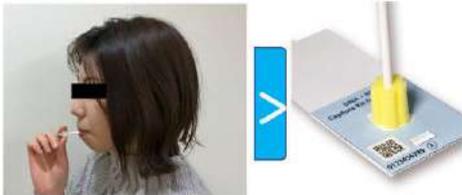


# 高校・大学の遺伝子検査実習に最適！

## アルコール体質検査プロトコル

### 1. 唾液サンプリング（教室）

- サンプリングキットの使用説明
- 唾液サンプリング（スワブ使用）
- サンプル提出（UBS Card in 滅菌パウチ）
- 使用済のスワブは被験者自らオートクレーブバッグに捨てる。
- サンプルは一昼夜乾燥させる。

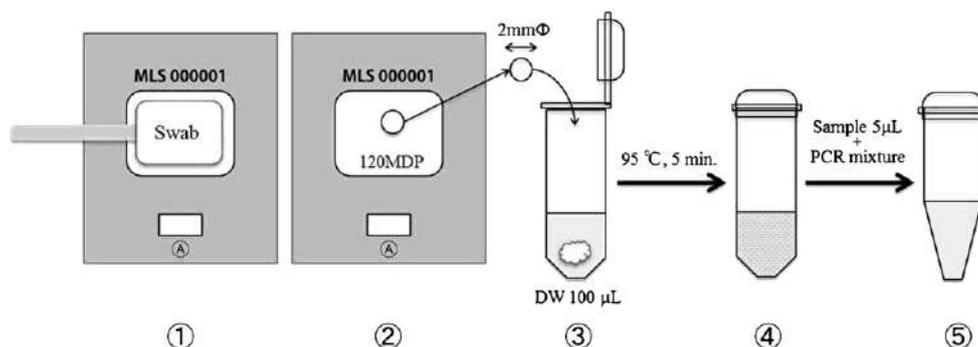


### 2. サンプルの登録（実験室及び機器室）

- バーコードリーダーでサンプルID（QRコード）を読み取り、管理用ワークシート（Excel ファイル）を作成する。
- PCR 検査用解析プロトコルを作成する。
- 個人情報保護に配慮ください。

### 3. サンプル前処理（実験室）

- ① 乾燥したサンプルから水溶紙片(2mmΦ)をカット
- ② その水溶紙片を蒸留水 100μL の入ったチューブに直接投入
- ③ 95°C 5 分間加熱処理したサンプルを静置（水溶紙が沈殿する）
- ④ その上清をリアルタイム PCR 反応調製液に投入し，遺伝子増幅反応を開始する。



#### 4. PCR 検査用試薬の調製（実験室）

ALDH2	μL
*THUNDERBIRD Probe qPCR Mix（東洋紡社製）	5
50× ROX reference dye（東洋紡社製）	0.2
20× ALDH2 TaqMan Probe & ALDH2 Primer Mix (ABI 社製:C_11703892_10)	0.5
乾燥唾液サンプル加熱処理液	5
Total	10.7

ADH1B	μL
*THUNDERBIRD Probe qPCR Mix（東洋紡社製）	5
50× ROX reference dye（東洋紡社製）	0.2
20×ADH1B TaqMan Probe & ADH1B Primer Mix (ABI 社製:C_2688467_20)	0.5
乾燥唾液サンプル加熱処理液	5
Total	10.7

#### 5. PCR 検査（機器室）

装置：ABI 7300 Real Time PCR System

反応条件：熱変性95°C 1 分後、PCRサイクルを50 サイクルの熱変性95°C 5 秒，アニーリング及び伸長反応60°C 30 秒にて実施した。

ジェノタイピング：エンドポイント解析で実施した。

\*リアルタイムPCR用試薬：Hot Start TTx (DNA) Kit (東洋紡), GeneAce Probe qPCR Mix II (ニッポン・ジーン), Probe qPCR Mix (タカラバイオ), TaqPath qPCR Master Mixes (ABI)など

#### 6. 結果判定（SNP タイピング）

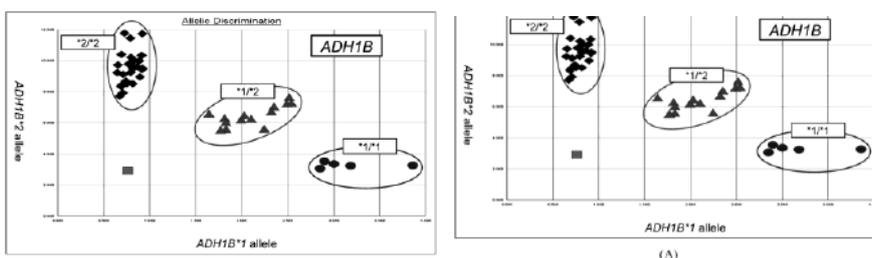


Table 2. Phenotype Frequencies for Alcohol-related Gene Types

ADH1B	ALDH2	Type	N	%
*1/*1	*1/*1	A	3	1.5
*1/*2	*1/*1	B	46	46.6
*2/*2	*1/*1		50	
*1/*1	*1/*2	C	4	1.9
*1/*2	*1/*2	D	41	45.6
*2/*2	*1/*2		53	
*1/*1	*2/*2	E	0	4.4
*1/*2	*2/*2		2	
*2/*2	*2/*2		7	

#### 7. 検査結果の通知（アルコール体質カード）



## 8. 付録

Table 1. Time Schedule for Each Process of Alcohol-related Gene Types

Sample Punching	30 min
Liquid Handling for PCR	30 min
PCR Amplification	60 min
Genotyping Data Analysis	30 min
Total Processing Time	150 min

Table 3. Genetic Testing Kit and Consumable Costs

(A) Genetic test kit

Genetic test kit	Cost
Homemade sampling kit “DnaCapture”	¥50.0
Oral swab	¥21.0
Label seal, envelope, instructions <i>etc.</i>	¥12.0
Educational textbook for drinking	¥20.0
Alcohol metabolism-related genetic card	¥22.0
Total	¥125.0

(B) Reagents and consumable costs per person

Reagents	Cost
THUNDERBIRD qPCR Mix	¥36.0
80 × TaqMan Probe	¥111.7
Distilled water	¥0.8
Biopsy punch for 40 persons	¥12.2
Plastics	¥58.3
Total	¥219.0