

論文の内容の要旨

論文題目: **Studies on Primate Lineage-Specific Genes**

和訳: 霊長類に特異的な遺伝子群に関する解析

指導教官 榑 佳之 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 12 年 4 月 入学

医学博士課程

分子細胞生物学専攻

氏名 高松 邦彦

2003 年 4 月, 全ヒトゲノムがシーケンスされ, 塩基配列が決定された. シーケンスの次段階では, ゲノム上の遺伝子をすべて発見, 同定することが大切である. ヒトゲノム (遺伝子) には, 2つのタイプの情報が含まれている. 1つは様々な生物に共通な遺伝情報, そしてもう1つはヒト固有の形質を生み出している遺伝情報である. これらの遺伝情報を, 抽出するためには, ヒトゲノムを他の生物のゲノムと比較する, 「比較ゲノム解析」が重要となる. ここ数年, *Fugu rubripes*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Arabidopsis thaliana*, そして *Saccharomyces cerevisia* 等の様々な生物のゲノムが解読されてきた. また 2002 年 12 月には, マウスのドラフトシーケンスが発表された. これらのデータを利用し, 様々な種間の比較ゲノム解析を行うことが可能となってきた. ヒトゲノムと, ゲノムが決定された各種生物のゲノムを比較することで様々な情報が得られるが, 比較対象によって得られる情報は異なる. 例えば, ヒトゲノムとチンパンジーゲノムを比較することでヒト特有な遺伝情報が, またヒトゲノムとマウスゲノムを比較することでは霊長類特異的な遺伝情報を得ることが出来る.

本研究では、ヒトゲノムのダウン症必須領域を対象として遺伝子の探索を行い2つの新規遺伝子を見だし、比較ゲノム解析を行った。その結果、これらの新規遺伝子が霊長類に固有の遺伝子であることを発見した。また、この発見が一般化できるか否かを調べるためコンピュータを利用し、ヒトゲノムの21番染色体および11番染色体と、マウสดラフトシーケンス間で比較ゲノム解析を行った。その結果、今回発見したような霊長類特異的な遺伝子が、ヒト21番染色体及び11番染色体上にも存在し、この発見が一般化できることを明らかにした。

I. ヒト21番染色体上の新規遺伝子 *DSCR9* と *DSCR10* の発見と、遺伝子発現解析

比較ゲノム解析を行うためには、まずヒトゲノムの中から遺伝情報を抽出するために、新規遺伝子を出来る限り見つけることが大切である。私の所属する研究室ではヒト21番染色体のシーケンスを行っていた。

そこで私は21番染色体上にある新規遺伝子発見を出来る限り多く発見するため、コンピュータを用いて新規遺伝子探索を行った。GENSCAN等の遺伝子予測プログラム、及びESTデータベースを利用した結果、ヒト21番染色体上のDown Syndrome Critical Region(*DSCR*)と呼ばれている領域に、12のESTにマッチした遺伝子(後に*DSCR9*と命名)、また3つのESTにマッチした遺伝子(後に*DSCR10*と命名)の3'領域を予測した。

この予測された遺伝子について遺伝子発現解析を行った。RT-PCR(reverse transcription-polymerase chain reaction)解析とNorthern-Blot解析により、*DSCR9*がtestis特異的に発現していることを明らかにした。*DSCR10*については、RT-PCR解析によりtestisとplacentaに発現していることを明らかにした。これらの結果は、*DSCR9*遺伝子がtestis特異的に、また*DSCR10*遺伝子はtestisとplacenta特異的に機能している可能性を示唆している。

次に*DSCR9*と*DSCR10*遺伝子の同定を行った。*DSCR9*の3'側は、3'RACEを行った後、クローニングとシーケンスを行い、配列を決定した。5'側についてはOligo-capping法を用いて5'側のcDNAを作成後クローニングとシーケンスを行い、配列を決定した。決定された配列の中に、cap-siteシーケンスが含まれていたことは、*DSCR9*の転写開始点(5'末端)が含まれていることを示しており、このことから、*DSCR9*の転写開始点を明らかにした。また、ヒト21番染色体のゲノム配列と比較することで、*DSCR9*が全長約1.4Kbのシングルエクソン遺伝

子であることを明らかにした。

DSCR10 については、3'側は EST データデータベースの情報を用い、また 5'側は 5'Race を行った後クローニングとシーケンスを行い、塩基配列を決定した。ヒト 21 番染色体のゲノム配列を比較し、*DSCR10* が全長約 850 塩基、3 エキシソンの遺伝子であることを明らかにした。

II. 両遺伝子 *DSCR9* と *DSCR10* は霊長類特異的な遺伝子である

新規遺伝子、*DSCR9* と *DSCR10* の機能を解析するために、既知の生物種のデータベースを利用して比較ゲノム解析を行った。その結果、既存の遺伝子やゲノム配列には *DSCR9* と *DSCR10* に類似した配列が見つからなかった。このことは、*DSCR9* と *DSCR10* 遺伝子が、進化上いつ出現してきたのかという疑問を提唱している。

そこで、様々な家畜動物(dog, cat, chicken, pig, bovine, mouse)のゲノム DNA を用いて southern-blot 解析(zoo-blot 解析)を行い、*DSCR9* と *DSCR10* の類似配列がこれらの家畜動物には見いだせないことを明らかにした。塩基配列レベルの詳細な解析については、マウスゲノムを用いて解析を行った。最近、ヒトの *DSCR* に相当する 1.5Mb のマウスゲノムがシーケンスされた。そこでこのデータとヒト *DSCR* を比較した結果、*DSCR9* と *DSCR10* を除く 10 個の遺伝子はゲノム上の順番と向きが保存されているが、*DSCR9* と *DSCR10* 遺伝子の類似塩基配列はマウスシンテニックリージョンに見いだせないことを明らかにした。この結果は、*DSCR9* と *DSCR10* が進化上、ヒトとマウスが分岐した後に出現したことを示している。

そこで次に、様々な霊長類(chimpanzee, gorilla, orangutan, crab-eating monkey, African green monkey, spider monkey)について southern-blot 解析(zoo-blot 解析)を行い、*DSCR9* と *DSCR10* の類似配列が、これらの霊長類ゲノムに存在することを明らかにした。この結果はまた、進化進化上ヒトに近いければ近いほど(chimpanzee や gorilla)類似配列が多いことも同時に明らかにした。この結果より、*DSCR9* と *DSCR10* 遺伝子が、霊長類に特異的に出現してきたことを明らかにした。

III. コンピュータを用いた霊長類特異的な遺伝子群の解析

霊長類特異的な遺伝子群を見つけるためヒトゲノムの 21 番と 11 番染色体と、

マウスドラフト配列及びマウス mRNA データベース(FANTOM2 と NCBI Build 32)を用いてコンピュータ上で比較ゲノム解析を行った。検出感度は、*DSCR9* と *DSCR10* が検出できるように決定した。その結果、ヒト 21 番染色体とヒト 11 番染色体上に、霊長類に固有な遺伝子を明らかにした。この結果は、ヒト 21 番染色体上ではおよそ 9%，ヒト 11 番染色体上ではおよそ 2%の遺伝子が霊長類に固有な遺伝子であることを示している。

以上、本研究ではヒトゲノムの解読の次段階として非常に重要な新規遺伝子の同定を行い、新規遺伝子 *DSCR9* 及び *DSCR10* を同定した。比較ゲノム解析により、*DSCR9* と *DSCR10* が霊長類に固有の遺伝子であることを発見した。さらに、発見した霊長類固有の遺伝子の存在を一般化させ、ヒトゲノム中にも霊長類固有の遺伝子群が存在することをヒトゲノムとマウスゲノム間の比較ゲノム解析を行い、ヒトゲノムには、およそ 2—9%の霊長類固有の遺伝子があることを見いだした。