

「ゲノムの構造と機能」

平成10年度採択研究代表者

松原 謙一

((財)国際高等研究所 副所長)

「器官形成に関わるゲノム情報の解読」

1. 研究実施の概要

高等動物の器官形成は、器官の“芽”となる細胞がまず生じ、それが周辺の細胞とコミュニケーションしながら分化・増殖をくり返して複雑な細胞集団へと発展してゆく過程である。コミュニケーションにさいしては、細胞外分泌物質やそのリセプターをはじめ、各種の誘導・抑制シグナル伝達のカスケードが次々と関与し、整然と働く筈である。

我々はこの過程で動員される数万に及ぶと考えられる遺伝子をゲノム解析手法によって同定・定量し、各遺伝子の経時的発現プロファイルのデータベース作成を進める。

このために発生途上のマウスの小脳をモデル系として選び、そこで作動する1000種の遺伝子の活動度についてデータベースを作成した。このデータベースは2年目にも続けて充実させてゆかねばならないが、同じ研究手法は、器官形成、器官再生、器官に対する薬理作用、疾病要因の問題等を解析する新しい方法論として展開できるものである。

2. 研究実施内容

マウスの小脳は胎生10日目頃に中脳と後脳の間に生じた小突起から発生して来るが、組織の形成は出生後に活発に起こり、そのさい経時的に反応が同調して起ころのが特徴である。すなわち、生後4日目頃は顆粒細胞のさかんな増殖が特徴的で、12日目頃になると、顆粒細胞の増殖は完了し、かわって、いわゆる分子層における神経細胞のさかんな樹状突起の伸長と、シナプス形成が主となる。これらの反応は生後3週には終了し、成熟した小脳となる。これら一連の反応はゲノム情報の逐次的な発現によって整然と進められるものと考えられている。然し、そこに働く遺伝子の反応の連鎖、調節のネットワークについては殆ど何も分かっておらず、また小脳完成後にその働きを特徴づける「長期抑制」の分子機構もこれからの研究待ちの状況にある。

遺伝子カタログ作成

我々はまず、小脳の形成過程と成熟後の機能維持に作動する遺伝子のカタログ作りにとりかかった。手法としては Body Map (Okubo et al., Nature Genet.1993) 作成で確立した技術を採用した。すなわち、発生初期、中期、成熟小脳よりメッセンジャー RNA をとり、cDNA ライブラリーに変換後、3'領域シーケンシングを行って異なる遺伝子の転写産物ができるだけ多数収集、分類整理した。現在 7000 種がコレクションにあり、そのうち 1700 種は既知、残りは新規遺伝子を代表するものである。カタログ作りは第 2 年目にも引き続き進める予定である。一般的に言って、既知遺伝子の殆どは発現頻度の高いグループに属し、新規遺伝子の大部分は発現頻度の低いグループに含まれる。

遺伝子発現の経時変化

カタログの中から諸種の判断を組み合わせて選んだ遺伝子 1000 種、我々のカタログには登載されていないが脳神経系の中で重要な働きを持つと考えられる既知遺伝子 300 種を選び、その発現の経時的変動を解析した。測定に用いたのは、発現プロフィル収集法の中でも最も感度と精度の優れている競合的 (ATAC) PCR 法 (Kato, Nucleic Acid Res.1997) である。多数の遺伝子活性を、多数の試料について測定するために、PCR のプライマーに長さが色々と異なるタグを付けた Multiple Adapter-Tagged PCR 法を開発した。

現在、1000 の遺伝子を、生後 2、4、8、12、21、42 (日) の小脳試料につき測定中である。当然のことながら、遺伝子は初、中、後期のどこかで強発現するもの、発現が漸増あるいは漸減するもの、フラットなものなどいろいろのタイプに分かれる。

経時変化パターンのクラスター分析

クラスター分析法の適用により、経時的発現変動の微妙な違いも、合理的に集合化、分類でき、或る程度小脳形成の細胞学的観察と対応できることが明らかになった。例えばリボゾーム遺伝子群は顆粒細胞の活発な増殖時に強発現しており、神経機能維持に関わる遺伝子群は、当然のことながら、成熟後半に発現が活発となる。現在、これらの解析をさらに詳細に行うことにより小脳形成の各ステージでクリティカルな役割を担う遺伝子(群)を検出し同定すべく努力中である。遺伝子のふるまいによるクラスター化を行うと、同一クラスターに属する既知遺伝子から、同じクラスターに属する新規遺伝子の機能を測定できるという利点もある。

新規遺伝子の機能決定と、発現調節ネットワークの解明

小脳は、冒頭に述べた如く内部の細胞が同調的に増殖、分化、相互作用を進めてゆくため、「まるごと」解析しても発現調節情報の収集に一定の意味あるデータ収集ができる。しかし、クラスター解析により測定された（特に未知）遺伝子機能の

決定を始めとする調節ネットワークの解明は次年度以降次第にすすめてゆく予定である。また、さらに多くの活性遺伝子の収集作業も継続してゆきたい。

3. 主な研究成果の発表（論文発表）

無し