



学校法人松商学園

松本大学



文部科学省

地(知)の拠点

松本大学COC事業

高大連携出張実験室

「自分の遺伝子型を調べてみよう」



松本大学大学院 健康科学研究科

教授／山田 一哉

教授／高木 勝広

助手／浅野 公介

助手／羽石 歩美

ゼミ生

## 【概要】

皆さんは、お父さん似ですか？お母さん似ですか？顔かたちだけでなく、しぐさや性格がどこか似ているところがありますよね。これらの性質は、ご両親から受け継いだ遺伝子によって決まります。ただ、すべてが遺伝子によって決まっているのではなく、生活環境によって影響されていることも少なくありません。

ヒトの遺伝子 DNA（約 30 億塩基対/ 一倍体）の塩基配列には、個人による違い（変異）が約 0.2% 認められます。この違いを利用して、個人の同定や診断（遺伝子診断）、個人に応じた医療（オーダーメイド医療）や栄養指導が可能になります。変異の中で、人口の 1% 以上の頻度で存在する変異を遺伝子多型とといいます。その大部分を占めるのが一塩基のみの違いによる多型（Single Nucleotide Polymorphism; SNP）で、200 万ヶ所以上存在すると考えられています。ほとんどの SNP は生物学的に意味のないものですが、特定の SNP は薬の効き方や太りやすさや病気のなりやすさなどの個人の体質を決めているといわれています。

このプログラムでは、きみたちの唾液から遺伝子 DNA をとりだして、自分の遺伝子型を調べてもらう実験を行うほか、「一塩基多型と体質」について講演します。

## 【スケジュール】

- ◆ 9:00~9:20 開講式（あいさつ・オリエンテーション）
- ◆ 9:30~11:00 実験1（唾液からの DNA 抽出、PCR 法）
- ◆ 11:00~12:00 昼食・休憩
- ◆ 12:00~12:45 研究者による講演「一塩基多型と体質」山田 一哉 教授
- ◆ 13:00~14:00 実験2（PCR産物のアガロース電気泳動）
- ◆ 14:00~14:30 成果発表・修了証書（未来博士号）授与式・集合写真撮影
- ◆ 14:30 解散

## 【実験の概要】

今回の実験教室では、以下の3つの遺伝子の SNPのうち、1つを選んであなたの遺伝子型を調べてもらいます。さて、あなたは「お酒に強いかわ弱いかわ」、「太りやすいかどうか」、「スプリンター向きかマラソン向きか」、どちらでしょうか?!!

### ① 「お酒に強いかわ弱いかわ」 ALDH2 遺伝子 SNP

お酒に含まれるアルコールを分解する酵素のうち、アルデヒドデヒドロゲナーゼ2 (ALDH2) は、アセトアルデヒドを酸化する酵素です。ヒトの ALDH2 遺伝子には、ある部分がグアニン (G) のものとアデニン (A) のものの2種類があります。Gの場合、速やかにアセトアルデヒドを分解できますが、Aの場合、なかなか分解できません。みなさんは、お父さんやお母さんからひとつずつ遺伝子を受け継いでいますので、組み合わせとして GG型、GA型、AA型が考えられます。GG型のヒトの ALDH2 酵素の活性を100%とすると、GA型のヒトは6%で、AA型のヒトは0%です。GG型のヒトはお酒が飲めるタイプですが、GA型とAA型のヒトはお酒が飲めないタイプとなります。

### ② 「太りやすいかどうか」 B3AR 遺伝子 SNP

肥満には、遺伝と生活習慣が関係することが知られています。肥満に関係する遺伝子のうち、よく知られているのがベータ-3 アドレナリン受容体遺伝子 (B3AR) です。B3AR は、「脂肪を燃焼せよ」という命令を受け取り、脂肪分解を促進させる働きをします。したがって、B3AR の働きが悪いと脂肪が燃焼されにくくなって肥満につながるのです。ヒトの B3AR 遺伝子には、ある部分がチミン (T) のものとアデニン (A) のものの2種類があります。Aの場合、「脂肪を燃焼せよ」という命令を受け取りにくく脂肪が蓄積しやすくなります。遺伝子の組み合わせは、TT型 (正常型)、TA型 (肥満型)、AA型 (肥満型)、になります。TA型とAA型は、TT型と較べて約200 kcal (おにぎり1個分) のエネルギー消費が少なく、それだけ太りやすくなるのです。この遺伝子型をもつヒトは欧米人より日本人が多いため、日本人が欧米型の食生活をするとう肥満になりやすいといわれています。

### ③ 「スプリンター向きかマラソン向きか」 ACTN3 遺伝子 SNP

筋肉を形づくるタンパク質の一つにアクチニン3 (ACTN3) があります。ヒトの ACTN3 遺伝子には、ある部分がシトシン (C) のものとチミン (T) のものの2種類があります。Tの場合、ACTN3 をつくることができません。オリンピック選手を調べると、短距離走などの瞬発系競技の選手には CC型と CT型が多く、長距離走などの持久系競技の選手には TT型が多いことがわかりました。したがって、この SNP を調べることで、どちらの運動に向いているかがわかる可能性があります。

## 【方法】

### 【唾液の採取方法】

注意) 唾液を採取する 30 分前から飲食 (ガム等を含む) をしないで下さい。

- ① DNA 採取キット「Oragene・DNA」のチューブを取り出し、‘Full to line’の位置 (2ml) まで唾液を入れる (図1)。

\*採取前、口を閉じ、30 秒ほど舌を動かしたり、頬を摩ったりすると唾液が分泌されます。唾液採取は 30 分以内に終了してください。

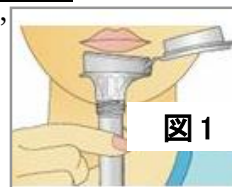


図1

- ② 容器を垂直に持ち、溶液入りロートキャップを閉める (図2)。  
\*フタをしっかりと閉めることにより、唾液と保存溶液が混ざります。
- ③ 容器を垂直に持ち、ロートを反時計回りに回し、ロートをチューブから外す (図3)。



図2

- ④ チューブを小キャップ (青) でフタをする (図4)。
- ⑤ 軽く 5 回転倒混和する (図5)。

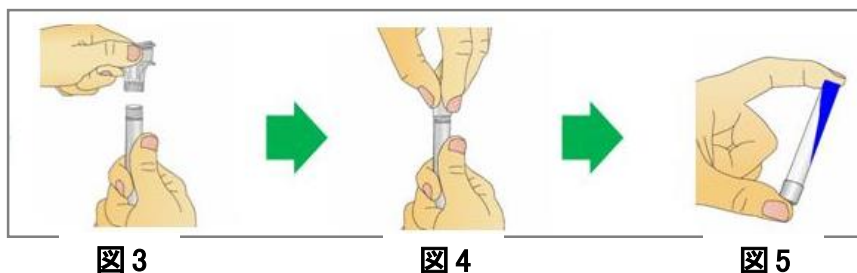


図3

図4

図5

### 【DNA 精製法】

- ① 紫色のマイクロピペッターと青チップを用いて、①のサンプル溶液 500  $\mu$ l を、マイクロチューブ (試験管 1) に入れる。
- ② 黄色のマイクロピペッターと黄チップを用いて、「Oragene・DNA 精製溶液」20  $\mu$ l をマイクロチューブに加え、数秒間ボルテックス (攪拌) する。
- ③ マイクロチューブを 10 分間、氷上で冷やす。
- ④ 13,000rpm で 5 分間、遠心分離 (室温) する。
- ⑤ 紫色のマイクロピペッターと青チップを用いて、沈殿をすわないように注意しながら、上清 450  $\mu$ l を新しいマイクロチューブ (試験管 2) に移す。
- ⑥ 紫色のマイクロピペッターと青チップを用いて、エタノール 500  $\mu$ l をマイクロチューブ (試験管 2) に加える。
- ⑦ マイクロチューブを 10 回、転倒混和する。  
**観察ポイント 1. DNA は見えましたが？**
- ⑧ 13,000rpm で 5 分間、遠心分離 (室温) する。  
**観察ポイント 2. 沈殿が DNA です。**
- ⑨ 920  $\mu$ l に合わせた紫色のマイクロピペットと青チップを用いて、上清をゴミ箱に捨

てる。液は少し残って構わない。

- ⑩ 紫色のマイクロピペッターと青チップを用いて、マイクロチューブに 70%エタノールを 250  $\mu$ l 静かに加える。
- ⑪ 13,000rpm で 2 分間、遠心分離（室温）し、160  $\mu$ l に合わせたピンク色のマイクロピペットと黄チップを用いて、マイクロチューブ内のエタノールをゴミ箱に捨てる。2回に分けて全量を捨てる。
- ⑫ 黄色のマイクロピペッターと黄色のチップを用いて、マイクロチューブに TE 溶液 14  $\mu$ l を加える。
- ⑬ 20 秒間ボルテックスする。

### 【ポリメラーゼ連鎖反応 (Polymerase Chain Reaction, PCR)】

1. PCR 用の試験管に対応する PCR プライマー反応混合液をピンク色のマイクロピペッターと黄チップを用いて、48  $\mu$ l ずつ加える（N と記したチューブには正常型プライマー混合液を、M には変異型プライマー混合液を加える）。
2. 赤色のマイクロピペッターと黄チップを用いて、抽出した DNA を 2  $\mu$ l 加えて、溶液が舞い上がらないように注意しながら、軽くボルテックスミキサーで混合する。サンプルごとにチップは変える。
3. これらの PCR チューブをサーマルサイクラーにセットする。
4. 下記のプログラムで、反応を開始する。  
94  $^{\circ}$ C, 5 分  
94  $^{\circ}$ C, 20 秒 (DNA の 2 本鎖から 1 本鎖への変性)  
64  $^{\circ}$ C, 20 秒 (プライマーのアニーリング)  
72  $^{\circ}$ C, 45 秒 (DNA 合成反応) で、35 サイクル  
72  $^{\circ}$ C, 5 分  
4  $^{\circ}$ C で保存。

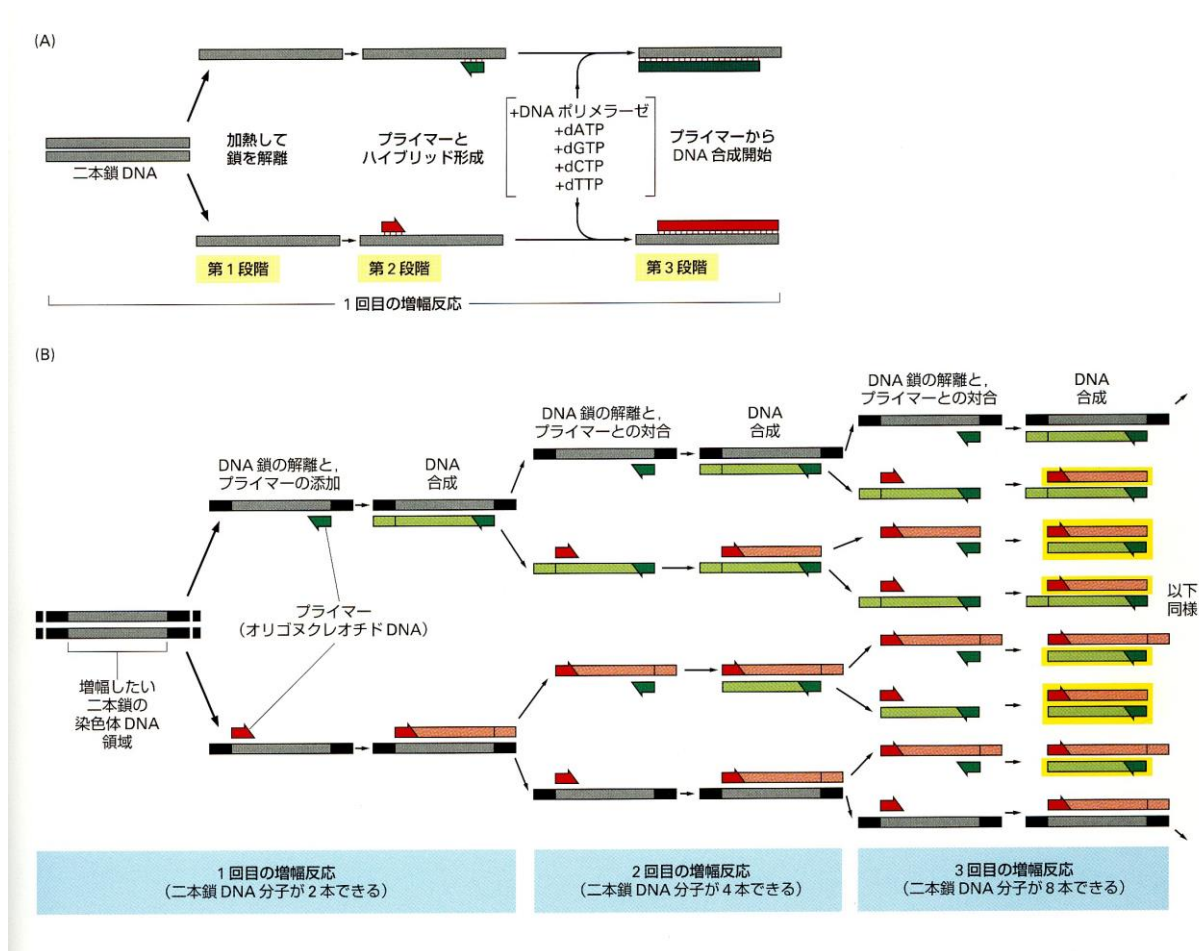
### 【PCR 産物のアガロースゲル電気泳動による解析】

1. 赤色のマイクロピペッターと黄チップを用いて、PCR 産物をマイクロチューブに 10  $\mu$ l ずつとり（N は試験管 N に、M は試験管 M に）、それぞれに色素液を 2  $\mu$ l 加える。
2. DNA 分子量マーカー、N, M の順に 2% アガロースゲルにアプライする。
3. 100V で 30 分間電気泳動を行う。
4. ゲルを染色液につけて染色する（約 5 分）。
5. ゲルを紫外線下で写真撮影して、PCR 産物（ALDH2 遺伝子 135 bp、B3AR 遺伝子 210 bp、ACTN3 遺伝子 396 bp）の有無を確認する。

観察ポイント 3. 自分は、どちらの遺伝子型でしたか？

## PCR について

DNA のある特定の範囲を増幅する方法で、反応サイクルを  $n$  回行えば、最大  $2^n$  倍 (通常  $10^6 \sim 10^9$  倍) 増幅することができる。したがって、微量の DNA があれば特定の DNA 配列を検出できるので、DNA クローニングや遺伝子診断などに利用されている。



## PCR の原理

(Alberts B ら、エッセンシャル細胞生物学原書第2版 (南江堂) より引用)