



Title	An Expression Profile of Active Genes in Human Lung
Author(s)	伊藤, 孝一
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39859
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	伊藤孝一
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第12352号
学位授与年月日	平成8年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	An Expression Profile of Active Genes in Human Lung (肺における遺伝子発現の総括的把握)
論文審査委員	(主査) 教授 松原謙一 (副査) 教授 濱田博司 教授 田中亀代次

論文内容の要旨

〔目的〕

我々のプロジェクトは、ヒト各種細胞、臓器より作製したmRNAの構成を忠実に反映したクローン構成を持ち、それぞれのcDNAの3'末端の数百塩基のみを含んだライブラリーから無作為にcDNAの塩基配列を決定して、1) 各種細胞臓器における遺伝子発現の全貌(Expression Profile)をつかむ、2) 相互に比較することで細胞、臓器特異的な遺伝子を収集する、(Body Mapping) 3) 細胞、臓器特異的な遺伝子の完全長の塩基配列を決定することから成り立っている。この流れに則って、ヒト肺のExpression Profileを作製し、遺伝子発現の全体像を把握する事を目的とした。

〔方法ならびに成績〕

dam+の大腸菌内で増幅したプラスミドpUC19を基に作製したベクタープライマーから、岡山らの方法によって合成したcDNAをそのままニックトランスレーションで二本鎖DNAとする。次いでcDNAのみをdam感受性の4塩基切断酵素Mbo Iで切断する。ベクターはMbo Iと対合末端をつくるBam H Iで切断し、大希釈下でトランスマッピングを得る。インサートのサイズは平均270bp程度と短く、このために、単純にインサートの長さから生じるcDNA合成効率の差やトランスマッピング効率の差から生じるバイアスも除かれて、ライブラリーは、mRNA構成を忠実に反映するものとなった。次にインサートの両端のベクター配列内にプライマーを設計し、PCRにてインサートを増幅した。このPCR産物をテンプレートとし、塩基配列を決定した。以上のようにヒト各種細胞、臓器より無作為に1000クローンの塩基配列を決定し、これらを発現頻度順に並べることにより、どのような遺伝子がどの程度発現しているのか知ることができ、またこれらのリストを相互に比較することで、いかなる遺伝子が細胞、臓器特異的に発現しているのかも、同時に知ることができる。

肺から合計して797クローンの塩基配列を決定し、このうち302クローンはGenBankにて同定された。最も発現頻度の高かった遺伝子は順にPulmonary surfactant apoprotein (PSP-A), lung Clara cells 10-kDa secretory protein, HLA-E heavy chain等であった。このうち前二者は肺に特異的に発現していた。

またGenBankで同定された172種類の遺伝子(302クローン)を機能、局在によって分類した。その結果、肺においては分泌蛋白の転写物が高頻度に発現していることがわかった。そのうちPulmonary surfactant apoprotein (PSP-A), lung Clara cells 10-kDa secretory proteinが大部分を占めた。また、細胞表面膜蛋白の転写物も高頻

度に発現していることがわかった。

[総括]

本研究によって、肺にどのような遺伝子がどの程度発現しているのか、また肺に特異的に発現しているのはどのような遺伝子かを知ることができた。その結果、肺における遺伝子発現の状況を大枠みに把握することができた。以上のように遺伝子のレベルで全体像を把握することは、現状では我々の方法でしか可能ではないであろう。今後はこの有効な観測法を用いて、さらに興味深い様々な細胞、臓器、例えば神経系の細胞等の遺伝子発現状況の解析、及びそれらに特異的な未知の遺伝子の解析を進めて行く。

論文審査の結果の要旨

本研究は、人の肺とはいかななる機能を担っているか、遺伝子のレベルから観測したものである。その結果、肺とは単に酸素一二酸化炭素のガス交換の場というのではなく、非常に活発に pulmonary surfactant apoprotein (P S A P) をはじめとする分泌蛋白、あるいは様々な細胞表面膜蛋白の遺伝子を転写していることがわかった。また、この観測法を活用して既知、未知に関わらず、肺に特異的に発現している遺伝子を同定した。これらの結果は肺におけるあらゆる研究に対し有用な基盤を与えるのみならず、この観測法を活用することで、今後も様々な細胞、臓器における遺伝子発現の全体像を把握し、かつそれらに特異的に発現している遺伝子を同定し得ることを示唆した。以上により、本研究は学位授与に値する。