



Title	Systematic analysis of the expression profiles of brain-specific genes (cDNA) by a high-density cDNA filter method
Author(s)	高橋, 信明
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39067
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	高橋信明
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第11737号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	Systematic analysis of the expression profiles of brain-specific genes (cDNA) by a high-density cDNA filter method (高密度cDNAフィルター法によるヒト脳特異的遺伝子(cDNA)の発現様式の系統的解析)
論文審査委員	(主査) 教授 畠中 寛 (副査) 教授 吉川 和明 教授 小倉 明彦 東京大学医科学研究所教授 柿 佳之

論文内容の要旨

脳では、約30,000種の遺伝子が発現していると言われているが、現在でもそのほとんどが未知である。脳の機能や構造を知るために、脳で特異的、もしくは多く発現する遺伝子を系統的にリストアップし、特徴を調べることが重要であると考えた。そこで、多数の脳で発現する遺伝子(cDNA)を集め、高密度にナイロンメンブラン上にスポットし、いろいろな組織や株細胞より抽出したmRNAを基に作成したcDNAプローブでハイブリダイゼーションを行い、放射活性を比較することにより、それぞれの遺伝子(cDNA)の発現情報を集め、興味深いものについて解析を行うことにした。

ヒト大脳皮質cDNAライブラリーから68種の重複クローンを除外し、約8,300のクローンを得た。このクローンを基に、高密度cDNAフィルターを作成し、解析を行った。ヒトの成人脳と肝臓もしくは腎臓、成人脳と胎児脳を比較し、成人脳、胎児脳で発現が高いクローンを約300選び、部分塩基配列を決定した。GenBankで既知の遺伝子との相同性を調べた結果、約100クローンが未知で、約200クローン(100種)が既知であった。これらの既知、未知、あわせて200種のクローンで再度、高密度cDNAフィルターを作成し、さらに解析を行った。ヒト神経芽細胞由来の細胞株のLAN-5、SH-SY5Y、ヒト神経膠腫由来の細胞株U251、ヒト全脳、小脳、大脳皮質、腎臓、肝臓におけるそれぞれのクローンの発現を調べた。この解析結果を基にして以下の基準でクローンを選択し解析を行った。(1) LAN-5、SH-SY5Yでの発現がU251と較べ高いもの(11クローン)。(2)ヒト全脳での発現が、ヒト腎臓、肝臓に較べ高いもの(10クローン)。(3)U251での発現が、LAN-5、SH-SY5Yと較べ高いもの(3クローン)。(4)大脳皮質での発現が、小脳に較べ高いもの(3クローン)。選択したクローンについては、RT-PCRにより発現の有無を調べ、特に特異性の高いものについてさらに解析することにした。(1)、(2)で選んだクローンの中では、特異性が高いクローンが7つあった。(3)で選んだ全てのクローンの中には、非常に高い特異性を示すものはなかった。(4)で選んだもののうち、1クローンは大脳皮質に高い特異性を示した。

選ばれた8クローンについて、cDNAの塩基配列を決定し、GenBankで既知の遺伝子との相同性を調べた。このうちの2つは、ラットの神経系で働く遺伝子SCG10、RC3の相同体で、その発現は、高密度cDNAフィルターでの解析結果と一致した。2つの未知クローンについては、5' RACE法により残る5'側の全てが得られたので塩基配列の決定を行いGenBankで既知の遺伝子との相同性を調べた。その結果、1つはマウスのM6遺伝子と相同性が見られた。残る1つは全く未知の遺伝子であった。この未知の遺伝子についてさらに詳細な解析を行った。

以上、高密度 cDNA フィルターを用いた解析により、未知の遺伝子の発現様式を簡単に知ることができることが解かった。このような解析を続けることにより、脳の機能について解明する手掛かりが得られると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、高密度 cDNA フィルターを用いて、ヒト脳特異的遺伝子の発現様式を系統的に解析したものであり、8,300のクローンを扱い、解析を行った結果、未知の主としてニューロンに発現する遺伝子を得ることに成功した。

以上のように、ヒト脳における遺伝子解析について、新しい知見を得ており、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。