

DNA-500

DNA-1000

DNA-2500

RNA

## 耳垢のタイプを決める SNP の解析

### SNP typing of Human Earwax type

耳垢のタイプを決める一塩基多型 (SNP) を MCE-202 MultiNA を用いて解析しました。ゲル電気泳動の写真による SNP 型判定に比べて、MultiNA の利用でより定量的な判定が行えることが解りました。

K. Kojima

#### はじめに

体質などの個人差を SNP で説明できる場合があることが解ってきました。例えば、ヒトの耳垢は目で見て判断できるメンデル遺伝様式を示す希な形質として知られており、ベトベト(湿型)とカサカサ(乾型)のタイプに分けられます。この耳垢のタイプも SNP で決定されていることが報告されました<sup>1)</sup>。ここでは血液直接 PCR 法 (Ampdirect) および ARMS-PCR 法<sup>2)</sup>などの技術と MCE-202 MultiNA を用いて耳垢のタイプを決める SNP の解析を紹介します。

#### 結果

反応産物を MultiNA で分析し、データをゲルイメージとして表示した結果を Fig.1 に示します。レーン A3 と B7 では塩基サイズが約 220bp と約 160bp の両部分にバンドを観察できます。これらは解析対象 SNP の塩基が A および G のヘテロで、耳垢は湿型です。

160bp の部分にのみバンドが見られるレーン A5 の場合は SNP の塩基が G ホモで、タイプは湿型です。その他の 220bp の部分にのみバンドが見られるものは SNP の塩基が A ホモで乾型タイプです。

また、同じ判定結果が Fig.2 に示す数値解析でも得られました。数値解析による結果は MultiNA からエクスポートされたピーク解析データ (DNA 断片のサイズやピーク面積) に対して、Fig.3 に示すような簡単なアルゴリズムの適用で得られました。

ヨーロッパやアフリカの人々ではほとんどが湿型であるのに対して、中国と朝鮮には乾型が 100% の地域があり、吉浦らは、この北東アジアを起源に乾型が広がったと推察しています。今回の解析例の検体提供者は全員が日本人で、乾型は 82% (14/17) となり、日本人では乾型がメジャーであるとの報告と一致しています。

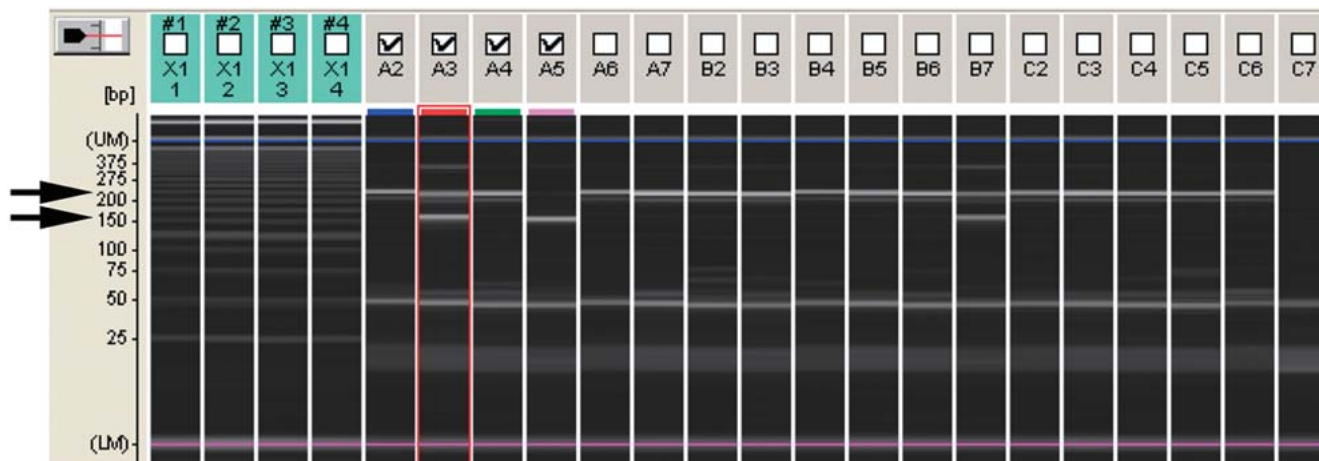


Fig. 1 rs17822931 (ABCC11) に対する血液直接 PCR の反応産物ゲルイメージ  
Represented gel image of PCR products of rs17822931 (ABCC11).

ウェル名	A2	A3	A4	A5	A6	A7	B2	B3	B4	B5	B6	B7	C2	C3	C4	C5	C6	C7
塩基サイズ156±3bpのピーク面積(S1)	-	231.99	-	231.93	-	-	-	1.17	-	-	-	131.15	-	-	-	-	-	-
塩基サイズ222±3bpのピーク面積(S2)	174.97	203.15	272.41	2.4	212.39	434.13	316.6	359.36	161.69	291.74	273.25	116.8	189.53	374.89	238.81	158.71	211.07	-
面積比(S1/S2)	-	1.14	-	96.62	-	-	-	0.0033	-	-	-	1.12	-	-	-	-	-	-
判定	Aホモ	ヘテロ	Aホモ	Gホモ	Aホモ	Aホモ	Aホモ	Aホモ	Aホモ	Aホモ	Aホモ	ヘテロ	Aホモ	Aホモ	Aホモ	Aホモ	Aホモ	N.C.

Fig. 2 数値解析による SNP 型判定の結果  
SNP typing by peak analysis data

### ● 分析手順

分析装置：MCE-202 "MultiNA"

分析モード：DNA-500 オンチップ混合

プライマー配列：

- ・ FA: TTCTGCATTGCCAGTGTACTCA
- ・ FB: GTCTGCCACTTACTGGCCC
- ・ RA: CTTACCCGCTTTGGGAAGAA
- ・ RB: TGGCTACAGGGCCACTCCTTGG

試薬：

- Ampdirect 粗精製 DNA 用  
(島津製作所) P/N 241-08800-97
- DNA-500 Reagent Kit for MultiNA  
(島津製作所) P/N 292-27910-91
- SYBR® Gold nucleic acid gel stain  
(インビトロジェン) S-11494
- 25bp DNA ラダー  
(インビトロジェン) 10597-011

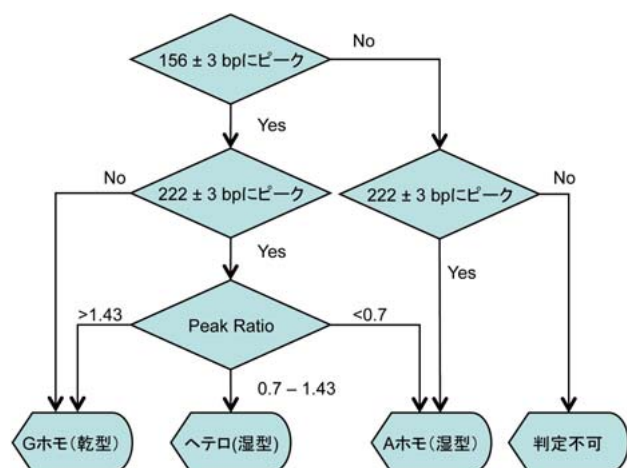


Fig. 3 SNP タイプの判定アルゴリズム  
SNP typing algorithm

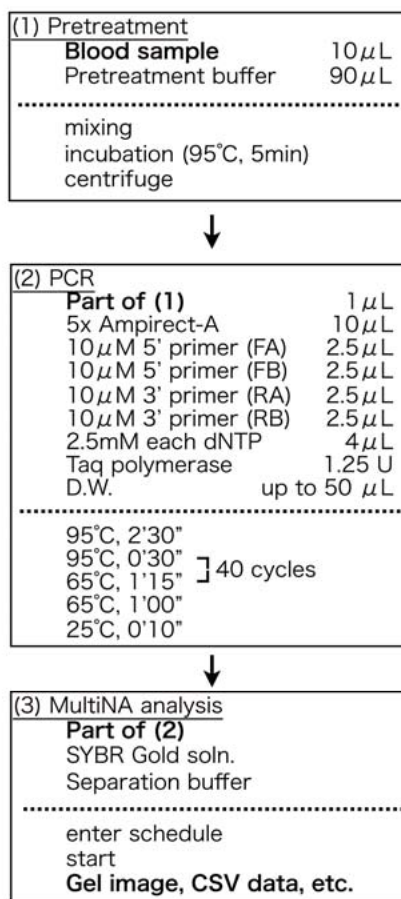


Fig. 4 SNP 型判定の試験フローと条件  
Experimental protocol

### ● 参考文献

1. Yoshiura, K, et al. A SNP in the ABCC11 gene is the determinant of human earwax type. *Nat Genet.* 38, 324-30 (2006).
2. Ye S, et al. An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Res.* 29, E88-8 (2001).