Osaka University Knowledge Archive

Title	両端末cDNAライブラリーの作製とその解析
Author(s)	的場, 亮
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3065776
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【27】

氏　　名	的場　亮（まとば　りょう）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　10605　号
学位授与年月日	平成5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生理学専攻
学位論文名	**両末端cDNAライブラリーの作製とその解析**
論文審査委員	（主査） 教　授　松原　謙一 （副査） 教　授　小川　英行　　教　授　森田　敏照

論文内容の要旨

これまでに数千クローンの3'-directed cDNAライブラリーのシークエンスを決定し解析した結果，mRNA 3'側はアミノ酸としての情報量は少ないがユニークであるので遺伝子の分類・同定と発現量の定量が容易にできることがわかった。一方，mRNAの5'側は様々な機能的情報を含んでいると考えられ，情報量の濃い領域である。よって，未知のcDNAクローンに対する機能的予測ができる。5'側と3'側の両方の特徴を持つcDNAの代表は全長cDNAであるが，全長cDNAをシークエンスするためには，PCR法でテンプレートを増幅させる方法が適用できないので，一旦，大腸菌で増やしDNAを調製しなければならない。そこでもっと簡単にシークエンスができる，5'側と3'側の両方の特徴を活かしたcDNAライブラリーを作成し，その解析を行った。まず，全長cDNAライブラリーを作成し，それをMboI（GATC）で切り，cDNAの真ん中の部分を取り除き（このときベクターの部分はメチレーションによって保護されており切れない），セルフライゲーションしてこの両末端cDNAライブラリーを作成した。PCRダイレクトシークエンス法を用いてこの両末端cDNAライブラリーの塩基配列を決定しその解析を行った。その結果，作成した両末端cDNAライブラリーの中で約4割のクローンがmRNAの5'末端と3'末端の両末端を持ち，真ん中の部分の抜けおちた期待どおりのcDNAであった。この4割という効率はランダムシークエンスを行ない解析するうえで有用な値であると考えられる。この効率を上げるためには質の良い全長cDNAライブラリーを作ることが望まれる。既存のDNAデータベースに対して同定されなかった未知のクローンをアミノ酸に翻訳し，タンパク質データベースに対するホモロジーサーチやモチーフ検索，ハイドロパシー解析などを行うことによって，いくつかのクローンについてその機能を予測することができた。さらに3'-directed cDNAsと比較することにより，その細胞での発現頻度情報を得ることができた。このように，両末端cDNAライブラリーは未知のクローンに対して様々な機能的予測のアプローチができるが，その中でも特に有用なものはORF検索を行うことによって，どのフレームでその塩基配列がアミノ酸に翻訳されているのかを予測し，タンパク質のN末端情報を得ることである。この領域は，シグナルペプチドなどのそのタンパク質の性質を表す重要な情報を含んでいると考えられる。さらにその細胞でのタンパク質N末端カタログも作ることができる。また，同一遺伝子の5'側と3'側の両方のシークエンス情報が得られれば，未知のゲノムのシークエンスデータを比較することにより，その遺伝子の頭と尻尾の位置を決定することができる。

以上のように，この両末端cDNAライブラリーの解析は今後の遺伝子・ゲノムの解析を行う上で重要な情報を与

えてくれるだろう。

論文審査の結果の要旨

本研究は，大量のcDNAを迅速に解析するために適した，遺伝子のタンパク質のN末端情報を持つ5’側，および細胞中での発現頻度情報を持つ3’側の両方の特徴を兼ね備えた両末端cDNAライブラリーの作成とその解析を提案し，実行したものである。今後のゲノム解析に有用であり，本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。