

Title	Chromosomal Assignments of 3'-Directed Partial cDNA Sequences Representing Novel Genes Expressed in Granulocytoid Cells
Author(s)	村川, 克二
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39325
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	むら かわ かつ じ 村 川 克 二
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 6 3 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 1 月 1 1 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Chromosomal Assignments of 3' - Directed Partial cDNA Sequences Representing Novel Genes Expressed in Granulocytoid Cells (好中球様細胞中に発現している遺伝子の3'末端部分 cDNA クローンの染色体へのマッピング)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 原 謙 一 (副査) 教 授 島 田 和 典 教 授 田 中 亀 代 次

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

全遺伝子の塩基配列とそのゲノム上における配置は生命現象を全体として理解するために不可欠な情報である。近年の DNA シーケンサをはじめとする塩基配列解析技術の進歩により cDNA 断片の大規模な塩基配列解析が可能になり、なかでも3'末端部分のヒト cDNA クローンの大量かつ系統的な解析は、遺伝子の各臓器・組織における発現の状態を明らかにしつつある。本論文は、この3'末端部分ヒト cDNA クローンがもとの遺伝子と一対一の関係を持つマッピングに適した材料であることに注目し、この cDNA クローンの染色体への大量マッピングの方法を確立し、遺伝子のゲノムにおける分布を調べ、さらに遺伝子の発現や機能との関係を探ることを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

前骨髄性白血病由来細胞 HL60 をジメチルスルホキシドで刺激して得られた好中球様細胞から平均長260塩基の3'末端部分 cDNA ライブラリーを調製し、約1000クローンについて塩基配列解析を行った。得られた cDNA 塩基配列の相同性を調べ、分類した後、DNA データベース中に類似配列の登録がなく新奇遺伝子と考えられる714クローンから任意の195クローンを選択し、PCR (Polymerase Chain Reaction) 用プライマー組を設計、合成した。プライマーの長さは20 - 24mer、解離温度 T_m の範囲は38 - 53℃、プライマー間およびプライマー内の相補塩基対は最大3塩基、PCR 産物の平均長は約90塩基である。PCR プライマーの設計にはオリゴヌクレオチド設計支援ソフトOLIGOを使用し、その運用を含めたデータ処理はコンピュータを用いて自動化した。各ヒト染色体一本を含むマウスまたはチャイニーズハムスター雑種細胞 DNA を鋳型 DNA として PCR を行った。PCR 産物の検出は、大量処理に必要な操作性とゲノム DNA 鋳型にした PCR における少ない増幅産物量を考慮し、非変性ポリアクリルアミドゲル中で電気泳動分離した後、エチジウム染色を行い、高感度な蛍光イメージアナライザー (FMBIO) で検出する方法を考案した。染色体の番号は期待される増幅産物の有無により決定した。

染色体マッピングの結果は以下のとおりである。191クローンについてヒトゲノム DNA を鋳型とするコントロール反応において設計長どおりの増幅産物が得られ、プライマーの動作が確認できた。うち155クローンについては染色

体に同定できた。各染色体にマップされた cDNA クローンの数は染色体1から22, X, Yの順に21 (6), 19 (8), 14 (6), 8 (3), 9 (4), 12 (5), 5 (1), 5 (4), 8 (4), 7 (5), 9 (3), 12 (6), 10 (3), 6 (3), 6 (5), 8 (4), 16 (7), 3 (3), 7 (4), 14 (6), 3 (1), 11 (7), 8 (4), 3 (3) (括弧内は複数の染色体にマップされたクローン数を示す) であった。単一の染色体にマップされたものの総数は119クローンである。また, 34クローン (18%) については, 雑種細胞のバックグラウンドである, マウスまたはチャイニーズハムスターのゲノム DNA からヒトと同一長の PCR 産物が得られ, これら種間における遺伝子の3'末端領域の保存の程度が示された。複数の染色体にマップされたクローンは各臓器・組織における発現のレベルが高い傾向にあった。また, 単一の染色体にマップされたクローンと複数の染色体にマップされたクローンの発現頻度の比は各臓器・組織毎に異なり, 未分化の細胞ほど複数の染色体にマップされたクローンの発現頻度が高いことがわかった。したがって, 複数の染色体上にある遺伝子は, 細胞の基礎的な機能に関与している可能性が高い。

[総括]

ゲノムプロジェクトにおける大規模解析に適した PCR を用いたヒト cDNA の染色体マッピングの方法を確立し, 155の遺伝子の位置する染色体を決定した。その結果, ゲノム上の遺伝子の分布は均一でなく, 特に染色体17, 20および22番の遺伝子密度が平均の2倍以上高いことを見出した。複数の染色体にマップされた遺伝子は多数の臓器・組織において発現頻度が高い遺伝子である場合が多く, 遺伝子の分布と機能には相関があることが明らかとなった。また, 設計したプライマー組の97%は期待される長さの増幅産物を与えたことから, イントロンが遺伝子の3'末端領域に存在する確率が非常に低いことが判明した。

論文審査の結果の要旨

本論文はゲノムプロジェクトにおける大規模解析に適した PCR によるヒト cDNA の染色体マッピングの方法を確立し, 155の遺伝子の位置する染色体を決定したものである。その結果, ゲノム上の遺伝子の分布は不均一であることを見出し, また複数の染色体にマップされた遺伝子は多数の臓器・組織において発現頻度が高く, 遺伝子の分布と機能には相関があることを明らかにしている。さらに, イントロンが遺伝子の3'末端領域に存在する確率は非常に低いことを示したものである。

以上の論文内容は, ゲノム解析における新しい方法及び知見を見出したものであり, 学位授与に値するものと認める。