

ALDH and CYP2E1 Single Nucleotide Polymorphism Distribution in Korean

Dong Hoon Han^{1,2} and Jeong Hee Kim^{1*}

¹Dept of Biochemistry, College of Dentistry, Institute of Oral Biology, ²Dept. of Biomedical Science, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

(Received July 25, 2006 ; Accepted August 17, 2006)

Aldehyde dehydrogenase (ALDH) plays an important role in alcohol metabolism; ALDH is responsible for the oxidation of acetaldehyde generated during alcohol oxidation. ALDH is also known to oxidize various other endogenous and exogenous aldehydes. Cytochrome P-450 2E1 (CYP2E1), a liver microsomal enzyme, also metabolizes acetaldehyde and ethanol and can be induced by other inducers including acetone and ethanol. We examined single nucleotide polymorphisms (SNP) of ALDH and CYP2E1 genotypes in Korean. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) method was used to determine ALDH and CYP2E1 SNP. Mutation in ALDH was 60% (heterozygote 46.7% and homozygote 13.3%) among 15 cases. CYP2E1 mutation was 52.7% (heterozygote 47.4% and homozygote 5.3%) among 19 cases.

Key words: SNP, ALDH, CYP2E1, restriction fragment length polymorphism.

서 론

최근 인간의 염색체 염기서열을 밝히는 연구 프로젝트 (human genome project, HGP)가 진행되었고, 2001년에 염기서열이 발표되기에 이르렀다. 분자생물학 및 유전학 등의 학문의 연구에도 이러한 광범위한 유전 정보를 이

용하고자 하는 노력이 진행되고 있다 (Burton *et al.*, 2003; Meyerson, 2003). 그 중에서 유전적 표현형간의 염기서열 변이를 일으키기 위해서 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)과 같은 좀 더 효과적인 접근 방법이 보편화되고 있다 (Kwok *et al.*, 1999; Kwok *et al.*, 2003). 예를 들면 DNA 사슬의 특정부위에 어떤 사람은 adenine 염기를 가지고 있는 반면 어떤 사람은 cytosine 염기를 가지고 있어서 이러한 미세한 차이에 의하여 다른 질병에 대한 감수성의 차이가 나타나는 등 각 유전자의 기능이 달라질 수 있다. 즉 특정 질병에 대한 감수성과 유전자간의 차이에 대한 상관관계를 찾을 수 있다면, 이는 이용한다면 질병의 예방, 조기진단 및 치료연구에 많은 진전을 가져올 것이다.

특정 연구 그룹에서의 특정 발병과 염기서열 변이간의 연관성을 규명하는 연구가 특히 높은 빈도로 일어나는 변이를 주요 연구 대상으로 하여 활발히 진행되고 있다 (Ellegren *et al.*, 2003; Rosand *et al.*, 2003). 이러한 접근 방법의 장점은 군집 내에서의 개체를 무작위로 선별하여 DNA 시료를 얻는 것이 특정 개체에서 여러 세대의 개체 구성원으로부터 DNA 시료를 얻는 것보다 쉽다는 것인데, 이 장점으로 인해 병리학적 특징에 관계되는 유전자가 점점 더 많이 확인될 것으로 예상된다. SNP가 높은 빈도로 일어나는 경우에, 질병이 특정 SNP에 의하여 발병되거나, 식어도 깊이 관계가 되어 있을 가능성이 높다. SNP 연구를 통하여 암이나, 심혈관질환, 정신병, 자가면역증, 당뇨 등과 같은 복합적인 질병에 대한 유전적인 실마리를 확인할 수 있을 것이다. 그리고 발병을 유발하는 것으로 알려져 있는 다형성에 대한 정보는 기하급수적으로 증가할 것이며, 현재까지 알려진 다형성

*Corresponding author: Prof. Jeong Hee Kim, 1 Hoeki-dong Dongdaemoon-ku, Department of Biochemistry, College of Dentistry Kyung Hee University, Seoul, 130-701, Korea. Tel.: +82-2-961-0915; Fax.: +82-2-960-1457; e-mail, jhkimh@khu.ac.kr

정보도 관련정보의 확장으로 인하여 다른 질병에 대한 더 많은 정보를 얻을 수 있을 것이다.

물질대사반 정상적으로 섭취된 물질을 다른 화합물로 변화시키주는 생체의 화학반응이다. 외부에서 유입된 이 물질의 경우 (예: 알콜), 대사 후 원래보다 더욱 독성이 강한 대사산물이 간혹 생성되어 신체 조직에 해를 입힐 때도 있다. 알콜은 물에 잘 녹아 음주 후에 위장관에서 흡수되어 혈액을 통해 뇌와 간을 포함한 신체 각 조직에 분포된다. 혈액을 통해 간에 운반된 알콜은 아세트산으로 변환 후 각 조직에 운반되어 산화되기도 한다 (Nelson *et al.*, 2000). 산화되지 않은 알콜은 혈중에 남아 있다가 호흡기, 피부 또는 소변으로 배출된다. 알콜의 대사는 각 개인의 유전적인 또는 환경적인 요인에 의하여 결정되는데 각 개인의 성별, 연령, 체중, 영양 상태 및 신체 조건에 따라 어느 정도 영향을 받기도 한다. 한국인을 포함한 동양인들에게는 alcohol dehydrogenase (ADH)나 aldehyde dehydrogenase (ALDH)에 SNP가 존재한다 (Enomoto *et al.*, 1991; Goedde *et al.*, 1986; Goedde *et al.*, 1992; Kawaguchi *et al.*, 1992; Shibuya *et al.*, 1988). 특히 아세트알데히드 (acetaldehyde)의 대사에 관여하는 ALDH중 exon 12의 3' 말단에서부터 12 base에 위치하는 G → A 변이에 의해서 glutamic acid가 lysine으로 변화되어 이 효소의 역가가 현저히 감소한다 (Hsu *et al.*, 1985). 이와 같은 SNP로 인해 소량의 알콜만 섭취해도 아세트알데히드가 축적되어 안면이 붉어지는 홍조증(flushing syndrome)을 나타내거나 빈맥, 오심, 구토 등이 나타나기도 한다 (Shibuya *et al.*, 1989; Mizoi *et al.*, 1994).

Cytochrome P450 (CYP-450)은 heme기를 가진 효소를 일컬으며, steroid hormone, fatty acid, prostaglandin과 같은 내인성 물질 및 약물 등의 외인성 물질의 산화적 대사에 관여한다. 인간의 CYP-450 isoenzyme은 30 가지 이상이 발견되었고, CYP2E1이 알콜대사에 관여하며, 5-flanking region에서 *Pst* I과 *Rsa* I polymorphism이 발견되었다. 따라서 본 실험에서는 다른 사람에 비해 알콜섭취에 어려움을 호소하는 건강한 지원자를 대상으로 하여 polymerase chain reaction (PCR)과 제한효소 처리를 이용한 제한 절편 길이 다형성(restriction fragment length polymorphism, RFLP) 방법으로 알콜분해에 관련

된 효소인 ALDH와 CYP2E1의 SNP를 확인하고 그 발현빈도를 조사하였다.

실험재료 및 방법

실험대상

본 연구에 사용된 시료는 건강한 지원자로부터 제공받은 혈액시료를 사용하였으며, 남자 17명, 여자 2명의 비율에 평균 25.7±5.4세의 연령 분포를 나타내었다.

Genomic DNA 분리

혈액시료에서 DNA 분리는 GENOME® Whole Blood Kit (BIO 101, USA)을 사용하여 제조사가 추천하는 방법으로 분리하였다. 분리된 genomic DNA는 증류수에 용해시켜 -20°C에 보관하였다.

ALDH 유전자 증폭 및 SNP 확인

유전자 증폭은 primer AL1과 AL2를 사용하여 다음과 같이 실시하였다. 우선 94°C에서 10분간 가열 후, 95°C에서 30초, 65°C에서 90초, 72°C에서 30초에서 50회 동안 반응시킨 후, 72°C에서 10분 동안 반응시켰다. PCR 생성물은 제한효소 *Eco* 57 I (1 U, MBI fermentas, USA)로 절단하여 3% agarose gel상에서 전기한 후 EtBr로 염색하여 가시화 하였다.

CYP2E1 유전자 증폭 및 SNP 확인

Pst I 제한 부위를 포함한 250 bp 유전자의 증폭은 primer CY1과 CY2를 이용하였다. PCR 증폭은 94°C에서 40초, 55°C에서 50초, 72°C에서 40초 동안 60회 동안 증폭하여 *Pst* I (2 U, Promega, USA)로 절단하여 그 결과물을 3% agarose gel상에서 전기한 후 EtBr로 염색하여 가시화 하였다.

Rsa I 제한부위를 포함한 242 bp 유전자의 증폭은 primer CY3와 CY4를 이용하여 위와 동일한 조건으로 실시하였다. 그 결과물을 *Rsa* I (2 U, Promega, USA)로 절단한 후 3% agarose gel상에서 전기한 후 EtBr로 염색하여 가시화 하였다.

Table 1. primers used in this study.

SNP locus	Primer	Sequence (5' → 3')	Product (bp)
ALDH	AL-1	5'-GGTCAACTGCTATGATGTGTTTGG-3'	223 bp
	AL-2	5'-GGCAGGCCCCGAGCCCCCAACAGA-3'	
CYP2E1 <i>Pst</i> I site	CY-1	5'-CCAGTCGAGTCTACATTGTCAGTT-3'	250 bp
	CY-2	5'-GAGTTATGCCATTCTATACTTGTA-3'	
CYP2E1 <i>Rsa</i> I site	CY-3	5'-AGAGAAAACTGGGTTAGAATGCA-3'	242 bp
	CY-4	5'-TTCATTCTGCTTCTAACTGGCAA-3'	

결 과

ALDH 유전자의 단일염기다형성 검출

ALDH와 CYP2E1의 SNP를 확인하기 위하여 제한효소 처리에 의한 DNA 절편의 길이 차이를 확인하여 SNP를 결정하는 방법인 PCR-RFLP법을 사용하였다. Primer AL1 및 AL2로 PCR 증폭된 DNA의 크기는 223 bp이며, 정상적인 경우에는 *Eco57 I*에 의하여 절단되어 122 bp와 101 bp로 나뉘게 된다. 만약 염색체 한쌍 모두에서 *Eco57 I* 인식부위에 G→A 변이가 있는 경우 (5'-CTGAAG-3' → 5'-CTAAAG-3'), 즉 homozygote mutation인 경우 *Eco57 I*이 작용할 수 없게되어 223 bp의 단일밴드로 나타나게 된다. Heterozygote mutant의 경우에는 한 쪽의 대립유전자에만 변이를 가져서 223 bp, 122 bp 및 101 bp 3개의 band가 관찰된다(Fig. 1).

CYP2E1 유전자의 단일염기다형성 검출

CYP2E1 유전자는 두가지의 제한효소, *Pst I*와 *Rsa I*로 SNP를 확인하였다. *Pst I* 위치의 SNP 경우 wild type은 *Pst I* 인식부위가 없어 250 bp의 단일 band가 관찰되었고, homozygote mutation을 가진 경우에는 134 bp와 116 bp의 2개의 밴드로 나타났으며, heterozygote mutation의 경우 3종류의 밴드가 모두 나타났다(Fig. 2A and B).

Primer CY3와 CY4로 증폭한 *Rsa I* 위치의 경우에는 wild type은 *Rsa I* 인식부위를 포함하므로 182 bp 및

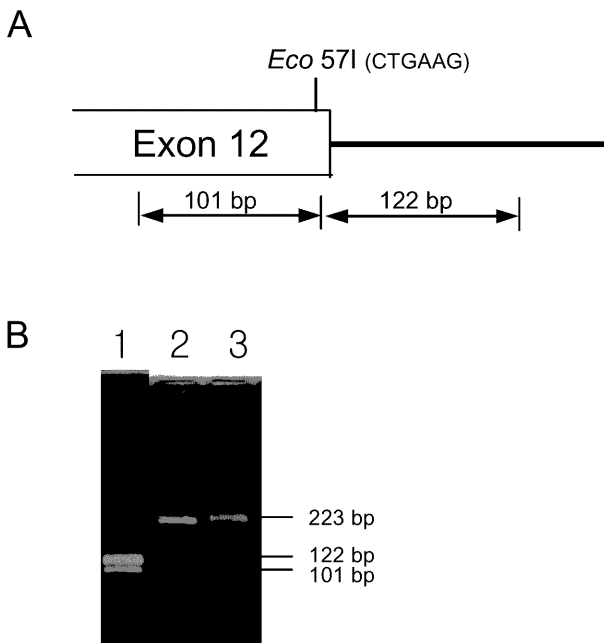


Fig. 1. Schematic diagram of ALDH polymorphic site (A). Electrophoretic analysis of restriction fragment length polymorphism of ALDH genetic variations (B). Lane 1; wild type (case 7), lane 2; heterozygote (case 10), and lane 3 homozygote (case 11).

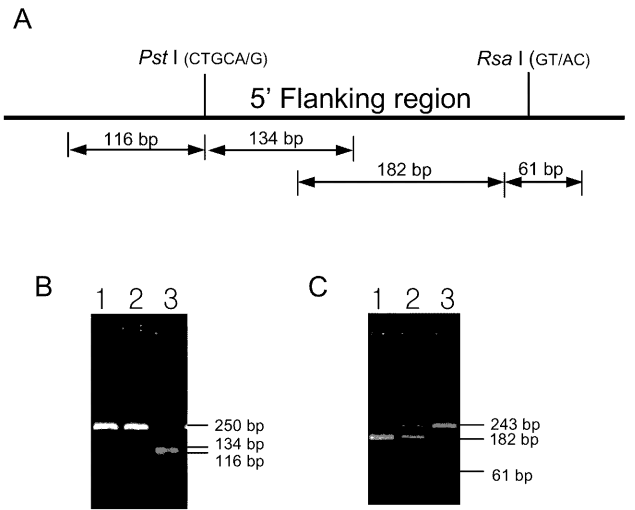


Fig. 2. Schematic diagram of CYP2E1 polymorphic sites (A). Electrophoretic analysis of restriction fragment length polymorphism of CYP2E1 genetic variations at *Pst I* restriction site (B) and *Rsa I* restriction site (C). Lane 1; wild type (case 7), lane 2; heterozygote (case 8), and lane 3; homozygote (case 9).

61 bp의 2개의 밴드로 나타나고 homozygote mutation을 가진 경우에는 243 bp의 1개의 밴드로 나타났으며, heterozygote mutation의 경우 3종류의 밴드가 모두 나타났다(Fig. 2A and C).

유전자 단일염기 다형성의 분포

유전자 단일염기 다형성 분석 결과는 Table 2과 같다. ALDH 경우 지원자 총 19예 중 14예에서 결과를 얻었으며, 그 중 wild type이 6예(42.9%), heterozygote mutant가 6예(42.9%), homozygote mutant가 2예(14.3%)로 나타났다(Table 2). 흥미롭게도 본 결과는 사전설문조사에서 나타난 지원자의 음주량과 알콜 분해에 대한 개개인의 특징과 일치하는 양상을 보였다(data not shown).

CYP2E1의 경우 *Pst I*과 *Rsa I* site 두 부위에서 모두 동일한 유전형 분포를 얻었다. 결과는 총 19예에서 얻어졌으며, 한 예에서 *Rsa I* site의 결과만 얻어졌다. 그 중 wild type이 9예(47.4%), heterozygote가 9예(47.4%), 및 homozygote는 1예(5.3%)였다.

ALDH와 CYP2E1 모두에서 결과를 얻은 경우는 13예였으며, 이들 간의 유전자 분포는 Table 3과 같다. 두 유전자 모두 homozygote인 경우는 발견되지 않았다.

고 찰

알콜 대사에 대한 반응은 개인차가 아주 크다. 알콜은 위나 소장의 윗부분에서 흡수되어 혈류를 통해 간에 존재하는 알콜분해효소에 의해 대사된다 (Nelson *et al.*,

Table 2. ALDH and CYP2E1 single nucleotide polymorphism distribution.

No.	ALDH	CYP2E1	
		Pst I	Rsa I
1	WT	WT	WT
2	WT	N/A	Heterozygote
3	WT	Heterozygote	Heterozygote
4	WT	Heterozygote	Heterozygote
5	Homozygote	WT	WT
6	WT	WT	WT
7	WT	WT	WT
8	N/A	Heterozygote	Heterozygote
9	Heterozygote	Homozygote	Homozygote
10	Heterozygote	WT	WT
11	Homozygote	WT	WT
12	Heterozygote	Heterozygote	Heterozygote
13	Heterozygote	WT	WT
14	N/A	WT	WT
15	N/A	Heterozygote	Heterozygote
16	N/A	Heterozygote	Heterozygote
17	Heterozygote	Heterozygote	Heterozygote
18	N/A	Heterozygote	Heterozygote
19	Heterozygote	WT	WT

Table 3. Relationship of ALDH and CYP2E1 polymorphism.

ALDH	CYP2E1			Total (%)
	WT	Heterozygote	Homozygote	
WT	3	3	-	6 (42.9)
Heterozygote	3	2	1	6 (42.9)
Homozygote	2	-	-	2 (14.3)
Total (%)	8 (57.1)	5 (35.7)	1(7.1)	14 (100)

2000). 알콜 분해 효소의 유무와 다소의 차이에 따라 대사속도가 다르고, 효소가 부족할 경우에 체내에 아세트알데히드가 축적되어 얼굴이 붉어지고 맥박이 빨라지며, 복부에 이상 감각이 오고, 구토가 나기도 한다 (Mizoi *et al.*, 1994; Shibuya *et al.*, 1989). 외국의 경우 알콜성 간질환 환자들의 ALDH 유전자 분포를 조사한 연구보고를 보면, 알콜성 간질환 환자들의 대부분이 정상 ALDH 유전자를 가지고 있고, 일부 약 15% 정도만이 정상, 비정상 유전자 하나씩을 가지는 heterozygote였다 (Takada *et al.*, 1994; Tanaka *et al.*, 1996). 그럼에도 불구하고 정상 ALDH 유전자를 가지고 있는 사람은 음주 후 얼굴이 붉어지지 않고 거부감을 느끼지 않아 오히려 알콜을 더 많이 섭취하게 됨으로써 결국은 알콜성 간질환을 초래하는 반면에 ALDH 유전자에 homozygote mutation을 가진 사람은 술을 조금만 마셔도 얼굴이 붉어지고, 구역질이 나는 등 거부반응이 나타나서 상대적으로 덜 마시게 되므로 결국은 알콜성 간질환에 걸리는 빈도가 낮다는 보고가 있다 (Suwaki *et al.*, 1985).

본 연구에서는 알콜섭취에 어려움이 있다고 생각하는 지원자를 대상으로 하여 지원자의 수가 통계적으로 유의성있는 숫자를 확보하는 데 어려움이 있었다. 본 연구 결과 ALDH의 homozygote mutant로 나타난 예의 경우는 사전실문조사와 동일하게 실제로 거의 술을 마시지 못할 뿐만 아니라 소량의 알콜이 섭취되더라도 안면에 홍조를 띄고 숙취에 시달리는 것으로 파악되었다(data not shown). ALDH의 돌연변이 분포에 있어서는 일본인의 경우 약 23.6%, 중국인은 약 15.9%로 나타났다 (Chen *et al.*, 1992; Enomoto *et al.*, 1991; Goedde *et al.*, 1986; Goedde *et al.*, 1992; Kawaguchi *et al.*, 1992; Noboradovsky *et al.*, 1995; O'dowd *et al.*, 1990; Shibuya *et al.*, 1988). 반면에 북아시아인, 미국인, 호주인 그리고 오세아니아인에서는 드물거나 이제 존재하지 않았다 (Chen *et al.*, 1992; Goedde *et al.*, 1986; Goedde *et al.*, 1989; Goedde *et al.*, 1992; Kawaguchi *et al.*, 1992; Noboradovsky *et al.*, 1995; O'dowd *et al.*, 1990; Shibuya *et al.*, 1988). 또한 CYP2E1의 돌연변이의 분포에 있어서는 중국인 약 23.4% (Chao *et al.*, 1995), 일본인 약 19.3% (Umeno *et al.*, 1988), 스웨덴인 약 5% 정도로 나타났다 (Persson *et al.*, 1993). 이와 같이 ALDH와 CYP2E1의 분포는 인종간의 편차를 보였다. 서양인보다 동양인에 있어서 더 많은 mutant의 비율이 존재함을 알 수 있었다. 본 연구에서 ALDH의 mutation 비율이 보고된 수치에 비하여 높게 나타난 이유는 연구에 참여한 숫자가 유의성있는 결과를 얻을 수 있을 정도로 크지 않았으며, 실제 mutation이 의심되는 사람이 실제로 지원한 경우가 많았기 때문으로 생각된다. ALDH와 CYP2E1의 SNP 연관성을 비교하였을 때, ALDH가 wild type인 경우 음주량이 많을 수 있으며, ALDH가 heterozygote인 경우에는 CYP2E1이 wild type인 경우보다 mutation이 있는 경우 음주량이 많을 수 있다고 보고되었다 (Lee *et al.*, 1997). 본 연구의 경우 이러한 예는 14예중 8예로서 57.1%에 해당되었다(Table 3). CYP2E1의 SNP와 임상소견과의 연관관계를 밝히기 위한 연구가 시도되었지만, 아직은 뚜렷한 연관성을 밝혀지 못하고 논쟁중에 있다.

SNP는 개인과 개인간의 DNA에 존재하는 한 염기쌍의 차이로 DNA sequence 다형성 중에서 가장 많이 존재하는 형태이다. 특히 암, 심장병, 정신병과 같은 여러 질병과 관련된 유전자를 발견하는데 genome 전체에 걸쳐서 약 50만개의 SNP가 필요할 것으로 알려져 있다 (Kwok *et al.*, 1999; Kwok *et al.*, 2003). 이를 위하여 미국을 비롯한 세계 각국의 기관을 중심으로 많은 연구가 진행되고 있다. 이미 선진국의 유수 제약회사나 연구기관들은 그들이 많이 가지고 있는 심장병, 치매, AIDS 등의 질병에 대한 비교대상 (환자의 DNA 및 임상자료)을 확보하고, SNP와 특정 질환과의 관련성을 연구, 진행 중에

있으며 (Klotzko, 2000; Lazarus *et al.*, 2002), 이에 대한 유전자 특히 확보에 심혈을 기울이고 있는 상황이다. SNP의 기능을 규명하는 것은 질병을 이해하고 예방하며 치료하는 방법에 거대한 변화를 일으킬 것이다. 건강한 사람과 질환을 가지고 있는 사람 간의 수많은 SNP의 차이가 연구되고 있고, 이는 질병에 대한 유전적 소양을 이해하는데 큰 도움이 될 것이며 유전자진단이 가능하게 하여 질병의 예방에 획기적인 정보를 제공할 것으로 기대되고 있다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부의 보건과학기술개발사업(A020100)의 지원으로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Burton, H. and Stewart, A.: From Mendel to the Human Genome Project: the implications for nurse education. *Nurse Educ. Today* **23**:380-385, 2003.
- Chao, Y.-C., Young, T.-H., Chang, W.-K., Tang, H.-S. and Hsu, C.-T.: An investigation of whether polymorphisms of cytochrome P450 2E1 are genetic markers of susceptibility to alcoholic end-stage organ damage in a Chinese population. *Hepatology* **22**:1409-1414, 1995.
- Chen, S.-H., Zhang, M. and Scott, C.R.: Gene frequencies of alcohol dehydrogenase2 and aldehyde dehydrogenase2 in Northwest Coast Amerindians. *Hum. Genet.* **89**:351-352, 1992.
- Ellegren, H., Smith, N.G and Webster, M.T.: Mutation rate variation in the mammalian genome. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **13**:562-568, 2003.
- Enomoto, N., Takada, A. and Data, T.: Genotyping of the aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) gene using the polymerase chain reaction: Evidence for the single point mutation in the ALDH2 gene of ALDH2-deficiency. *Gastroenterol Jpn.* **26**:440-447, 1991.
- Goedde, H.W., Agarwal, D.P., Fritze, G., Meier-Takmann, D., Singh, S., Beckmann, G., Bhateja, K. and Chen, L.Z.: Distribution of ADH2 and ALDH2 genotypes in different populations. *Hum. Genet.* **88**:344-346, 1992.
- Goedde, H.W., Agarwal, D.P., Harada, S., Rothhammer, F., Whittaker, J.O. and Lisker, R.: Aldehyde dehydrogenase polymorphism in North American, South American, and Mexican Indian populations. *Am. J. Hum. Genet.* **38**:395-399, 1986.
- Goedde, H.W., Singh, S., Agarwal, D.P., Fritze, G., Stapel, K. and Paik, Y.K.: Genotyping of mitochondrial aldehyde dehydrogenase in blood samples using allele-specific oligonucleotides: Comparison with phenotyping in hair roots. *Hum. Genet.* **81**:305-307, 1989.
- Hsu, L.C., Tani, K., Fujiyoshi, T. and Yoshida, A.: Cloning of cDNAs for human aldehyde dehydrogenases 1 and 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**:3771-3772, 1985.
- Kawaguchi, R., Mukaide, M., Hikiji, K. and Matsunaga, T.: A non-radioactive method for the detection of a common mutant allele of aldehyde dehydrogenase 2. *Mol. Gen. Probes* **6**:349-352, 1992.
- Klotzko, A.J.: SNPs of disease. *Sci. Am.* **282**:28, 2000.
- Kwok, P.Y. and Chen, X.: Detection of single nucleotide polymorphisms. *Curr. Issues Mol. Biol.* **5**:43-60, 2003.
- Kwok, P.Y. and Gu, Z.: Single nucleotide polymorphism libraries. *Mol. Med. Today* **5**:538-543, 1999.
- Lazarus, R., Vercelli, D., Palmer, L.J., Klimecki, W.J., Silverman, E.K., Richter, B., Riva, A., Ramoni, M., Martinez, F.D., Weiss, S.T. and Kwiatkowski, D.J.: Single nucleotide polymorphisms in innate immunity genes: abundant variation and potential role in complex human disease. *Immunol. Rev.* **190**:9-25, 2002.
- Lee, K.-H., Kwak, B.-Y., Kim, J.-H., Yoo, S.-K., Yum, S.-K. and Jeong, H.-S.: Genetic polymorphism of cytochrome P-4502E1 and mitochondrial aldehyde dehydrogenase in a Korean population. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **21**:953-956, 1997.
- Meyerson, M.: Human genetic variation and disease. *Lancet.* **362**:259-260, 2003.
- Mizoi, Y., Yamamoto, K., Ueno, Y., Fukunaga, T. and Harada, S.: Involvement of genetic polymorphism of alcohol and aldehyde dehydrogenases in individual variation of alcohol metabolism. *Alcohol Alcohol.* **29**:707-710, 1994.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M.: *Lehninger Principles of biochemistry*, 3rd ed., pp 598-622. worth publishers, New York, 2000.
- Novoradovsky, A., Tsai, S.L., Goldfarb, L., Peterson, R., Long, J.C. and Goldman, D.: Mitochondrial aldehyde dehydrogenase polymorphism in Asian and American Indian populations: Detection of new ALDH2 alleles. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **19**:1105-1110, 1995.
- O'Dowd, B.F., Rothhammer, F. and Israel, Y.: Genotyping of mitochondrial aldehyde dehydrogenase locus of native South American Indians. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **14**:531-533, 1990.
- Persson, I., Johansson, I., Berging, H. and Dahl, M.-L.: Genetic polymorphism of cytochrome P450 2E1 in Swedish population. *FEBS Lett.* **319**:207-211, 1993.
- Prince, J.A., Feuk, L., Gu, H.F., Johansson, B., Gatz, M., Blennow, K., Brookes, A.J.: Genetic variation in a haplotype block spanning IDE influences Alzheimer disease. *Hum. Mutat.* **22**:363-371, 2003.
- Rosand, J. and Altshuler, D.: Human genome sequence variation and the search for genes influencing Stroke. *Stroke* **34**:2512-2516, 2003.
- Shibuya, A., Yasunami, M. and Yoshida, A.: Genotype of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase loci in Japanese alcohol flushers and non-flushers. *Hum. Genet.* **82**:14-16, 1989.
- Shibuya, A. and Yoshida, A.: Frequency of the atypical aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) in Japanese and Caucasians. *Am. J. Hum. Genet.* **43**:741-743, 1988.
- Suwaki, H. and Ohara, H.: Alcohol-induced facial flushing and drinking behavior in Japanese men. *J. Stud. Alcohol.*

- 46:196-198, 1985.
- Takada, A., Tsutsumi, M. and Kobayashi, Y.: Genotype of ALDH2 related to liver and pulmonary diseases and other genetic factors related to alcoholic liver disease. *Alcohol* **29**:719-724, 1994.
- Tanaka, F., Shiratori, Y., Yokosuka, O., Imazeki, F., Tsukada, Y. and Omata, M.: High incidence of ADH2*1/ALDH2*1 genes among Japanese alcohol dependents and patients with alcoholic liver disease. *Hepatology* **23**:234-239, 1996.
- Umeno, M., McBride, O.W., Yang, C.S., Gelboin, H.V. and Gonzalez, F.J.: Human ethanol-inducible P450IIIE1: Complete gene sequence, promoter characterization, chromosome mapping and cDNA-directed expression. *Biochemistry* **27**: 9006-9013, 1988.