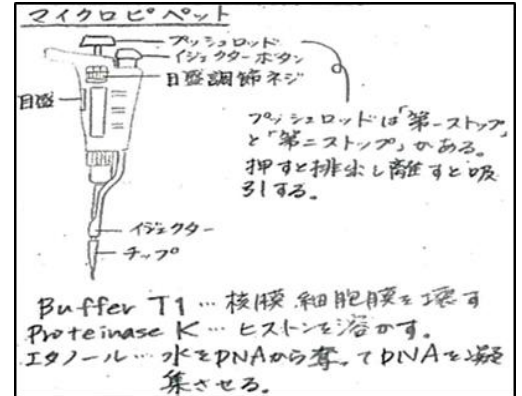


## < 第5回 SS-Lecture 研修 >

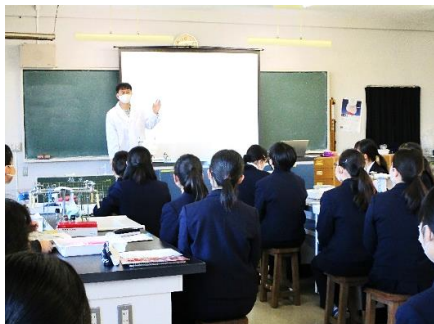
### 『一塩基多型を調べよう ～ALDHの多型解析～』



高崎健康福祉大学人間発達学部教授片山豪先生による『一塩基多型を調べよう～ALDHの多型解析～』についての講義と実験が12月11日(土)と19日(日)の2日に分けて、本校の化学室と高崎健康福祉大学で実施されました。

### 講義『一塩基多型』

11日は、マイクロピペットと遠心分離機の使い方を教わり、DNA抽出実験を行いました。その後パッチテストを行いながら片山教授の講義を受けました。19日は、PCR実験を行ってから、制限酵素処理と電気泳動を行いました。実験の結果から、自分たちの遺伝子がどれくらいお酒に強いのかを考察しました。マイクロピペットも遠心分離機もどちらの学校でも使ったことのない実験器具でしたが、注意点やコツを教わった上で繰り返し使うことになり、講義の最後には使いこなせるようになり、DNA抽出実験は、英語で書かれた実験方法をもとに行いました。英語を読みながら実験を行うのは初めてのことで、友達と一緒に協力し合うこととでなんとか実験をやり遂げる事ができました。片山教授の講義では特にPCRに関する知識を深めました。PCR法は目的のDNA断片を短時間で大量に増幅させる方法です。考案者のマリスという人は恋人と遊ぶ時間を増やすために、DNAを短時間で増やせるこの方法を思いついたのだと聞いて驚きました。電気泳動実験のために、19日の最初は、電気泳動で使用する緩衝液とゲルを作成しました。ゲルの作成時に、熱々に熱した液体をトレイに流し込む作業をしました。ジュワッ...と音がするほどいっしょくたになって、ビーンと持った力にビビりましたが、熱くすなはさず。



講義の様子

• PCR法  
 <PCR条件> 授業でPCRを行う時は、温度調整はどのくらいのアレンジが気がなっていないか。  
 = 二本鎖DNAの水素結合を切る 95°C 3分  
 " " 95°C 15秒 } 30サイクル  
 プライマーをくっつける 62°C 15秒 }  
 複製をさせる 72°C 5秒 }  
 ◎それぞれ異なる温度を2つ118°Cは大きな実験だと思えば、  
 ◎もっと短い時間で複製させる方法はないか。

• 電気泳動実験  
 リン酸の電荷を帯びている → ⊕は断片で、  
 TspRI(制限酵素) 高活性 → 切断 (EE型) バンドは2本出る！  
 低活性 → 切断されない。(EK型) バンドは1本  
 (EK型) バンドは3本 ⇒ 切れること、DNAはないこと。  
 A: 切れない出る。 Aが出ないから...  
 B: 高活性の人が出る。 DNAが壊れすぎていない  
 C: 低活性の人が出る。 DNAの濃度が少ない  
 何本も入れなかったら...

EE	EK	KK
-	-	-

• ALDHの構造  
 = 4単位が4つを形成して、  
 四量体。

- ALDH... アセトアルデヒドの分解酵素
- E型(高活性型)とK型(低活性型)がある
- 遺伝によってEE型, KK型, EK型になる
- EEとKK... ホモ接合
- EK... ハテロ接合
- 優性とかはない
- お酒に強い(弱いか)
- A... 必ず出る
- D... 制限酵素の切断が
- B... E型の人が出る
- お酒に強いのかどうか
- C... K型の人が出る

## 実験『ALDHの多型解析』

### 【方法】

最初に A, B, C, D のサンプルを 4 つ作ります。A にはどの DNA でも増えるプライマーを B には高活性 (E 型) 用のプライマー (SGG) を、C には低活性 (K 型) 用のプライマー (SGA) を、D には制限酵素を入れます。プライマーが DNA につくことで DNA が増幅します。

このとき、プライマーの配列が一塩基異なるだけではプライマーが DNA についてしまいます。そこでプライマーの配列を 2 つ変え一塩基多型の部分につけることによって PCR で増えるか増えないかの変化が現れます。

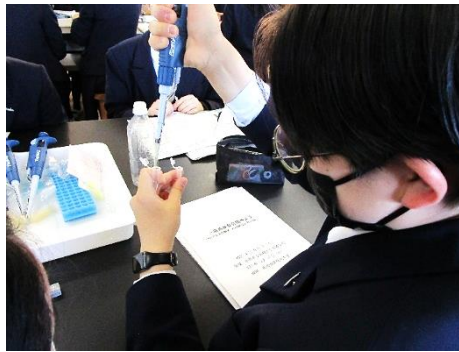
D に入れた制限酵素は TspRI というもので DNA を切断します。このとき E 型の DNA は塩基が 1 つ異なるだけなので DNA が切断されますが K 型の DNA は塩基が 2 つ異なるため切断されません。

サンプルを作った後、観察をしやすいように色素と DNA を混ぜて電気泳動にかけます。DNA はマイナスの電荷を帯びるリン酸が含まれているため正極の方に DNA が移動します。

### 【実験結果】

お酒に強い EE 型の方は A が一本、B が一本、C は増幅せず D は二本出ます。お酒がまあまあ飲める EK 型の方は A が一本、B が一本、C が一本、D が三本出ます。お酒に弱い KK 型の方は A が一本、B は増幅せず C が一本、D が一本出ます。

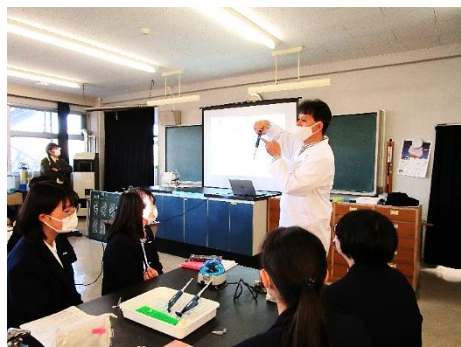
私の DNA は A, B が増幅し C は全く増幅しませんでした。制限酵素処理に失敗してしまったため D の結果を見ることはできませんでした。制限酵素処理がうまくいった班は少なかったです。



実験の様子

### 研修の感想

- 残念なことに、私の DNA は PCR で増幅してくれませんでした。多分こすり取った細胞が少なかったからだと思います。それでも、今まで使ったことのない実験器具を使って実験したり、ピペットを使って細かい作業をしたりするのは楽しく、講義に参加してよかったと感じました。今まで実験にそこまで大きな興味や関心はありませんでしたが、この講義を通してもっと多くの実験器具に触れてみたいと思いました。私がお酒に強いかどうかは、将来、実際に飲んで確かめたいと思います。
- 実は昨年度もこの講座に参加しており、今回は二回目の挑戦でした。昨年度の実験は失敗してしまったので今回はうまく行って良かったです。また、昨年疑問に思ったことが今回の講義で解決できてとても嬉しかったです。今回は大学の設備を使って実験をさせていただき、やはり実験が楽しいなあと思いました。今回出た結果は確かなものではないので実際私がお酒に強いのかはまだわかりません。3年後に確かめてみようと思います。



実験の結果・実験の考察の様子