



伝子診断に基づいて、外来、リハビリテーション、在宅にいたる患者の QOL 向上を行っている。臨床検査科をベースにした臨床 DNA 検査の実際の運用を紹介する。対象疾患は遺伝性脊髄小脳変性症、ハンチントン病、ミトコンドリア脳筋症などである。特に、ミトコンドリア病については既存の点変異のみならず、筋生検や臨床的に疑われた症例についてはミトコンドリア遺伝子全塩基配列決定を行うように努力している。ミトコンドリア遺伝子に類似の pseudogene が核内に存在するために、白血球 DNA の direct sequence では pseudogene の配列を変異と間違える可能性が指摘されている。そこで、long PCR を行いミトコンドリア遺伝子全体 (16569 bp) を二つにわけ (6.5 kb および 11.2 kb) で増幅し (赤沼らの方法) これを template とすることで、核内遺伝子の影響を除いている。

## 2 増幅によるゲノム DNA の不死化

武井 教展・宮下 哲典 (脳研究所附属生命科学リソース研究センター 遺伝子実験部門)  
桑野 良三

疾患感受性遺伝子を解析する際、染色体全域をゲノム網羅的に解析するためには少なく見積もっても 1 検体あたり数十  $\mu\text{g}$  という大量のゲノム DNA が必要になる。しかし、ヒトから採取できるゲノム量は有限であり、微小な組織から採取できるゲノム量はさらに限られたものであるため、いずれは貴重なゲノム資源が枯渇してしまうのは明らかである。

当 Niigata Genotyping Center ではこの問題を解決するために、ゲノム DNA の“増幅”、“超微量解析”、“再利用”の確立を目指している。まず我々は現時点で可能な増幅法に着目し、PCR 法をベースとしたゲノム DNA 全領域を増幅する新たな手法を検討している。その手順は“①断片化ゲノムの作製”“②断片化ゲノムの平滑化”“③アダプターの付加”“④高温 PCR による断片化ゲノムの増幅”というものである。この手法の予備実験において約 1000 倍のゲノムの増幅を確

認することができた。この方法が確立されればゲノムの半永久的な利用が期待できる。本研究会ではこの“増幅によるゲノム DNA の不死化”へのチャレンジを紹介する。

## 3 KCNJ2 の C 末端の遺伝子変異が確認されたアンデルセン症候群の 1 例

保坂 幸男・塙 晴雄  
鷲塚 隆・池主 雅臣  
阿部 晃・古嶋 博司  
山浦 正幸・田辺 靖貴  
山下 文男・吉田 剛  
渡部 裕・小村 悟  
杉浦 広隆・廣野 崇  
相澤 義房 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 循環器分野)

【背景】周期性四肢麻痺・心室性不整脈・形態異常を三徴とするアンデルセン症候群は遺伝性疾患であり、最近、内向き整流カリウムチャンネルをコードする KCNJ2 の遺伝子変異が報告された。

【方法と結果】我々はアンデルセン症候群の 1 症例にて臨床的・分子生物学的解析を試み、KCNJ2 の C 末端に新しい遺伝子変異 (G215D) を認めた。心電図では突出した U 波と頻発する心室性期外収縮を認め、心臓電気生理検査にて多形性心室頻拍が誘発された。COS7 細胞を用いた全細胞パッチクランプ法にて変異型単独では電流発現を認めず、野生型との共発現では優性ネガティブ効果を認めた。共焦点蛍光顕微鏡での解析では、野生型と変異型の細胞内輸送に差を認めず、カリウムチャンネルが野生型と変異型の複合体であることが認められた。

【結語】変異型は細胞内輸送で野生型と差を認めず、野生型と複合体を形成し、優性ネガティブ効果を発揮した。本症例の遺伝子変異 (G215D) はアンデルセン症候群の原因と考えられた。

## 4 指の数を決める遺伝子

堀越 泰三 (厚生連三条総合病院 整形外科)

軸前性多指症は四肢奇形の中で最も多く、ほぼ左右対称性に過剰指 (趾) を生じる。我々は染色体転座を伴う多指症患者および多指変異マウスを