OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	時間的および空間的な遺伝子発現様式の大量解析による神経関連遺伝子1000個の機能分類
Author(s)	北, 浩子
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41594
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	北（きた） 浩子（ひろこ）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 14422 号
学位授与年月日	平成11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	**時間的および空間的な遺伝子発現様式の大量解析による神経関連遺伝子1000個の機能分類**
論文審査委員	（主査） 教授 近藤 寿人 （副査） 教授 安永 照雄　教授 吉川 和明　助教授 大久保公策

論文内容の要旨

脊椎動物の中枢神経系における発生過程には，遺伝的プログラムに基づく過程と神経の電気的活動に基づく過程の2種類が知られているが，その大部分は神経の電気的活動とは無関係な遺伝的プログラムに従うことが分かってきている。一方，各遺伝子はその遺伝的プログラムに基づいて，その機能を果たすべく，場所，時，刺激に応じて細かく決められた固有の発現を行っている。ある生命現象とco-localizeする発現パターンはその現象に関与している可能性が高く，発現パターンを共有する遺伝子群は目的を共有していることが期待される。そこで本研究では，今までは個々にしか解析されていなかった中枢神経系の発生過程における遺伝子の発現パターンを大量に，しかも詳細に調べて互いを比較し，発現パターンの共通する遺伝子群を探した。これはすなわち同じ現象に関与する機能的集団を探し出し，未知遺伝子の機能をその発現パターンで予測することを目的としている。

遺伝子発現の測定には，本研究で確立した高感度RT-PCR法を用いた。合成した臓器別cDNAを制限酵素で切断し，その断片に付加させたアダプターに共通の蛍光プライマーと遺伝子特異的プライマーとでPCR増幅し，その蛍光を測定する方法である。一本のチューブに付加アダプターの長さが違う5種類のcDNAライブラリを等量ずつ混合してPCR増幅するため，1反応で増幅される産物は5種類になり，その量比が各々のcDNAライブラリ間におけるその遺伝子の発現量の相対比を表すことになる。

具体的にはこれまでのEST収集を通じて得た約16792種の登録遺伝子から脳に発現の偏った遺伝子約1000（未知遺伝子約800）と，コントロールとしてハウスキーピング遺伝子20について(1) 脳とその他の臓器4種，(2) 脳の各部位，(3) 胎仔脳3点と生後脳6点の時間軸の合計19点での相対的な発現量を測定し，965遺伝子についての詳細な発現情報が得られた。

経時的な遺伝子発現データをもとに解析した場合，965遺伝子は発現パターンの特性からそれぞれ，胎生期Ⅰ型，胎生期Ⅱ型，周産期型，生後Ⅰ型，生後Ⅱ型，生後Ⅲ型，定常型の7種類の型に分類された。それぞれの型に属する既知遺伝子の機能から各群の主な機能の推定ができ，同じ群に属する遺伝子は同じ様な機能を有していることが示された。しかしこのことはその群に属するすべての遺伝子に当てはまるわけではなく，30～50%の例外も存在した。

全ての遺伝子発現データをもとに，より厳しい条件で解析をした場合，965遺伝子は307種類の型に分類された。大部分の遺伝子群は未知遺伝子から構成されていて機能の予測がつかなかったが，極めて類似性の高い発現パターンを持つ遺伝子群も検出できた。既知遺伝子の含まれる例では，ミエリン構造タンパク質のMBPとPLPと未知遺伝子

1つが同じ群であったり，シナプス小胞蛋白質 VAMP2 とsynaptophysin と未知遺伝子 2 つが同じ群となっていたりと同じ場所で同じ働きをしている遺伝子が一つの群になっていたことから，その群に属する未知遺伝子も同じ機能を有している可能性が極めて高いと考えられる。以上のことから遺伝子発現を詳細に測定し，厳しく解析すればするほど各遺伝子の機能により迫れることが分かった。

論文審査の結果の要旨

動物の発生を調節したり，完成した臓器の機能を発揮するためには，個々の遺伝子が個別に作働するのではなく，機能的に関連した一群の遺伝子が相呼応して発現され，協同的に作用することが必要である。

申請者は，機能的に関連した遺伝子の発現は発生の時間的経過や組織分布において強い相関を示すことを予想し，そのことをもとに多数の遺伝子を機能群としてグループ化することを目指した。申請者は，EST データベース「マウス Bodymap」に登録された cDNA 塩基配列1000個を選んで，それらに対応する mRNA がどのような発現パターンを示すかを定量的に分析する方法を工夫し，また，そのデータを多次元空間上の点と見なして発現パターンをグループ化する方法を案出し，それらを脳の発生に適用して方法の妥当性を示した。

本研究は，発現パターンから遺伝子の機能群を予測する新たな方法を提案したものであり，博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。