

DNA チップによる ALDH2 遺伝子 SNP 型判定

大橋 和義

工学部技術部 情報技術支援室

1. はじめに

近年 DNA チップ解析は、生命科学の研究分野で広く用いられるばかりでなく医療の現場でも活用され始めている技術である。最近ではそれらを簡便に作製・実体験するキットが市販されており、今回はそれら市販キットを用いて、今後広く応用されていくであろう技術を実際に体験してもらうことを目的として、研修を行った。実験の DNA サンプルは実験者自身の口腔内細胞から取り出したゲノム DNA を使用し、DNA チップ上でのハイブリダイゼーションにより、アルコール代謝に関係するといわれている ALDH2 遺伝子の SNP (一塩基多型) を調べた。この遺伝子情報を調べることで、実験者自身のアルコール感受性 (下戸かどうか) がある程度判別することができる。

2. 解説

2-1 DNA チップ解析の原理と応用

DNA チップとは、スライドガラス等の基板上に、DNA をスポットもしくは直接合成して、アレイ化させたものの総称で、DNA マイクロアレイとも呼ばれている。

スライドガラスやシリコン基板の微小空間に、数百〜数万種類のプローブと呼ばれる cDNA またはオリゴ DNA を高密度に整列・固定化し、その基板上でプローブと試料をハイブリダイゼーションすることにより、試料中の RNA 量または DNA 量の定性的または定量的な測定ができる技術であり、微小空間で非常に多くの遺伝子またはゲノム領域の測定ができる特徴を持っている。

従来は、ゲノムレベルでの遺伝子発現解析や遺伝子変異、SNP を解析する技術であったが、近年ではヒトやマウスをはじめ多くの細菌など、あらゆる生物のゲノム DNA 配列をもとに、mRNA として発現している遺伝子だけに限定されない技術の開発が進んできており、今後さらにその応用研究は広がっていくものと予想される。

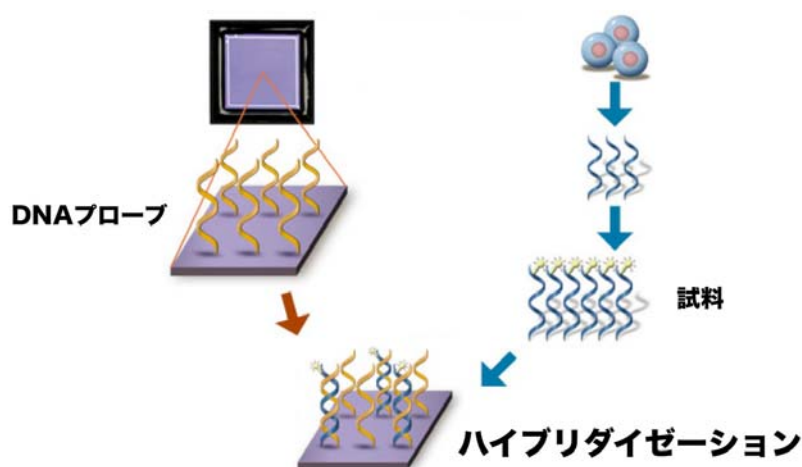


Fig. 1 DNA チップ模式図

2-2 SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

SNPは一塩基多型のことで、ゲノム全領域にわたり 500-1000 塩基に1つ程度の割合で存在する。ヒトゲノム全体だと約 300 万個になる。(ヒトゲノム DNA は約 30 億塩基であることから、その約 0.1%)

DNA 上の繰り返し配列を通常多型マーカーとしているが (STR や VNTR)、SNP はこれらと比較して高密度な多型マーカーとして利用される。

一塩基多型と突然変異は、同じように塩基の1つの変化(例えば A→G に変化)ですが、多型とは集団中に1%以上その変化がある場合と定義されている。そのため一塩基多型は型によってある程度の集団に分けられる。薬の効き方の違いや病気との関連など遺伝子の多型によって決定するものもある。

2-3 ALDH2 (Acetaldehyde dehydrogenase type2 : アセトアルデヒド脱水素酵素)

アルコール(エタノール)はアルコール脱水素酵素(ADH)の働きによって、アセトアルデヒドに変化する。アセトアルデヒドはアルデヒド脱水素酵素(ALDH)の働きによって酢酸に変化し、解毒されてエネルギー源、あるいは脂肪合成の材料となる。アルコールは神経を麻痺させるので酔う気分にはさせますが、アセトアルデヒドの毒性は強く、顔が赤くなったり、気分が悪くなったりする原因である。ALDH遺伝子の個人差によって酒に強いか弱いかが決定される。

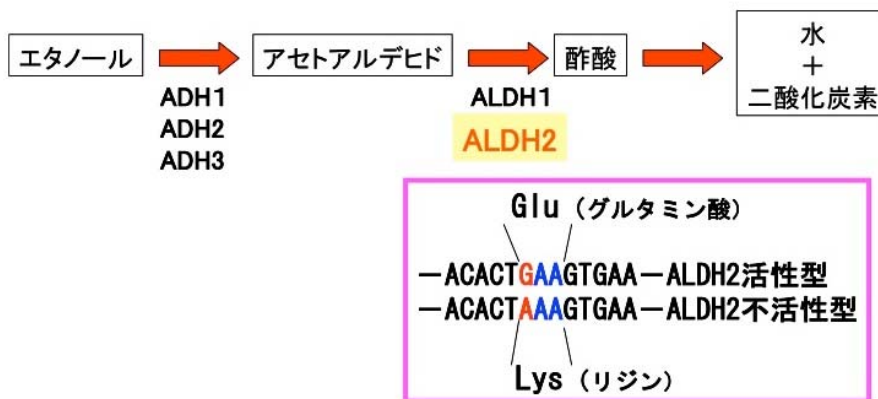


Fig. 2 アルコールの代謝経路

ADHとALDHによって大きく4つの型に分類される。

(1)ALDH活性が強い人で、ADHの活性が強い人

すぐにアルコールをすぐに代謝してしまうので、酔わずに飲めるタイプ。

(2)ALDH活性が強い人で、ADHの活性が弱い人

アルコールの状態が長く続くので、ほろ酔い気分が続き、気持ちよくどんどん飲んでしまうタイプ。

(1)よりも飲酒量が多く、肝臓を痛めやすい。

(3)ALDH活性が弱い人で、ADHの活性が強い人

アルコールがすぐにアセトアルデヒドに変化して蓄積するので、ほろ酔い気分にもなれず、お酒が苦手な人。

(4) ALDH活性が弱い人で、ADH活性も弱い人

アルコールの状態が長く続くので、気持ちよく飲み始め飲み過ぎてしまうが、アセトアルデヒドが蓄積するので、二日酔いになってしまう人。また、肝臓を一番痛めるタイプ。

3. 実験方法

以下に実験概略図を示す。

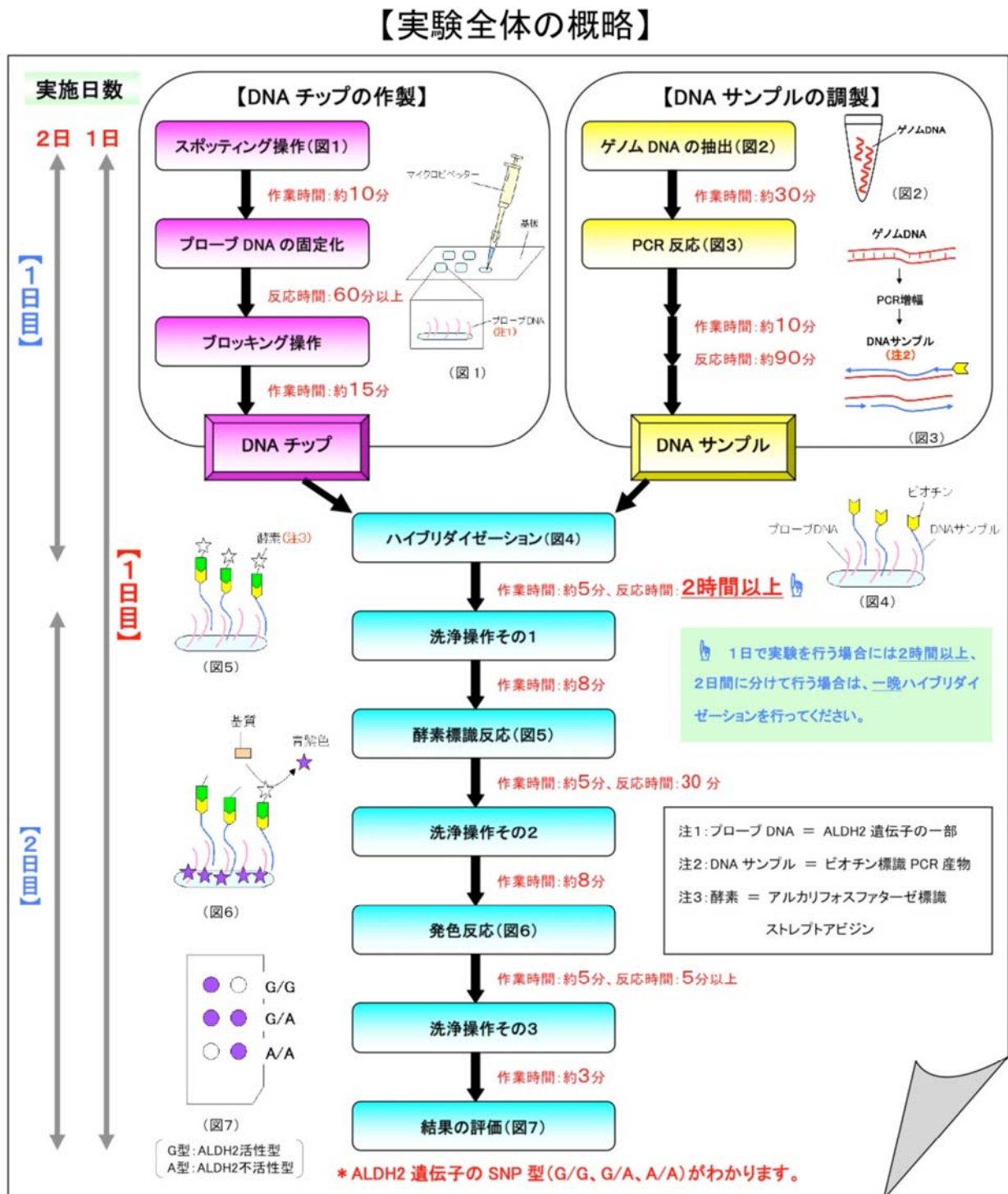


Fig. 3 実験概略図

本研修にあたり、ゲノム DNA を使用するため実験開始前に、説明・同意を得た上で同意書に署名してもらい、実験終了後にも廃棄処理を確認させ、実験終了確認書に署名をしてもらった。

4. 結果

以下に実際に作成した DNA チップと発色反応後の DNA チップ（見本）を示す。

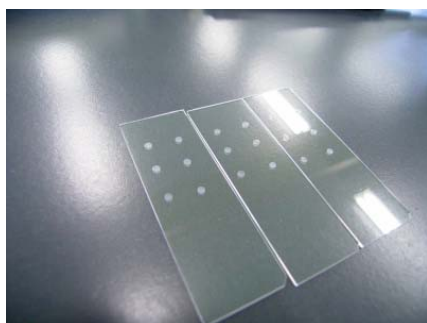


Fig. 4 作成した DNA チップ



Fig. 5 発色反応後の DNA チップ



Fig. 6 発色反応見本



Fig. 7 実験風景

最後の発色反応まで成功した人は、予想外に少ない結果となった。(2人/6人)
理由を考察し今後の実験に生かそうと思う。

5. 謝辞

本研修に参加された、河合秀司・山田隆・中本順子、草薙弘樹・太田諭之・後藤克嘉（敬称略）の方々にこの紙面を借りてお礼申し上げます。