

30【P2】 I -454

Denaturing HPLCを用いた CYP2D6 遺伝子多型の解析

○海老澤 愛子¹, 平塚 真弘¹, 金野 由美子¹, 齋藤 友美¹, 水柿 道直¹(¹東北薬大)

【目的】ヒトCYP2D6は臨床的に重要な三環系抗うつ薬や β -アドレナリン遮断薬などの広範な薬物を基質とする薬物代謝酵素である。CYP2D6には70種以上の遺伝子多型が報告されており、薬物動態や副作用発現の個人差の原因となることが知られている。白人種における酵素欠損者の90%以上は既知のCYP2D6のSNP情報だけで予測可能と考えられている。しかし、現時点のSNP情報のみでは日本人の酵素欠損者の50~85%しか予測できない。そこで今回、Denaturing HPLC (DHPLC)を用いたSNPハイスループットスクリーニング法により、日本人におけるCYP2D6酵素欠損の原因となる新規SNPを検索した。

【方法】常法に従いヒト末梢血よりゲノムDNAを抽出した。それを鋳型とし、偽遺伝子の増幅を避け、CYP2D6遺伝子のエクソン領域全長を特異的にPCR増幅した。得られた全長フラグメントを鋳型とし、各エクソン (9領域) を特異的にPCR増幅し、DHPLC (Transgenomic社、WAVE System) によりPCR産物のヘテロ接合性をそのピークパターンより解析した。SNPの存在が疑われた検体に関しては、マルチキャピラリー-DNAシークエンサー (Beckman-Coulter社、CEQ8000) にて塩基配列を決定した。

【結果・考察】SNPスクリーニングの結果、エクソン3領域にアミノ酸変異を伴う新規SNP (1720A>C (Glu 156 Ala))が見いだされた。現在までに237検体について解析が終了しており、さらに解析数を増やしている。DHPLCを用いたSNPスクリーニング法は、簡便、迅速、正確、安価、ハイスループットであり、今後、薬剤反応性に影響を及ぼすSNPの検出等に有用であると考えられた。