Osaka University Knowledge Archive

Title	制限酵素マーカーによるゲノムの2次元DNAフィンガープリント法
Author(s)	畑田, 出穂
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1889
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【18】

氏名・（本籍）	畑田出穂（はただいずほ）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 9055 号
学位授与の日付	平成2年3月24日
学位授与の要件	理学研究科生理学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Two-dimensional genomic DNA fingerprinting method using restriction enzyme recognition sites as landmarks on the genome （制限酵素マーカーによるゲノムの2次元ＤＮＡフィンガープリント法）
論文審査委員	（主査） 教授 松原 謙一 （副査） 教授 谷口 維紹　教授 小川 英行

論文内容の要旨

ゲノムＤＮＡの変化（変異，修飾）を全体的に把握することは，高等生物においてはゲノムサイズが大きいため非常に困難である。この変化の同定の限界は，使用できるプローブ（マーカー）の数と，ゲノムＤＮＡの制限酵素断片をどの程度分離できるかということによって規定される。しかし現状では用い得るプローブの数に限りがあることと，一般にＤＮＡ断片の分離は１次元サザンブロットという分離能の低い技術を用いているので，得ることの出来る情報は少ない。そこで著者は，制限酵素の認識部位をマーカーとして用いる事によりマーカーの数を無限に増やすことと，２次元電気泳動を行うことによりゲノムＤＮＡの分離能を上げることとによって，高等生物のゲノムＤＮＡの変化を全体的に把握するのに十分な情報を容易に得ることの出来る新しい技術を開発した。本法の概要は以下の５ステップからなる。(1)ゲノムＤＮＡを８塩基認識の制限酵素のように出現頻度の少ない制限酵素（例えばNot Ｉ）で消化後，末端標識する。(2)６塩基認識の制限酵素で消化する。(3)アガロースゲルを用いて１次元目の電気泳動を行う。(4)４塩基認識の制限酵素を用いてアガロースゲル中でＤＮＡを消化する。(5)アクリルアミドゲルを用いて２次元目の電気泳動を行い，そのオートラジオグラフィーをとりスポットを検出する。この様な手技をとったため本法は次のような利点を持つ。(a)スポットの濃さがコピー数に比例するので均一な濃さのスポットが得られる。(b)ＤＮＡを直接検出しているのでスポットが鮮明である。(c)プローブが要らないので全ての生物に適用できる。(d)標識する制限酵素をかえることによりマーカーを増やし，精度を上げることができる。(e)スポットの分離能がよい。なお標識する制限酵素認識部位としてNot Ｉを選んだ場合はさらに，(f)NotI認識部位は９０％が遺伝子に存在するので効率よく遺伝子のみの情報が得られるという利点も持つ。著者は本法を用いて神経芽細胞腫におけるＤＮＡの増幅，マウスの亜種間における多型とそのＦ１における多

型の挙動を検出することが出来た。さらに著者は以下のような目的に本法が有用であると考える。(I)癌を正常部と比べゲノムにおけるＤＮＡの変化（欠失，増幅など）を検出する。(II)欠失の範囲の大きいミュータント，遺伝病の原因遺伝子をクローニングする。(III)分化，老化，発生におけるゲノムの変化（特に修飾）を検出する。

論文の審査結果の要旨

ＤＮＡの分析に関する全く新しいコンセプトを導入し，それに基いて二次元電気泳動法を完成させた。生物学におけるＤＮＡ分析の重要性は日々新たなものがあるが，この新しい分析法の完成により，これからの関連分野の研究は少なからぬ影響を受けるものと考えられる。実際に，この分析法を適用して，がん等に伴う遺伝子系の変化や，種差の発見，メチル化の伴う老化現象の解析への貢献などの可能性を既に示しており，博士論文としての価値を充分に見えているものと考えられた。