



Title	マウス小脳顆粒細胞の分化における遺伝子発現プロファイル解析と大規模遺伝子機能解析
Author(s)	齋藤, さかえ
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46057">https://hdl.handle.net/11094/46057</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> 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	齋藤 さかえ
博士の専攻分野の名称	博士 (理学)
学位記番号	第 19005 号
学位授与年月日	平成 16 年 9 月 22 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	マウス小脳顆粒細胞の分化における遺伝子発現プロファイル解析と大規模遺伝子機能解析
論文審査委員	(主査) 教授 安永 照雄  (副査) 教授 品川日出夫 教授 岡田 雅人 大阪府立成人病センター研究所所長 加藤 菊也

#### 論文内容の要旨

ポストゲノム研究のひとつである発現プロファイル解析は、ゲノム配列解析により明らかになった数万に及ぶ遺伝子の発現情報を収集し、生物個体や細胞における遺伝子全体の働きと発現調節のメカニズムを明らかにしようというものである。しかし、解析を行う際に問題となる遺伝子発現の固体差についての基礎的なデータが少なく、また、哺乳類細胞を用いた研究では発現パターンに違いのある遺伝子についてデータの有効性を検証するための大規模な機能解析実験系も確立されていない。遺伝子発現プロファイル解析はまだごく初期の段階にあり、発現プロファイル解析に関わる技術のさらなる発展が必要であると考え。本研究では、中枢神経系の研究モデルとして汎用されているマウス小脳を用い、発現プロファイル解析のための技術開発及び神経細胞の分化及び中枢神経系の発生に関与する遺伝子とその発現調節のメカニズムを明らかにすることを目的として、小脳顆粒細胞の分化過程における発現プロファイル解析及び大規模な遺伝子機能解析を行った。

生後 2 日目、4 日目、8 日目、12 日目、3 週齢、6 週齢のマウス小脳及び海馬歯状回を用い、1,869 個の遺伝子の相対的発現について PCR をベースとしたアダプター付加競合 PCR 法により測定した。その結果、クラスター解析により遺伝子を遺伝子の発現パターンにより 3 つのグループに分類することができた。これらの遺伝子グループについて、それぞれの遺伝子機能に関する独自のキーワードをつけ、統計的な解析を行った結果、出現頻度が有意に異なる 11 個のキーワードを選択することができた。これらのキーワードの出現頻度の分布は、小脳皮質の発達ステージの特徴とよく一致しており、遺伝子機能と発現パターンを関連づけることができることが示された。

次いで、生後 4 日、8 日、12 日、3 週目のマウス小脳の凍結切片より、分化の程度の異なる顆粒細胞層をそれぞれ Laser Capture Microdissection により切り出し、時間的空間的に分類された 12 種類の細胞集団における遺伝子発現量を測定した。生後小脳で発現している遺伝子 450 個についてその発現レベルを測定し主成分分析を行った結果、顆粒細胞の分化には時間的に発現の変化する遺伝子の割合が多いことが示された。さらに、発現解析を行った遺伝子の全長 ORF のクローニングを試み、完全長のクローンを得ることができた 374 個の遺伝子について Cell Transfection Array による機能解析を行った。クローンをそれぞれ PC12 細胞に導入し、神経突起伸長の誘導及び細胞増殖への影響を観察した結果、PC12 細胞に神経突起伸長を誘導する遺伝子 5 個、細胞増殖を促進する遺伝子 7 個を見出した。これらの遺伝子と発現パターンとの関連を検証した結果、PC12 細胞に形態変化を誘導した遺伝子群は顆粒細胞の分化の初期のステージで発現が高いことが示された。本研究で示した大規模な遺伝子機能解析による機能データを利用

した遺伝子発現プロファイル解析は、遺伝子の新しい機能の同定と発現プロファイル解析の発展に有用であると考え  
る。

### 論文審査の結果の要旨

遺伝子発現プロファイルは、個々の遺伝子の活動状態ではなく細胞や組織で発現しているすべての遺伝子の活動状態を解析する新しいゲノム科学による方法論である。齋藤さかえ君は、マイクロアレイとは異なる定量 PCR による発現プロファイル解析システムを用いて、マウス小脳の生後発生過程の解析を行った。

脳の発生過程の発現プロファイル解析は彼女の研究が初めてである。その結果遺伝子発現と遺伝子機能の間に連関があることを発見した。この実験系をはじめ生物学の発現プロファイルはサンプル数が少なく一般に十分な統計解析は不可能である。そのため異種の実験データで補完することを考え、ハイスループットの遺伝子導入実験系を共同開発し、400 個近くの遺伝子の PC12 における神経伸長活性と細胞増殖促進活性を調べた。その結果、10 個以上に活性があることを発見すると同時に、上記の遺伝子発現遺伝子機能連関を確認した。発現プロファイル解析とハイスループットの遺伝子機能解析を組み合わせた研究はこれまでになく、当分野の発展に大きく寄与すると考えられる。

よって、本論文は、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。