8）放射線誘発マウス胸腺リンパ腫の感受性遺伝子座の解析

田村　康・斉藤　有子
落合　幸江・児玉　泰光（新潟大学第一生化学）
木南　凌
若菜　茂晴（実中研）
丹羽　太貫（京大放生研）

発がん感受性を与える遺伝子（群）の多くは浸透率が低く，発がんへの寄与の程度は低い．しかし，その一般性から重要な遺伝素因を形成すると考えられている．ここではマウスを用いた多因子性疾患の遺伝解析について報告する．具体的には，γ線照射による発癌感受性をテーマとするが，それは系統間で異なり，BALB/c 系統は感受性を，MSM 系統は抵抗性を示す．

BALB/c 系統と MSM 系統の F1マウスを MSM 系統に戻し交配した293頭のマウス（N2M）にγ線を照射し，発症群，非発症群を対象に genome-wide の連鎖解析を行った．その結果，4番染色体上の D4Mit 12近傍に BALB/c 系統に由来する放射線感受性遺伝子座の存在が示唆された（Saito et al. Oncogene, in press）．この可能性を確認するため BALB/c 系統を背景とするコンジェニックマウスを作成し，再度同様に照射実験をおこなった．その結果，D4Mit12/338 領域において2群間の平均生存期間の有意な差（χ^2値 9.22 P＝0.0024）を認めた．そこで，現在この感受性遺伝子を単離する目的で，コンジェニックマウスを利用した詳細な感受性遺伝子座のマッピングを行っている．その現状と戦略を議論する．

9）PCR検出定量システムを利用したSNPs解析～ABI PRISM 7700の使用経験から

大竹　弘哲・小野寺　理（新潟大学脳研究所神経内科）
辻　省次

当施設で行っている，PCR 検出定量システムを利用した SNPs 解析について，ABI PRISM 7700 Sequence Detection System（以下，ABI 7700）を使用した経験から説明する．ABI 7700 では，Taqman probe という，5′及び3′末端にそれぞれ異なる蛍光色素をもつオリゴヌクレオチドを用いて，PCR を行うことにより，リアルタイムで PCR を検出定量する事が出来る．また，SNP に応じて，2種類の蛍光色素を持つ Taqman probe を設定し，一つの反応系に両方の probe を導入した assay が同時に行えるため，SNPs 解析が可能となる．このため，検索できる遺伝子多型としては，SNP であり，VNTR やマイクロサテライトは対象とならない．ABI 7700 を用いた SNPs 解析の利点としては，1．実験操作が簡便であること，2．比較的短時間で結果が得られること，3．96検体を同時に処理できること，4．解析が容易にできることが挙げられる．更に，その解析には，1．SNPs と，その前後300bp 程度の塩基配列情報，2．Taqman probe と primer の design に適した塩基配列，3．Taqman probe を購入する費用が必要となり，可能であれば 4．Allele 1 と Allele 2 の homo もあると円滑なデータの解析が行える．

10）疾患遺伝子のゲノム網羅的解析の立ち上げ

宮下　哲典・桑野　良三（新潟大学遺伝子実験施設）

病気に罹りやすい「個体」の疾患感受性遺伝子を探索するには，大量の遺伝子サンプリングをゲノム網羅的に解析する必要がる．しかし，疾患によって解析に必要なサンプル数やマイクロサテライトマーカー数は異なるし，大量数理解析ソフトによっても解析スループットは大きく変わると予想される．そこで，1）質の高い臨床データーの記載とサンプル収集・保存，2）大量ゲノムの高速解析，3）大量データーの数理解析，4）解析結果の検証と診療への反映，の連携は不可欠である．

こうした背景を踏まえ，脳疾患感受性遺伝子を探索するために，我々は上記 2）についてまず検討することにした．初期目標として500～1000サンプルの1000ヵ所のマイクロサテライトマーカーを解析する（50万～1000万 PCR 反応）する．相関解析にとってそのサンプル数やマイクロサテライトマーカー数は適切かどうか，解析に十分なデーターの収集にどのくらいの時間を要するか，について調べる．そのため疾患の感受性遺伝子座を効率良く，迅速に，そしてゲノム網羅的に解析するための集中的・合理的なトータルシステムを構築する必要が生じた．そのための戦略として，マイクロサテライトマーカーと一塩基多型（SNPS）を利用するゲノム網羅的解析システムを立ち上げた．このシステムの構築にあたり，次の2点に重点を置いた．

1）DNA サンプルや PCR 反応液の分注・回収をロボットに行わせ，手動による時間のロス，作業員の疲労，手間，ミスを最小限に抑える．
2）全国の医療機関から送られてくる匿名化ヒト DNA をコンピューターで一括管理し，その解析