

## 2) 出生前遺伝子診断

名古屋市立大学医学部  
産婦人科教授  
鈴森 薫

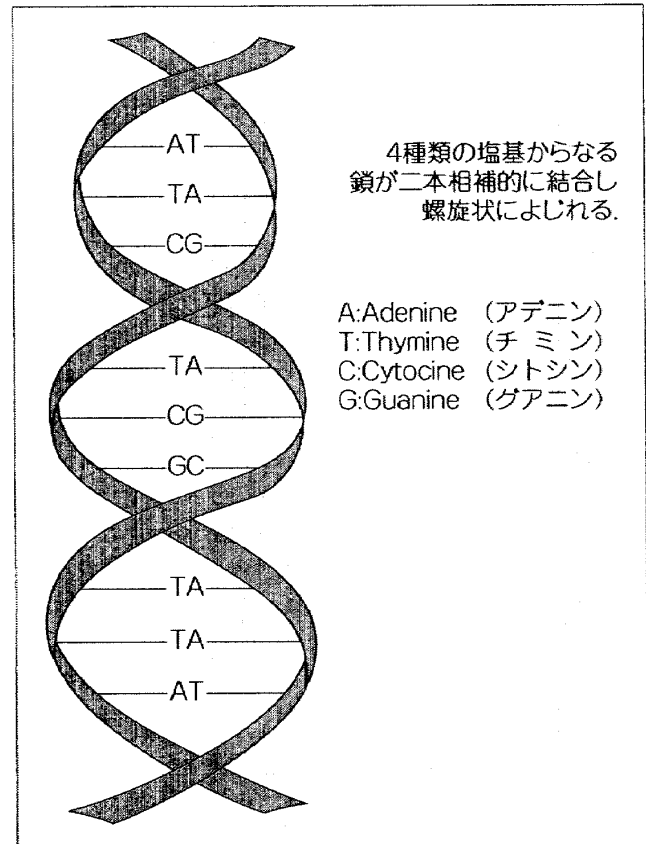
座長：浜松医科大学  
産婦人科教授  
寺尾 俊彦

### はじめに

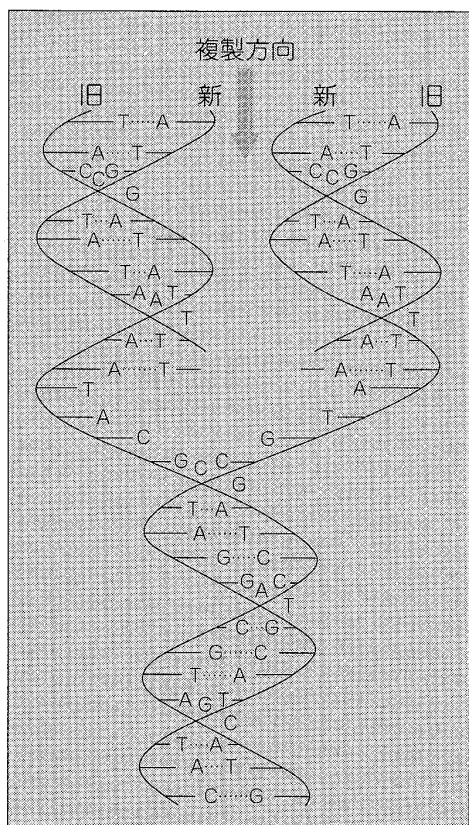
1944年に米国の Avery and McCarty により、比較的簡単な構造である核酸が長い鎖様を呈し、遺伝情報を担っているという発見がなされた。しかし、生物の根源ともいべき遺伝情報の複製と伝達を説明できる立体的な遺伝子構造は不明であった。1953年に Watson and Crick はこの疑問をすべて解決する立体構造を発表した。すなわち、遺伝子の本体はデオキシリボ核酸 (DNA) で、細胞の核の中で染色体構造をとって存在する。この DNA は化学的に二本鎖からなり、デオキシリボースという5単糖の1種がリン酸と交互に並んでいる。そして各デオキシリボースの一端には核酸塩基と呼ばれるものが一つ付いている。核酸塩基は4種類あり、アデニン (A)、グアニン (G)、シトシン (C) およびチミン (T) である。二本鎖 DNA は二重の螺旋構造を呈し、二本鎖は塩基間の水素結合で結ばれているが、この結合は相互的対合の法則に従う特異的なもので必ず A には T, G には C となっており (相補性という)、この一对の塩基対を base pair (bp) といっている (図1)。

### DNA の複製と機能

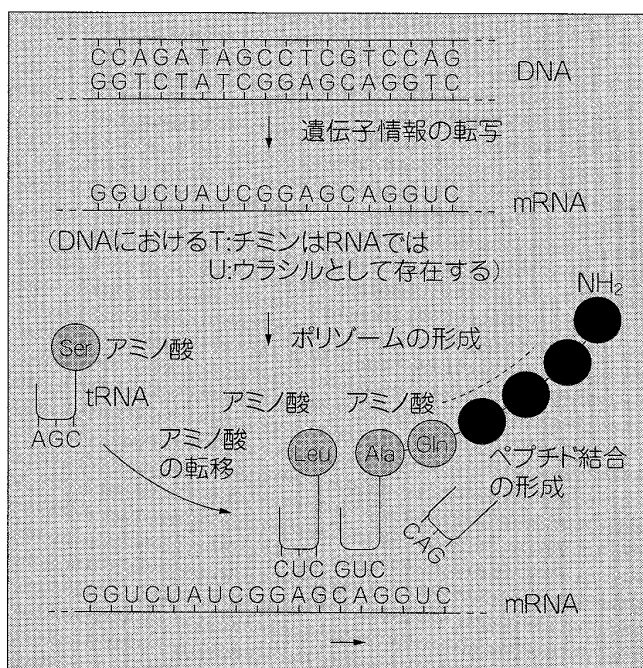
二重螺旋構造をとる DNA は対合している塩基と厳密な相補的關係があるので、それぞれの螺旋が解ければ、新たな鎖の合成の際の鋳型として役立つ。DNA が生体内で遺伝情報の発信源あるいは貯蔵庫として機能し継代伝達されるためには自己複製が絶対的に必要となるが、この二重螺旋構造であることが自己複製の鍵となっている。塩基間を結んでいる水素結合は弱く、生理的温度下では安定であるが弱性の酸やアルカリや加熱処理により二本鎖を一本鎖に解くことができる (変性: denaturation)。一本鎖になった DNA は比較的安定で冷却していくとそれぞれが鋳型になって、新しいポリマー (重合体) の前駆体となるモノヌクレオチドが並んで重合され、再び二本螺旋構造を造る (再結合: renaturation)。その際、二重螺旋を形成する塩基は相補的であり、アデ



(図1) 二本鎖 DNA の螺旋構造



(図2) DNAの複製



(図3) アミノ酸合成の模式図

ニン (A) は必ずチミン (T), グアニン (G) はシトシン (C) としか結合しないようになっているので、その並び方は鋳型と相補的になることによって決まる。この二本はお互い同士の間でも、また元の原型との分子の間でも塩基配列順序は全く同じということになる (自己複製: self-duplication) (図2)。それぞれの遺伝情報は、この中に組み込まれているので、原型と全く同じ遺伝的特異性をもった倍数のDNA鎖が自己複製されたことになる。自己複製もさることながら、変性して一本になったDNA鎖は非相補的一本鎖と一緒にすることは絶対がない。このことは遺伝子DNAを同定するときの重要な方法の基礎となっている。すなわち、ある一定の塩基配列をもつ一本鎖DNAはそれと全く相補的な一本鎖DNAと邂逅すればハイブリッド形成 (hybridization) する。この相補的DNA断片とのハイブリッド形成は遺伝子診断の重要な原理となっている。

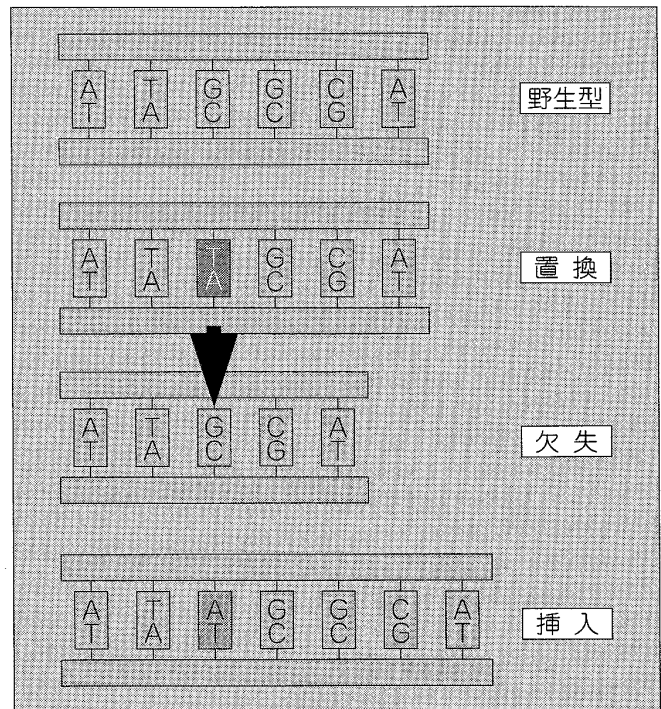
遺伝子のもう一つの機能は遺伝情報をRNAに転写させ、それに見合ったタンパク質に翻訳することである。タンパク質のアミノ酸配列はヌクレオチド塩基対 (A-T, C-G) の配列として遺伝子に刻み込まれている。この場合、三つの塩基対の配列で一つのアミノ酸を決定する (これをコドン: codon という)。まず、遺伝情報は一本鎖DNA鎖の3'から5'の方に向かってRNAポリメラーゼという酵素の働きでその担い手となるmRNA (messenger RNA) に転写 (transcription) される。mRNAの塩基配列は、コドンの配列に対応するアミノ酸の鋳型となる (翻訳: translation)。かつては構造遺伝子は、その産物であるタンパク質を構成するポリペプチドの数に見合うだけのヌクレオチド・コドンをもつDNAと考えられていた。しかし、構造遺伝子は実際にタンパクアミノ酸をコードする領域 (エクソン: exon) よりずっと長く解析されない介在配列 (イントロン: intron) という機能不明の配列により分断されていることが判明した。遺伝子産物過程では、最初、エクソンとイントロンを含む全遺伝子に相当する大きいmRNA前駆体に転写される。この分子は細胞質に転送される前にイントロン配列の切り出し (スプライシング: splicing) が起こり、エクソン配列のみが継ぎ合わされる。この過程で形成された成熟mRNAがタンパク合成の鋳型として働く。アミノ酸への翻訳はmRNAのコドンの配列

に対応するアミノ酸へと変換されていくが、翻訳開始部位（開始コドン：start codon）は定まった読み枠で行われるが、そのコドン1は常にAUGである（DNAにおける塩基のTはRNAではウラシル：Uになる）。アミノ酸は転移RNA（transfer RNA：tRNA）に結合してmRNA上に運ばれるが、各アミノ酸はそれ自身のtRNAをもっており、mRNAのコドンに相補的な部位（アンチコドン：anti codon）が存在し、ポリゾーム上のmRNAに結合する。図3に示すようにロイシン（Leu）のtRNAのアンチコドンCUCはmRNAのコドンGAGに、またアラニン（Ala）のアンチコドンGUCはCAGに対応する。このようにmRNAの遺伝符号（コドン）に合うアミノ酸を結合したtRNAが順次付いてアミノ酸間のペプチド結合ができる。こうして遺伝子DNAの遺伝符号によって指定されるおりのアミノ酸配列をもったポリペプチド鎖が伸長していく。翻訳を終了させるコドンも必要でこれを停止コドン(stop codon)といいUAA、UGAとUAGの3種類がある。

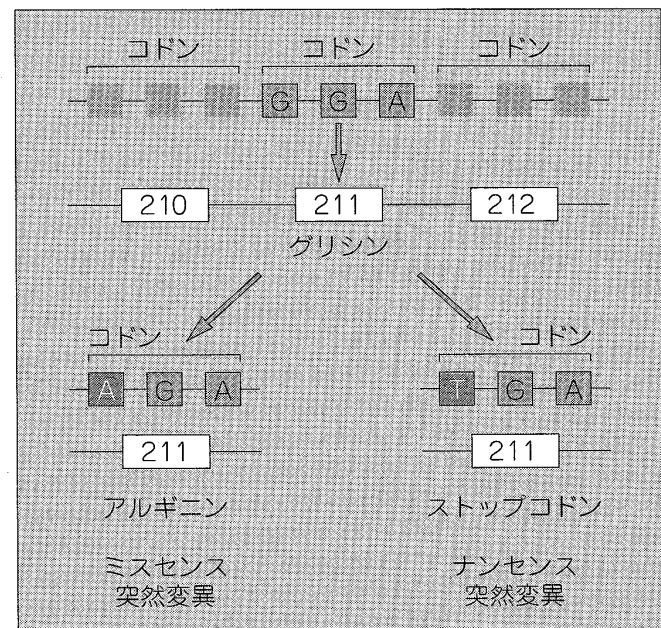
ゲノムとは染色体の中のDNA全体、つまりは遺伝子セットをいう。ヒトゲノムは30億塩基対（bp）からなる二本鎖DNAで、1個の細胞のDNAの長さは1mに及ぶ。この中の50%は高度に反復する部分で明らかな機能をもたないDNA配列である。ゲノムの中には、数百から数百万からなる文字暗号があり、約10万種類が遺伝子として機能し、それぞれの遺伝子によって造られるタンパク質を規定している。

### 遺伝子の異常

遺伝子を構成するDNAの塩基配列は転写翻訳過程を通してアミノ酸配列を決定している。もし遺伝子DNAの塩基配列になんらかの変異が起こると（突然変異）、これに対応しているアミノ酸も異なることになる。遺伝子変異の種類には主に次の三つに大別される（図4）。1）1塩基置換（塩基の交換）で、遺伝子DNAの塩基配列、とくにエクソン部分の1塩基が置換(substitution)する。2）1個あるいは複数の塩基の欠失(deletion)および挿入(insertion)でDNAの長



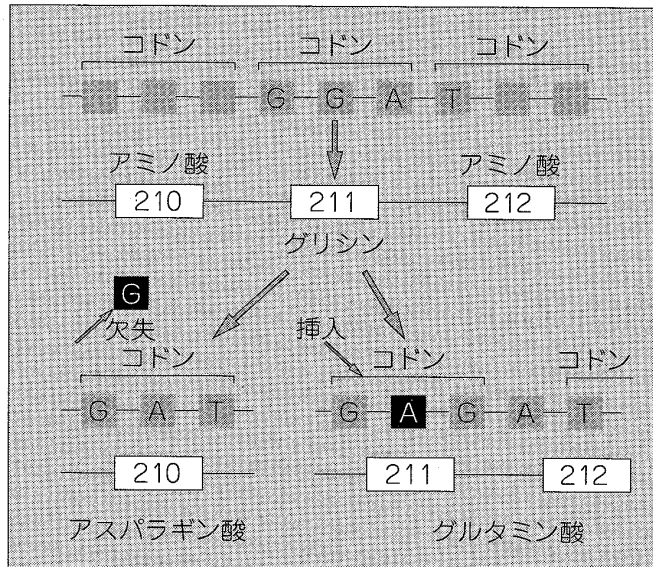
(図4) 突然変異の種類



(図5) 1塩基置換によって生ずる遺伝情報上の変化

さの変化も伴う。

これらの変化を分子病理学的にみると次のようになる。1塩基置換の結果コドンの変更を伴えば合成されるタンパク質のアミノ酸構造が違ったものになり遺伝子として機能しなくなる。図5の左のように211番目のアミノ酸であるグリシンをコードする塩基配列GGAがAGAのコドンに変わるとアルギニンになる。このような変異をミスセンス突然変異 (missense mutation) という。また右のようにTGAという停止コドンになると211のアミノ酸より下流の翻訳ができなくなる。この変異をナンセンス突然変異 (nonsense mutation) といっている。1塩基置換では読み枠は変化しないが、挿入や欠失は読み枠の移動 (読み枠移動突然変異: frameshift mutation) を起こす (図6)。



(図6) 1塩基の欠失・挿入によって生ずる読み枠移動突然変異

### 胎児由来 DNA 材料の調整

出生前遺伝子診断に用いられる胎児由来の材料としては絨毛が最も適している。絨毛は細かく細切、等張液で洗浄し、EDTAやSDSを含む溶液とタンパク分解酵素で処理後、フェノール処理、アルコール処理などの過程を経てDNA抽出液とする。

### 遺伝子異常の検出法

遺伝子診断とは、被検者 (出生前診断では胎児) のゲノムDNAと目的の遺伝子プローブ (cDNA, クローニングされたDNA, ゲノムDNAから調整されたDNA断片が用いられる) との相補性を利用し、前者と後者との塩基配列の差異を検出することである。原理は二本鎖のゲノムDNAを特定の制限酵素で切断するとさまざまな長さの異なる断片を生ずる。そのDNA断片をアガロースゲル電気泳動し、長さの違いによって分離した後、サザンブロット法を用いてナイロン膜に移し、同位元素などで標識した目的とするDNAとハイブリダイズすると長さの差がバンドの位置の違いとして認識できる。PCR (polymerase chain reaction) 法はDNA断片のたった1個のコピーから百万倍に増幅し研究に供するもので、既知のDNA配列の中にある遺伝子変異を同定するのにきわめて有用である。とくに検体量が制限されるような出生前診断には適している。

### 出生前遺伝子診断とその利点および問題点

遺伝子診断には従来の診断法に比べていくつかの利点がある。構造遺伝子の変異は一般的に組織特異性がないので、診断に際して特定の臓器や細胞材料を規定しない。つまり、従来の遺伝生化学的診断法では、遺伝子変異によるタンパク質の変化が絨毛や羊水細胞で発現していないような疾患では出生前診断が不能であったが、遺伝子診断ではどの細胞を用いても可能である。また、遺伝子変異の有無により診断がなされるので一定の幅をもった正常値という概念がなく誤診が少ない。問題点としては多くの疾患の遺伝子解析はまだ研究室レベルにあり、解析に必要な装置を備えていなければ診断が難しいことが挙げられる。その解決の道としては各施設間の連携を保ちながら、相互に協力し、出生前遺伝子診断のための医療体制を構築していくことが今後の課題である。