

# 論文審査の結果の要旨

氏名 坂手 龍一

本論文は3章よりなる。第1章ではチンパンジーの完全長 cDNA ライブラリーの作製と特性に関する研究、第2章ではクローンの塩基配列解析、第3章では、カニクイザルの対応配列との比較解析を行っている。

ヒトとその最も近い種であるチンパンジーの遺伝子機能の比較解析から両種間の種差や、ひいてはヒトをヒトたらしめている遺伝子とその働きを知ることが期待できる。現在、チンパンジーについては、転写・発現している配列についての情報はほとんどない。そこで本研究では、包括的にチンパンジーの遺伝子配列を解析する目的のもと、2頭のチンパンジー(*Pan troglodytes verus*)の脳、皮膚、肝臓の組織を試料として、mRNA のコピーである cDNA をクローン化し、ライブラリーとして大量に保存した。オリゴ・キャッピング法を用いることで、mRNA の5'端(上流)から3'端(下流)までの完全長を保存している cDNA クローンに富む cDNA ライブラリーを作製することができた。そこからランダムに選んだクローンの5'端配列部分のシーケンシングをおこなって、400bp以上の長さの配列(EST; expressed sequence tag, 発現配列断片)を7,064配列蓄積した。これらの配列をヒトの配列データベースに対してBLASTプログラムによる相同性検索をおこなった結果、3,875配列(1,652種)のヒト mRNA と相同な遺伝子配列が含まれていることがわかった。残りの2,107配列はヒト EST に、746配列はヒトゲノム配列に一致したが、いずれにも一致しない配列が85配列あった。第1章においては、上述の記載がなされている。

遺伝子の塩基配列の種差を正確に解析するには、まず正確度の高い配列データが必要である。そこで、ひとつの遺伝子につき複数のクローンの配列からコンセンサス配列(共通配列)を作製して配列比較をおこなった。コンセンサス配列は cDNA 配列を ClustalW プログラムでアラインメント(最もよく揃うように並べる)し、各塩基座位について多数決で塩基を決定して最終的なコンセンサス配列を作製した。全1,652遺伝子から226遺伝子のコンセンサス配列を得ることができた。これらに対応するヒトの遺伝子配列と比較して、コンセンサス配列全体、5'端の非翻訳領域(UTR)、コード領域(CDS)、コード領域を翻訳したアミノ酸配列の一致度(identity)について計算した。アミノ酸配列については、Li (1993)の方法を用いて同義・非同義置換(アミノ酸の変化をもたらさない・もたらす塩基置換、 $K_s$ ,  $K_A$ )についても計算し、比較検討した。その結果、全体で99.31%、5'-UTRで98.79%、

CDS で 99.42%、アミノ酸配列では 99.44%、同義置換( $K_S$ )は 1.37% (一致度に変換( $K_S^*$ )すると 98.63%)、非同義置換( $K_A$ )は 0.27% ( $K_S^* = 99.73\%$ ) という値が得られた。第 2 章において、これらの解析結果を述べている。

第 3 章では、配列の一致度の比較解析のために対照として、カニクイザル(*Macaca fascicularis*)の 5'端 cDNA、37,587 配列についても同様にコンセンサス配列を作製して、ヒトとの配列の一致度を計算した。チンパンジーとカニクイザルで共通に得られた 133 遺伝子について結果を得た。チンパンジー、カニクイザルの順に、全体で 99.43%、97.37%、5'-UTR で 98.75%、94.15%、CDS で 99.56%、97.98%、アミノ酸部位では 99.71%、97.98%、同義置換( $K_S$ )は 1.19%、5.56% ( $K_S^* = 98.81\%$ 、94.44%)、非同義置換( $K_A$ )は 0.14%、0.61% ( $K_A^* = 99.86\%$ 、99.39%) という値が得られた。

チンパンジーの大規模な遺伝子配列のデータおよびその解析はこれまでになく、本研究で得られた cDNA ライブラリーおよびその配列の蓄積は非常に貴重な試料となるだろう。本論文は、3 章とも、肥田宗友、数藤由美子、長田直樹、橋本雄之、平井百樹との共同研究である。しかし、研究のうち特に重要な位置を占めるデータ解析は、すべて論文提出者が行ったものである。本研究で得られた配列データおよび解析結果については、論文提出者がデータベースを構築し、インターネット (<http://pri.biol.s.u-tokyo.ac.jp/>) を通じてアクセスできるよう管理しており、本研究への論文提出者の寄与が極めて大きい。

したがって、博士 (理学) の学位を授与できると認める。