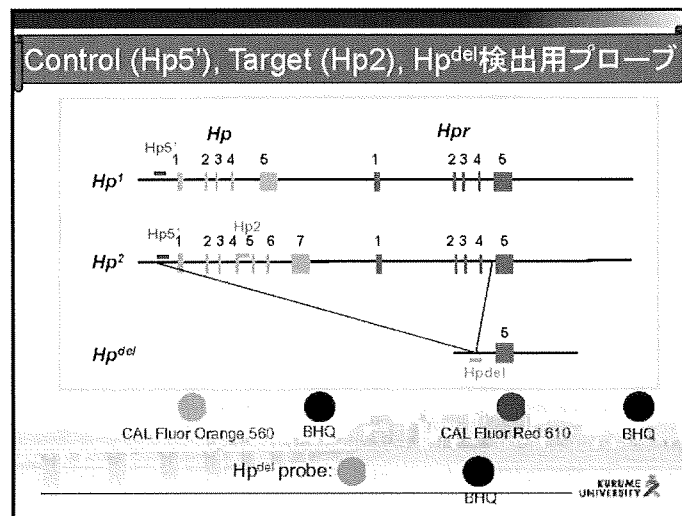
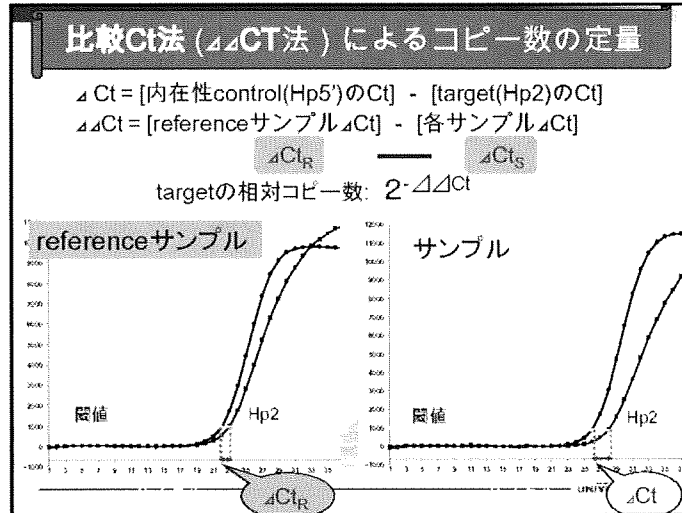
が何サイクル早く、あるいは遅く閾値に到達するかに注目して相対定量する方法

Ct: 閾値に達するまでに要するサイクル数

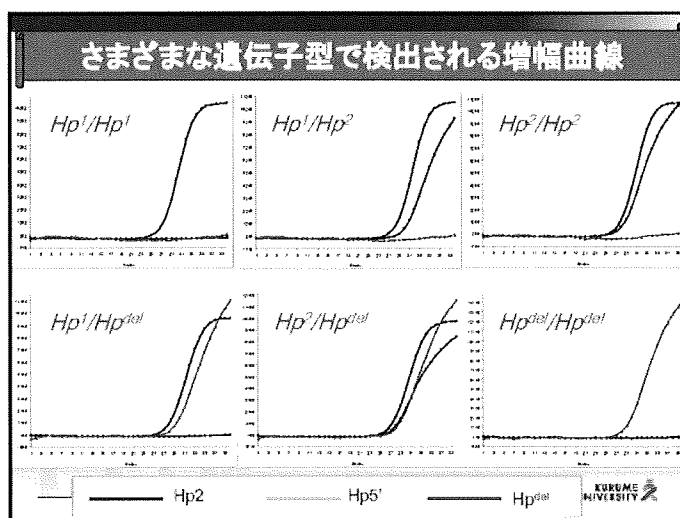
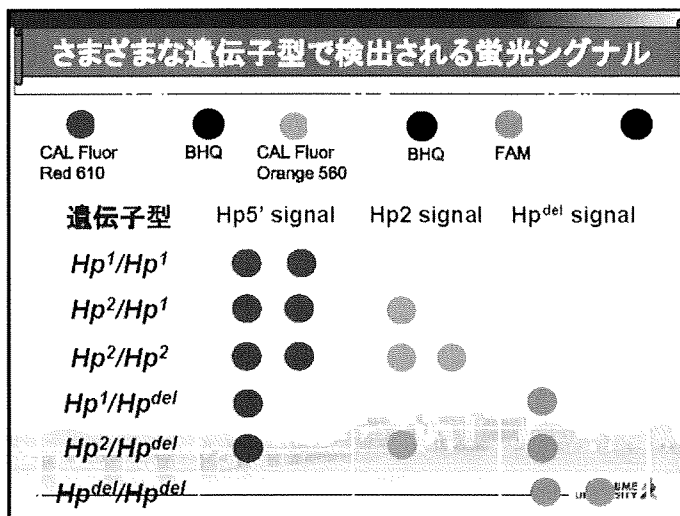
<条件>

1. target遺伝子と内在性control遺伝子の増幅効率がほぼ等しい
2. 増幅効率が1に近い

KURUME  
UNIVERSITY







### 材料と方法

モンゴル人集団 946サンプル

- インフォームド・コンセントを取り採血、各種測定、検査を実施
- 末梢血からゲノムDNAを抽出
- Hpの遺伝子型判定
  1. コンベンショナルPCR法
  2. Real-time PCR (TaqMan) 法
- 有意差検定には、Fisher's exact test, One-way ANOVAあるいはKruskal-Wallis testを用いた。

結果を比較

モンゴル科学大学・自治医科大学・久留米大学  
各大学の倫理委員会の承認

### 結果(1) モンゴル人946 サンプルのHp遺伝子型

Hp型	サンプル数	2-ΔΔCt sample (Hp2:Hp5)の 平均値 ± 標準偏差	データ範囲
Hp <sup>1</sup> /Hp <sup>1</sup>	70	0 ± 0	0 - 0
Hp <sup>1</sup> /Hp <sup>2</sup>	363	0.49 ± 0.04	0.38 - 0.64
Hp <sup>2</sup> /Hp <sup>2</sup>	493	1.00 ± 0.08	0.76 - 1.27
Hp <sup>1</sup> /Hp <sup>del</sup>	5	0 ± 0	0 - 0
Hp <sup>2</sup> /Hp <sup>del</sup>	12	1.01 ± 0.10	0.92 - 1.29
Hp <sup>1</sup> /Hp <sup>3</sup>	2	1.02	0.98 - 1.06
Hp <sup>2</sup> /Hp <sup>3</sup>	1	1.36	1.36

2法で一致

矛盾

Hp2:Hp5' 値が大

- 2種類のHp遺伝子型の結果は946サンプル中943サンプルで一致した。
- 2法で矛盾するサンプル2つと、real-time PCRでHp2/Hp5'値がHp2/Hp2型よりも大きいサンプル1つが存在し、これらは血清を用いた表現型判定の結果Hp Johnsonアリル(Hp<sup>3</sup>)のヘテロ接合体であることが示された。(第93次日本法医学会学術全国集会)

2型糖尿病、体格指標、臨床データとの関連解析

結果(2) 2型糖尿病患者の臨床データとHp遺伝子型

	Hp1/Hp1	Hp1/Hp2	Hp2/Hp2	その他	Pvalue
男/女(N)	13/14 (27)	53/45 (98)	75/74 (149)	3/1 (7)	0.793
年齢 (y)	50.9±11.0	51.3±9.8	53.2±9.1	54.4±14.5	0.217
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29.6±5.2	29.7±5.7	29.6±5.5	27.3±2.9	0.996
体脂肪率 (%)	37.4±10.1	36.7±9.2	37.1±10.9	35.3±9.8	0.996
ウエスト/ヒップ比	0.92±0.08	0.94±0.08	0.93±0.08	0.91±0.10	0.527
最高血圧 (mmHg)	144.8±26.3	145.7±27.6	147.6±29.1	138.6±14.4	0.827
最低血圧 (mmHg)	87.8±15.5	87.0±15.5	88.1±14.3	80.4±11.5	0.841
総コレステロール (mg/dL)	200.9±45.7	192.8±39.9	190.6±40.8	184.8±30.7	0.634
HDLコレステロール (mg/dL)	50.1±12.6	49.3±11.6	49.5±10.4	49.4±13.3	0.968
トリグリセリド (mg/dL)	132 (39-1740)	164 (37-1480)	135 (49-1161)	112 (70-168)	0.517
空腹時血糖 (mmol/L)	12.1 (5.3-18.9)	11.1 (4.4-27.5)	10.4 (2.7-24.8)	8.6 (7.3-13.6)	0.443
空腹時インシュリン (mU/mL)	16.8 (5.2-88.8)	18.9 (1.6-85.5)	18.1 (1.6-121.0)	16.1 (1.5-29.0)	0.594
アディポネクチン (ng/mL)	21.3 (4.4-86.6)	18.9 (3.1-267.6)	17.6 (10-220.6)	13.2 (5.2-39.5)	0.829
フルクトサミン (mmol/mL)	323 (153-516)	368 (225-589)	343 (216-709)	366 (248-529)	0.396

**結果(3) 健常者の臨床データとHpi遺伝子型**

	Hp/Hp1	Hp/Hp2	Hp/Hp3	その他	P-value
男/女(N)	15/28 (43)	119/146 (265)	134/210 (344)	8/5 (13)	0.244
年齢 (y)	47.6±11.4	50.1±10.6	49.4±10.4	52.2±8.4	0.319
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.3±4.6	26.9±4.9	26.6±4.5	29.0±6.1	0.700
年齢脂肪率 (%)	36.2±12.6	33.7±9.8	34.7±9.6	36.9±8.6	0.235
ウエスト/ヒップ比	0.80±0.10	0.82±0.11	0.82±0.11	0.80±0.17	0.272
最高血圧 (mmHg)	132.6±22.6	131.5±22.6	130.0±23.1	136.4±34.3	0.649
最低血圧 (mmHg)	83.8±13.3	84.0±14.4	83.6±15.5	85.0±17.7	0.957
総コレステロール (mg/dL)	176.8±37.4	176.8±34.1	180.4±38.3	203.8±42.1	0.592
HDLコレステロール (mg/dL)	53.3±9.6	54.9±11.5	53.8±11.7	56.5±9.4	0.556
トリグリセリド (mg/dL)	101 (32-566)	87 (30-1240)	96 (34-635)	134 (67-292)	0.237
空腹時血糖 (mmol/L)	5.6 (4.6-6.8)	5.5 (4.2-6.9)	5.5 (4.2-6.8)	5.6 (4.4-6.6)	0.921
空腹時インシュリン (mU/mL)	11.6 (2.5-213.0)	11.7 (1.5-87.7)	11.3 (1.0-161.0)	12 (2.85-44.0)	0.792
アディポネクチン (ng/mL)	33.8 (4.3-85.4)	32.3 (2.0-249.5)	34.0 (3.0-103.2)	27.9 (4.81-66.9)	0.891
フルクトサミン (mmol/mL)	238 (205-288)	236 (191-340)	236 (194-307)	227 (205-255)	0.855

**2型糖尿病とHp多型との相関**

1. 遺伝子型との相関  $p = 0.313$
2. 対立遺伝子頻度との相関  $p = 0.766$   
(Fisher's exact test)

⇒ **2型糖尿病とHp多型に相関は認められなかった**

本研究で用いたモンゴル人サンプルのHp多型と2型糖尿病をはじめとする各種測定データとの間には有意な相関を認めない。

KUHLME UNIVERSITY

## 考 察

- リアルタイムPCR法によるHp遺伝子型判定法は簡便かつ信頼性も高く有用であることが示された。
- 今後さらに多集団、多検体を対象とした相関解析、多型間の機能差について知見を得ることが重要である。

参考資料2

Yoshiro Koda, Mikiko Soejima. GENOTYPING METHOD FOR COMMON POLYMORPHISMS OF HAPTOGLOBIN AND DISTRIBUTION OF  $H^{PDEL}$  IN ASIA. XXth Regional Congress of the ISBT, Asia. 2009; 名古屋

GENOTYPING METHOD FOR COMMON POLYMORPHISMS OF HAPTOGLOBIN AND DISTRIBUTION OF  $H^{PDEL}$  IN ASIA

Yoshiro Koda, Mikiko Soejima  
Forensic Medicine and Human Genetics, Kurume University School of Medicine, Fukuoka, Japan

Background

The haptoglobin gene (*HP*) has two common alleles,  $HP^1$  and  $HP^2$ , that account for three phenotypes, Hp1, Hp2-1, and Hp2. Because  $HP^2$  is generated by an intragenic duplication of  $HP^1$  and *HPR* with high homology to *HP* is located nearby *HP*, the genotyping is not so easy and time-consuming (Figure 1).

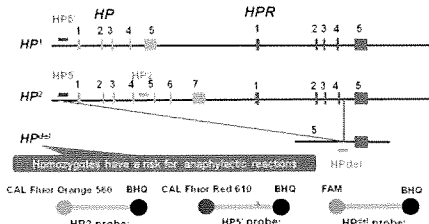


Figure 1. Structure of *HP*, *HPR*,  $HP^1$ ,  $HP^2$ , and  $HP^{del}$ , and position of probes used in this study.

Methods

The ethics committee of Kurume University School of Medicine approved this study. We used TaqMan PCR system for *HP* genotyping based on comparative Ct method that allows us to evaluate the relative number of copies of the  $HP^2$  specific sequence ( $HP^2$ ) to those of the *HP* promoter region ( $HP^5$ ), which was used as the internal control (Figure 2). 129 samples of known genotypes were examined by the present method.

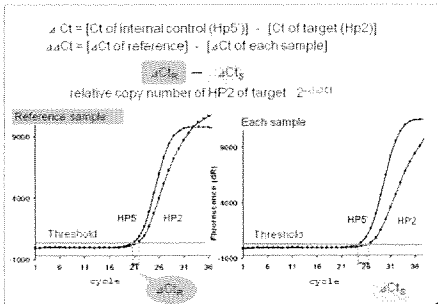


Figure 2. Estimation of copy number of  $HP^2$  by comparable Ct method ( $\Delta\Delta Ct$  method).

The position of probes used are shown in Figure 1. In addition to typing of common polymorphisms, the  $HP^{del}$  (one of causes for anaphylactic reactions to transfusions due to the production of anti-haptoglobin antibodies) probe was also introduced in this PCR system. The expected signals for six genotypes by the triplex PCR are shown in Table 1.

Table 1. Expected fluorescent signals for various *HP* genotypes.

Genotype	$HP^5$ signal	$HP^2$ signal	$HP^{del}$ signal
$HP^1/HP^1$	●	○	○
$HP^2/HP^1$	●	●	○
$HP^2/HP^2$	●	●	○
$HP^1/HP^{del}$	●	○	●
$HP^2/HP^{del}$	●	●	●
$HP^{del}/HP^{del}$	○	○	●

Results

We successfully observed expected signals in six genotype groups by this method (Figure 3). We could simultaneously detect  $HP^{del}$ .

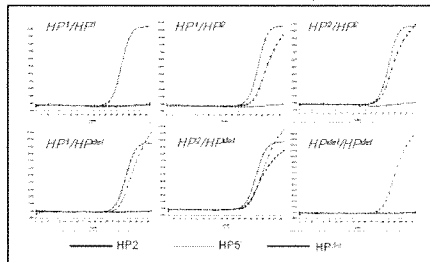


Figure 3. Amplification plots for  $HP^2$ ,  $HP^5$ , and  $HP^{del}$ .

We then examined 123 DNA samples from Ghanaians whose Hp phenotypes and genotypes had previously been determined and clearly differentiated *HP* genotypes and the obtained results were completely consistent to the previous ones (Table 2).

Table 2. Determination of Hp genotypes of 123 Ghanaians by TaqMan assay.

Genotypes	Number of samples	Total mean $HP^2/HP^5$ (SD) Range data (the mean of 3 independent experiments)
$HP^1/HP^1$	35	0 (0)
$HP^2/HP^1$	57	0.44 (0.036) 0.34 - 0.50
$HP^2/HP^2$	31	0.88 (0.071) 0.79 - 0.98

The  $HP^{del}$  distribute in East Asian (0.8 ~ 3.0%) and Southeast Asian (1.0 ~ 1.5%) populations (Table 3).

Table 3. Allele frequency of the  $HP^{del}$  in various populations

Populations	Number of Chromosomes	Number of $HP^{del}$	$HP^{del}$ frequency (%)	95% CI (%)
East Asian				
Mongolians	226	2	0.8	0.0-2.0
Japanese	1945	16	1.5	0.8-2.3
Han Chinese	168	17	3.0	1.6-4.4
Koreans	314	0	2.5	0.3-4.9
Koreans	1016	11	3.5	2.0-4.1
Central Asian				
Tajiks	391	0	0	0.0-0.8
Tatars	516	0	0	0.0-2.8
Uyghurs	110	0	0	0.0-2.8
Southeast Asian				
Indonesians	333	2	1.5	0.0-2.5
Thais	890	6	1.5	0.5-2.7
South Asian				
Bangladeshis	192	0	0	0.0-2.6
Indians	334	0	0	0.0-2.8
Sinhalese	102	0	0	0.0-2.8
West Asian				
Turks	214	0	0	0.0-1.4
European				
Europeans	259	0	0	0.0-1.5
African				
Africans	202	0	0	0.0-1.5
Chadians	246	0	0	0.0-1.2
Gambians	1198	0	0	0.0-0.3

Summary/conclusions

We successfully developed *HP* genotyping method. This assay produces results in less than 1 hour and is suitable for high-throughput analysis. In addition, this assay is applicable for routine diagnosis prior to transfusions to prevent anaphylactoid shock caused by anti-HP antibodies in Asian populations.



参考資料 3

神田芳郎. 研究班発表, 2010; 2月6日

2010/4/4

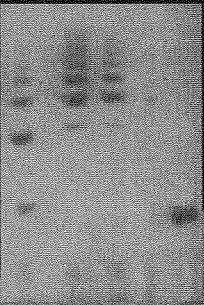
SYBR Green I-based real-time PCR  
法によるハプトグロビン欠失アリの診断法の確立とその臨床検体による評価

法医学・人類遺伝学講座  
神田 芳郎

血清タンパクハプトグロビン (Hp)

1955年Smithiesにより初めて多型の存在が報告された血清タンパク

法医学では親子鑑定に用いられる。



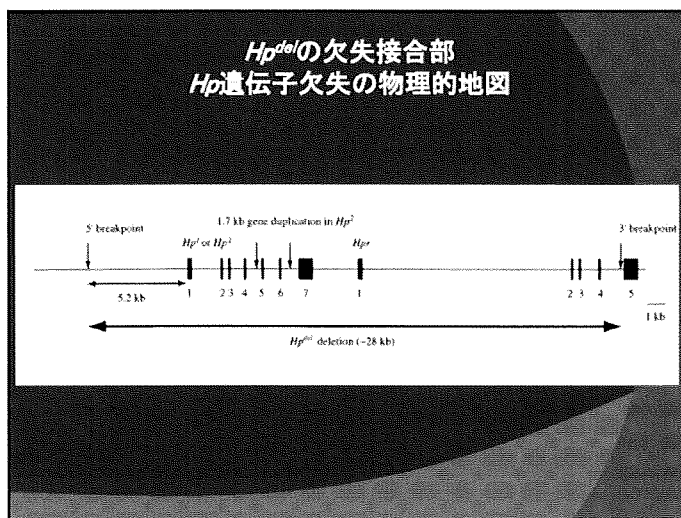
### 輸血後抗ハプトグロビン抗体による アナフィラキシーショックの2症例

- 症例1. 33歳の女性。初産、羊水過多、胎児奇形。妊娠第37週にアルブミン製剤投与後にアナフィラキシーショックを発症。翌日子宮切開、死胎児除去術後、濃厚赤血球輸血後再びアナフィラキシーショックを発症。
- 症例2. 94歳の女性。骨髓異形成症候群。7か月間に3回の濃厚赤血球及び1回の濃厚血小板輸血歴あり。2回目の濃厚血小板輸血後にアナフィラキシーショックを発症。

### *Hp<sup>del</sup>* の発見(無ハプトグロビン血症)

- The Haptoglobin-Gene Deletion Responsible for Anhaptoglobinemia  
Koda Y et al. *Am. J. Hum. Genet.*, 62:245-252, 1998
- Simple PCR detection of haptoglobin gene deletion in anhaptoglobinemic patients with antihaptoglobin antibody that causes anaphylactic transfusion reactions  
Koda Y et al. *Blood*, 95:1138-1143, 2000





### さまざまな集団における Hpa<sup>del</sup> の頻度

集団	染色体数	Hpa <sup>del</sup> の数	Hpa <sup>del</sup> の頻度 (%)	95%信頼区間 (%)
東アジア				
Mongolians	238	2	0.8	0.0-2.0
Han Chinese	568	17	3.0	1.6-4.4
Koreans	314	8	2.5	0.8-4.3
Koreans	1018	31	3.0	2.0-4.1
中央アジア				
Tibetans	364	0	0	0.0-0.8
Tamangs	106	0	0	0.0-2.8
Uygurs	112	0	0	0.0-2.6
東南アジア				
Indonesians	210	2	1.0	0.0-2.3
Thais	400	6	1.5	0.3-2.7
南アジア				
Bangladeshi	102	0	0	0.0-2.9
Tamils	104	0	0	0.0-2.8
Sinhalese	102	0	0	0.0-2.9
西アジア				
Turks	214	0	0	0.0-1.4
ヨーロッパ				
European	200	0	0	0.0-1.5
アフリカ				
Xhosas	202	0	0	0.0-1.5
Ghanaians	246	0	0	0.0-1.2
Gambians	1196	0	0	0.0-0.3

遺伝子頻度から予想されるハプトグロビン欠損症の頻度は4000人に1人と低頻度ではあるが、輸血前血液の診断とドナー血液確保の為のスクリーニングによる、より安全な輸血医療の実現が可能になる。

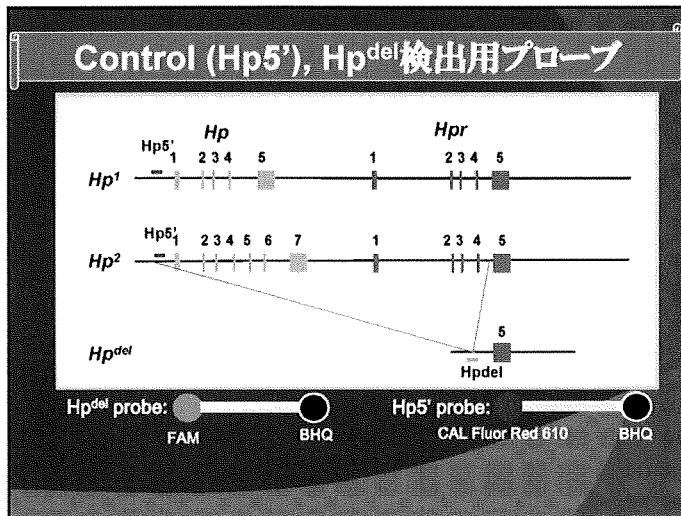
そのためにはより簡便、迅速な  $Hp^{del}$  診断法の確立が必要

### 簡便、迅速な診断法について

PCR法を用いた診断法



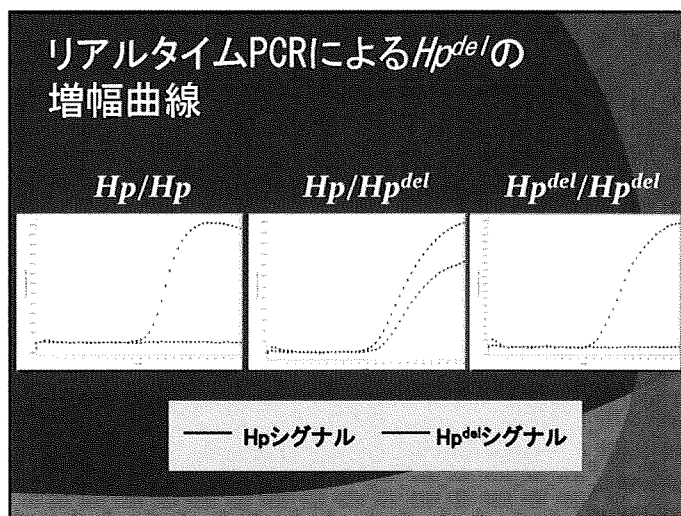
簡便、迅速な診断が可能



### リアルタイムPCRによるHp<sup>del</sup>の検出法 2つの特異的なプローブ

Hpプローブ: CAL Fluor Red 610 — BHQ  
 Hp<sup>del</sup>プローブ: FAM — BHQ

遺伝子型	検出シグナル
<i>Hp/Hp</i>	● ●
<i>Hp/Hp<sup>del</sup></i>	● ●
<i>Hp<sup>del</sup>/Hp<sup>del</sup></i>	● ●



### SYBR Greenを用いたreal time PCR

接合性をPCR産物の $T_m$ 値(PCR産物の半分が1本鎖DNAになる温度)で判定することで1本のチューブで判定が可能。

利点: primer(今回は3種類)のみでprobeを必要としないためコストの削減が可能。

欠点: TaqMan法ほど特異性が高くないため誤判定の危険性が高い。Primer dimerの出現。