

# 27P-pm004

迅速・簡便・安価な SNP タイピング法の確立

○木下 健司<sup>1</sup>, 増見 恭子<sup>1</sup>, 鎌田 由佳<sup>1</sup>, 大田 智子<sup>1</sup>, 矢野 沙基子<sup>1</sup>, 矢作 晶子<sup>1</sup>, 吉原 あずさ<sup>1</sup>, 村田 成範<sup>1</sup>(<sup>1</sup>武庫川女大薬)

【目的】SNPs(一塩基多型)は、疾患感受性や薬物反応性などの体質や容姿・個性の違いを生じさせ、SNPsを詳細に解析することにより疾患の診断や予測(予防医学)、更にはオーダーメイド(個人化)医療へと発展することが期待される。しかしながら、これらを一般化するには、迅速・簡便・安価にSNPタイピングする解析法の開発は急務である。一般に、生体試料中に存在するウイルス、細菌、細胞等のDNAを増幅して遺伝子検出するには、試料中の酵素反応を阻害する物質が多量に存在する。そのためPCR等を利用して、これらの試料中のDNAの解析を行うためには夾雑物を除去し、目的のDNAを分離・精製するという煩雑な前処理を行う必要がある。本研究においては、何ら試料の前処理過程を経ることなしに、乾燥ろ紙血液および髪の毛(毛根)を直接PCR反応液に添加して、目的とする遺伝子をPCR増幅する方法を開発したので報告する。

【方法】KOD DNA Polymeraseをベースに開発された試薬キットKOD FX (東洋紡社製)を用い、SNPsタイピングはASP-PCR法及び電気泳動によりPCR産物を確認した。

【結果及び考察】日本人はアルコール代謝能力に著しい個体差があり、その遺伝要因であるアルコール脱水素酵素2(ADH2)とアルデヒド脱水素酵素2(ALDH2)をSNPタイピング法開発の対象遺伝子とした。室温で約4ヶ月保存した乾燥口紙血をパンチした紙片(1mm<sup>2</sup>)でSNA判定に十分なDNAを得ることが出来る。更に、非侵襲的なDNAサンプリング手法として種々検討した結果、毛髪(毛根)が使用できることが検証できた。KOD FXは生体由来物質が引き起こすDNA増幅阻害作用を抑制する効果があり、本試薬キットを使用することで、何らの試料の前処理過程なしに直接PCR増幅が可能であり、サンプリングから3時間以内でタイピング結果を得た。