



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	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	栗 場 亮
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ケ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 をシーケンスするためには, 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ケンスができる, 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 ダイレクトシーケ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ケ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' 側の両方のシーケンス情報が得られれば, 未知のゲノムのシーケ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。