

競走馬の 遺伝子ドーピング 検査に



戸崎 晃明 先生

公益財団法人 競走馬理化学研究所 遺伝子分析部専門役
(兼職) 岐阜大学 応用生物科学部 客員獣医学系教授
昭和大学 医学部 薬理学講座 兼任講師
内蒙古農業大学 動物科学院 特聘教授
スポーツファーマシスト (JADA)

先生のご研究内容を教えてください。

ドーピングコントロールは、スポーツ及び競馬の公正な運営に必要な不可欠な事項です。しかし、昨今の科学技術の発展に伴い、競馬産業での遺伝子治療の不正利用にあたる遺伝子ドーピングが問題となり、世界の競馬主催者（国際競馬統括機関連盟：IFHA）の間で議論されています。戸崎は、IFHAの専門委員（遺伝子ドーピング規制委員会）として、そのルール作成、検出法開発に取り組んでいます。

Fluidigm の製品をどのように使われていますか？

競馬産業での遺伝子ドーピングでは、外来遺伝子（エリスロポエチンなど）をベクターによって競走馬体内に導入すると想定されるため、導入外来遺伝子あるいはベクターをPCR検出できれば、遺伝子ドーピングを疑うことができます。Biomark HD System は、多検体に対して複数マーカーを同時に分析できるため、同検査におけるスクリーニング検査としての利用を想定し、研究開発を進めています。

Fluidigm 製品を選択された理由は？ どんなところに利点や魅力がありますか？

多検体に対して複数マーカーを一度に分析でき、定量検出できる点が魅力です。ドーピング検査では一度に多数の検体を送付され、短時間で結果を報告しなければなりません。そのため、多検体を効率よく処理する必要があります。また、遺伝子ドーピング検査では、どの程度の外来遺伝子が導入されたかを知ることもドーピングコントロールの面で重要です。Biomark HD System は、これらを網羅しています。

今後の研究ビジョンを教えてください。

競馬産業での遺伝子ドーピングは遺伝子導入法以外に、CRISPR-Cas9 などによる「*in vivo* ゲノム編集」も想定されます。この場合、超並列型シーケンサー（NGS）によるターゲットリシーケンスが有効と考えられます。マイクロフリューイデックス技術を使った Juno System では、複数遺伝子を標的としたターゲット DNA ライブラリー調製を作成可能であるため、現在、システム構築を検討しています。

同分野の研究者へのアドバイスをお願いします。

ドーピング検出としては、競馬産業での遺伝子ドーピング検出以外に、ヒトのスポーツ分野での薬剤等の様々なドーピング検出法の開発研究が行われています。我々が開発・利用している手法は、医療・獣医療分野におけるウイルスや細菌などの感染検査にも応用可能です。特に、同時に複数配列を標的にできることから、一つのウイルスなどに対して複数の標的部位を検出することができ、より確実な PCR 検査を構築できます。

CUSTOMER FOCUS | October 2019

アプリケーション

発現解析

フリューダイトテクノロジー

Biomark™ HD System

Juno™ System

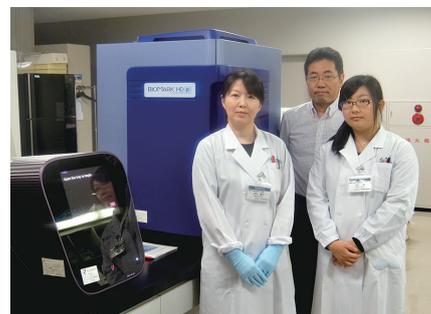


Figure 1. 戸崎先生と大沼葵研究員と田中徳子研究補助員



Figure 2. 大沼葵研究員の IFC へ試薬の分注作業

Workflows

マイクロフリューディクス技術を使用した Juno System と Biomark HD System を使用して、一度に 192 サンプル×標的遺伝子 24 個の解析をトランスジーンのスクリーニング検出としてリアルタイム PCR で実施しています。今回、戸崎先生は既存の TaqMan® Assay を使用していますが、そのマイクロフリューディクスのベースのプラットフォームの反応量はナノリットルレベルであるため、大量サンプルにおけるランニングコストが大幅に削減できます。また、ランニングコストだけでなくマニュアル操作の煩雑さも大幅に削減でき、サンプルから結果までトータル 4 時間で終了します。

Flexible platforms for agricultural genomics workflows

Juno および Biomark HD System は、多くの動植物、農業ゲノミクス研究で使用される遺伝子検査ワークフローの重要なコンポーネントです。サンプルとアッセイは集積流体回路 (IFC) にロードされ、そこで正確な試薬の混合と反応が可能です。多種類の IFC から選択することができ、実験スケールを調整可能です。当社のマイクロフリューディクスベースのプラットフォームは、サンプルコストを削減し、ハンズオンタイムを最小限に抑え、時間とリソースを節約出来ます。



Figure 3. Juno System および Biomark HD System プラットフォームを使用した PCR および NGS ベースのアプリケーション向けのワークフロー例
Juno System は、Biomark HD System での検出や NGS ワークフローで GBS のアンプリコンライブラリの準備に使用可能です。

Juno System

Biomark HD System で使用するすべての IFC に対応するユニバーサルコントローラです。また、次世代シーケンサーに対応するアンプリコンシーケンスライブラリーや mRNA-Seq ライブラリーを自動作製します。この装置は、ナノリットルスケールでの自動化をすることにより費用対効果の高い生産性と実験効率を向上させます。

製品名	製品コード
Juno System (with Juno MX Interface Plate,101-6115)	101-6455

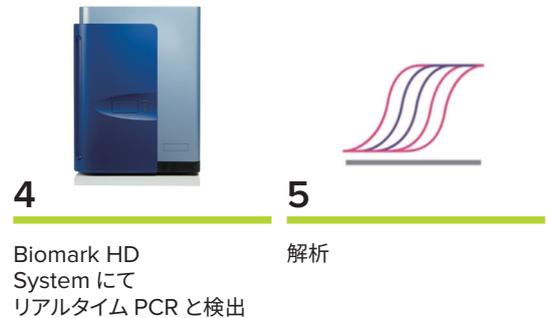
Learn more at fluidigm.com
fluidigm.com/applications/ag-genomics

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

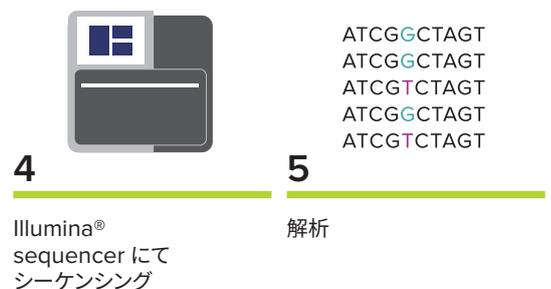
Information in this publication is subject to change without notice. **Patent and license information:** fluidigm.com/legalnotices. Fluidigm, the Fluidigm logo, Biomark, D3, Dynamic Array and Juno are trademarks and/or registered trademarks of Fluidigm Corporation in the United States and/or other countries. All other trademarks are the sole property of their respective owners. © 2019 Fluidigm Corporation. All rights reserved. 09/2019

FKK-0003 Rev 01

Gene expression by qPCR



Targeted library preparation for genotyping by sequencing (GBS)



Biomark HD System

マイクロフリューディクス技術によりナノリットルスケールで、多検体を一度に解析可能です。リアルタイム PCR、SNP ジェノタイピング、デジタル PCR のアプリケーションが利用可能です。

製品名	製品コード
Biomark HD System	BMKHD-BMKHD

References

- Tozaki T, et al. "Droplet Digital PCR Detection of the Erythropoietin Transgene from Horse Plasma and Urine for Gene-Doping Control." *Genes (Basel)* 10 (2019):3.
- Tozaki T, et al. "Detection of phosphorothioated(PS) oligonucleotides in horse plasma using a product ion (m/z 94.9362) derived from the PS moiety for doping control." *BMC Res Notes* 11 (2018) :770.
- Tozaki T, et al. "Digital PCR detection of plasmid DNA administered to the skeletal muscle of a microminipig: a model case study for gene doping detection." *BMC Res Notes* 11 (2018):708.