

# SAGE法によるヒト血液細胞の遺伝子発現解析

●橋本 真一

東京大学大学院医学系研究科

## ＜研究の目的と進め方＞

生体防御機構（免疫）、特に炎症、免疫疾患をターゲットにした遺伝的要因の同定と分子レベルでの解明の為、生体防御機構に中心的な役割を担う血液細胞（特に樹状細胞）に焦点を絞り Serial analysis of gene expression(SAGE)を用い包括的な遺伝子発現解析を行うことを目的とする。

樹状細胞は、CD4+ナイーブT細胞に抗原提示をするなど、免疫系において極めて重要な役割を果たしている。各樹状細胞の分化過程及び機能を解明することは、基礎的な免疫体系を理解する為ばかりでなく、樹状細胞が関与する各種ヒト疾患の診断や治療手段の新たな開発にとってもきわめて重要である。我々は、ヒト単球からの樹状細胞の分化に伴う遺伝子発現を SAGE法により検討を進めてきた。

SAGE法はKinzlerら(Science 270:484, 1995)によって開発された各細胞・臓器における多数の遺伝子の迅速なスクリーニング技術であり、14bpからなる各cDNAを concatemer（数珠繋ぎ）にしプラスミドベクターに挿入し遺伝子配列を決定する。SAGE法は、未知、既知にかかわらず遺伝子の発現を何万という単位で包括的に調べることが可能な方法であり、発現解析データを数値化できるところを特徴とする。数万個のcDNA断片配列を決定しSAGEデータベースを検索することにより正確に各細胞・臓器における各遺伝子の発現が判る。SAGE法を

告はなく、私達が世界で初めて血球細胞（単球／マクロファージ、樹状細胞）の何万という単位の遺伝子発現パターンを明らかにした。これらの結果から、単球から樹状細胞への分化の際に発現が上昇する遺伝子及び減少する遺伝子の情報を得た。また、これらの既知の遺伝子以外はESTに報告のある遺伝子、未だ報告のない遺伝子がこのSAGEのデータベースに含まれている。樹状細胞が発現している遺伝子及び分化に伴って発現してくる遺伝子の同定は世界的にほとんど報告がなく、これらで得られる情報によりクローニングされる新規遺伝子は、癌ワクチンへの応用が期待される樹状細胞の機能を明らかにすると共に、免疫学の進歩に多大な貢献をすると期待される。さらに T細胞、B細胞、NK細胞など他の血液細胞の発現遺伝子を調べることによりそれぞれの血液細胞特有の遺伝子を検索し、これらのデータベースをもとにして炎症、免疫疾患の遺伝的要因の同定と分子レベルでの解明を行う。

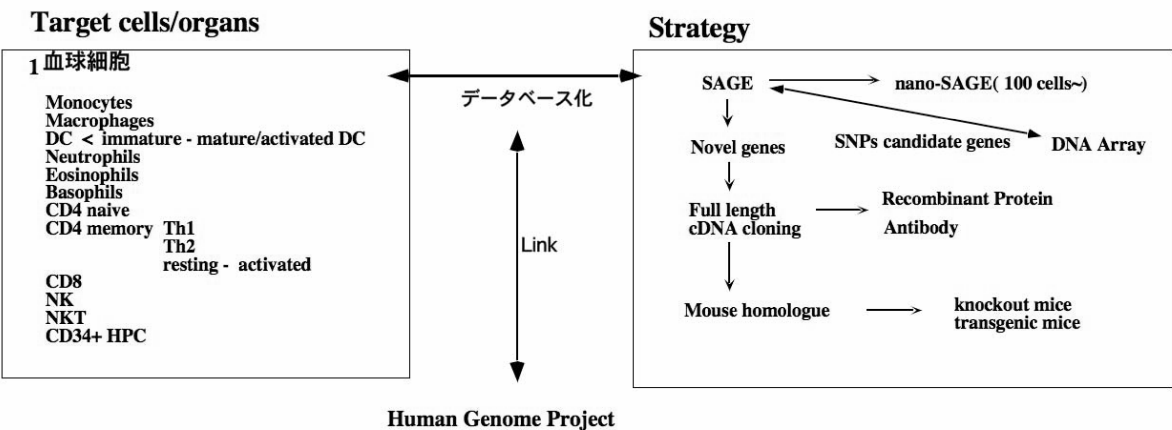
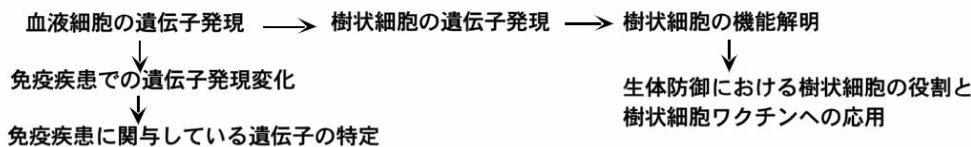
図には研究の目的および進め方を示した。研究を進めていく上での方法としてSAGE法だけでなく、微量サンプルの検出、DNAアレイの開発など新たな解析法の開発も行う。

## ＜研究開始時の研究計画＞

1) SAGE法を使って得た単球から未成熟樹状細胞への分化および未成熟から成熟樹状細胞の分化に伴って発現し

### 目的と進め方

遺伝子発現プロファイルによる免疫担当細胞及びその分化機構の解明



用いた遺伝子発現の研究では、癌細胞、酵母などがあるが、血液細胞で遺伝子の発現パターンを調べたという報

てきた遺伝子の中で機能が知られていないものをESTの情報をもとに、樹状細胞のfull length cDNAライブラリー



及び生存に重要なサイトカインであるIL-15がNK細胞の  $\alpha$ -defensin 1の発現を増強することを見いだした。NK細胞及びCD8T細胞において発現する遺伝子の同定はウイルス感染細胞及び癌細胞に対する免疫反応におけるこれらの細胞の機能を明らかにする上で重要と考えられる。

### ヒト白血球の遺伝子発現解析

上のNK細胞、CD8 T細胞に加えて血液細胞naïve T, resting Th1(CCR4-), resting Th2(CCR4+), activated Th1, activated Th2細胞、樹状細胞、顆粒球、単球、GM-CSF及びM-CSF誘導マクロファージなどのサブセット、17ライブラリーの遺伝子発現解析を行った。

70万以上の転写産物を解析し、一度しか出現しなかったtagはシークエンスエラーと考えて除き、2度以上発現したtagの総数は38,961個であった。Unigeneのデータベースを用いて遺伝子数を計算したところ遺伝子の種類としては27,323個であった(表3)。27,236個の中で細胞(細胞あたりの遺伝子発現を30万コピーとして計算)あたり501コピー以上発現していた遺伝子は73種類であり、逆に5コピー以下の遺伝子は21,323種類であり全体の78%であ

表3. ヒト白血球のSAGEによる遺伝子発現の解析結果

| Cells <sup>a</sup>                               | Number of tags <sup>b</sup> | Unique transcripts <sup>c</sup> | Unique genes <sup>d</sup> |
|--|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| <b>Myeloid</b>                                   |                             |                                 |                           |
| Monocytes <sup>e</sup>                           | 58,700                      | 10,391                          | 8,141                     |
| LPS-stimulated monocytes <sup>e</sup>            | 35,991                      | 8,172                           | 6,710                     |
| M-CSF-induced macrophages <sup>e</sup>           | 54,047                      | 10,629                          | 8,295                     |
| GM-CSF-induced macrophages <sup>e</sup>          | 57,525                      | 10,722                          | 8,434                     |
| Immature dendritic cells <sup>e</sup>            | 58,700                      | 12,577                          | 9,844                     |
| Mature dendritic cells <sup>e</sup>              | 31,862                      | 8,017                           | 6,583                     |
| Langerhans like cells                            | 57,717                      | 13,630                          | 10,874                    |
| Granulocytes                                     | 31,466                      | 8,007                           | 6,821                     |
| <b>Lymphoid</b>                                  |                             |                                 |                           |
| CD4 T cells (naïve)                              | 50,433                      | 11,290                          | 9,124                     |
| CD4 T cells (memory, CCR4 negative) <sup>f</sup> | 31,919                      | 7,572                           | 6,220                     |
| CD4 T cells (memory, CCR4 positive) <sup>f</sup> | 30,700                      | 7,820                           | 6,521                     |
| Activated T cells (Th1) <sup>g</sup>             | 32,219                      | 8,111                           | 6,676                     |
| Activated T cells (Th2) <sup>g</sup>             | 32,288                      | 9,047                           | 7,382                     |
| CD8 T cells <sup>h</sup>                         | 51,017                      | 11,789                          | 9,380                     |
| NK cells <sup>h</sup>                            | 34,831                      | 8,187                           | 6,569                     |
| B cells  | 53,236                      | 10,903                          | 8,499                     |
| Activated B cells                                | 7,339                       | 2,798                           | 2,439                     |
| <b>Total</b>                                     | <b>709,990</b>              | <b>38,961</b>                   | <b>27,323</b>             |

<sup>a</sup>Number of unique libraries are 17. <sup>b</sup>Each cell was purified as Materials and Methods. <sup>c</sup>The number of unique tags observed in each cell. Unique genes were counted using Unigene. <sup>d</sup>Transcripts are assigned more than once on all seventeen libraries. <sup>e</sup>Unigene data base. <sup>f</sup>published data (CCR4 negative cells are called resting Th1 cells and CCR4 positive cells are called resting Th2 cells).

った。この結果から、通常、細胞あたりほとんどの遺伝子が低頻度で発現していることが明らかとなった(表4)。これらの解析結果については森下研究室との共同研究でURL (図2、<http://bloodsage.gi.ku-tokyo.ac.jp/>)に公開した。

表4. 解析した遺伝子の発現量

| Frequency    | Unique Transcripts | %            | Mass fraction mRNA (%) | Unique Genes  |
|--------------|--------------------|--------------|------------------------|---------------|
| >500         | 75                 | 0.2          | 27.5                   | 73            |
| 51-500       | 609                | 1.6          | 26.2                   | 573           |
| 6-50         | 6,545              | 16.8         | 28.2                   | 5,441         |
| ≤5           | 31,732             | 81.4         | 18.1                   | 21,236        |
| <b>Total</b> | <b>38,961</b>      | <b>100.0</b> | <b>100.0</b>           | <b>27,323</b> |

Copies/cell denote the category of expression level analyzed in transcript copies per cell in the combined libraries, unique genes represents the number of unique genes matched Unigene cluster and not matched.

### 白血球細胞の分類

次に遺伝子発現の観点から白血球細胞を分類した。図3にはヒト白血球ライブラリーのクラスター解析による分

類の結果を示す。遺伝子発現による分類は、大きくはリンパ球系、骨髄系に分かれ、同じ系列のライブラリー間で遺伝子発現が似通っていた。このクラスター解析の結果から、今までの機能、分化による分類と同様に、機能

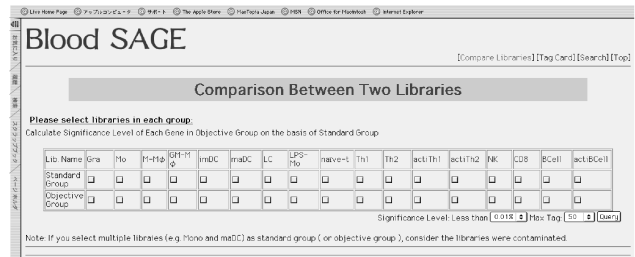


図2. SAGE法により解析した白血球系細胞の遺伝子発現データベースサイト

が近いもの、分化経路が類似しているものが遺伝子発現上でも近隣していることが示された。

血液細胞は一般的にリンパ球系、骨髄系に分類される。分化経路が異なるためであるが、機能的な違いについてはあまり解析されていない。そこで、遺伝子発現の観点

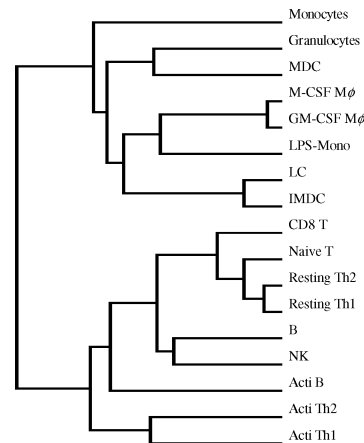


図3. ヒト白血球ライブラリーのクラスター解析による分類

からこの2つの集団でどのような違いがあるか解析した。図4はそれぞれの集団で共通に発現し、なおかつ発現頻度が他方に比べて高いものを示した。骨髄系細胞では代謝系、シグナル系、細胞骨格系、タンパク分解系の遺伝子の発現がリンパ球系に比べて高かった。一方で、リンパ球系ではリポゾーマルタンパク質の発現が特に高かった。骨髄系は、初期の生体防御機構にたずさわっており、異物の代謝や細胞の移動が活発なためにこのような遺伝子が高頻度に発現していると予想された。

### 抗原提示細胞での遺伝子発現

血液細胞中で単球、マクロファージ、DC、B細胞のような細胞(APC)は外来性の抗原をT細胞に提示するといった免疫反応に非常に重要な役割を担っている。次にこの抗原提示細胞で特異的に発現する遺伝子について解析した。予想通り、主な発現遺伝子は組織適合性抗原(MHC)クラスIIと関係する遺伝子群であった。加えて抗原提示細胞特異的な遺伝子は細胞骨格、新陳代謝、蛋白質分解

に關する gelsolin-like protein, acid phosphatase 5, D component of complement, N-acetylglucosamine kinase, solute carrier family 16であった。これらの分子について抗原提示に關するという報告はなされていないが、抗原提示の各ステップに關与していると考えられる。

### 白血球特異的な発現遺伝子

白血球に特異的な遺伝子を解析するために、白血球中の SAGE tag を他の組織の SAGE データベース (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SAGE/>) からの合計 4,280,231 の tag と比較した。その結果、L-plastin 1、proteoglycan 1 および dual specificity phosphatase 2 が他の組織と比較して、白血球の中で選択的に発現していた。このうちの1つ、L-plastin はそのアクチン結合ドメインを通してアクチン・フィラメントを重合させることができ、また癌の転移などにも関係がある。このことから L-plastin は白血球細胞の運動性を調節していると予想される。dual specificity phosphatase 2 は、MAP kinase phosphatase であり白血球機能のメンテナンスにとって

### リンパ球系樹状細胞(plasmacytoid DCs)の包括的遺伝子発現解析

樹状細胞サブセットであるリンパ球系樹状細胞について SAGE 法で包括的遺伝子解析を行い、他のサブセットとの遺伝子発現の相違について検討した。リンパ球系樹状細胞に高発現している遺伝子は単球由来成熟樹状細胞と非常に似ていた。一方、成熟樹状細胞と比較して nucleophosmin, isoleucine-tRNA synthetase, topoisomerase II binding protein, heterogenous nuclear ribonucleoprotein D, nucleolin などの核酸関連遺伝子が多数発現していた。このことはリンパ球系樹状細胞がウイルス感染に非常に重要であるという報告があることからこれらの遺伝子群がウイルス除去などの機能に密接に關与していると考えられた。

### LongSAGE法を用いた遺伝子発現解析

現在の SAGE 法は制限酵素 BmsFI を用いて遺伝子の断片化を行っているが、新たに制限酵素 MmeI を使うことによって、21bp の遺伝子断片の解析を行った。これらの

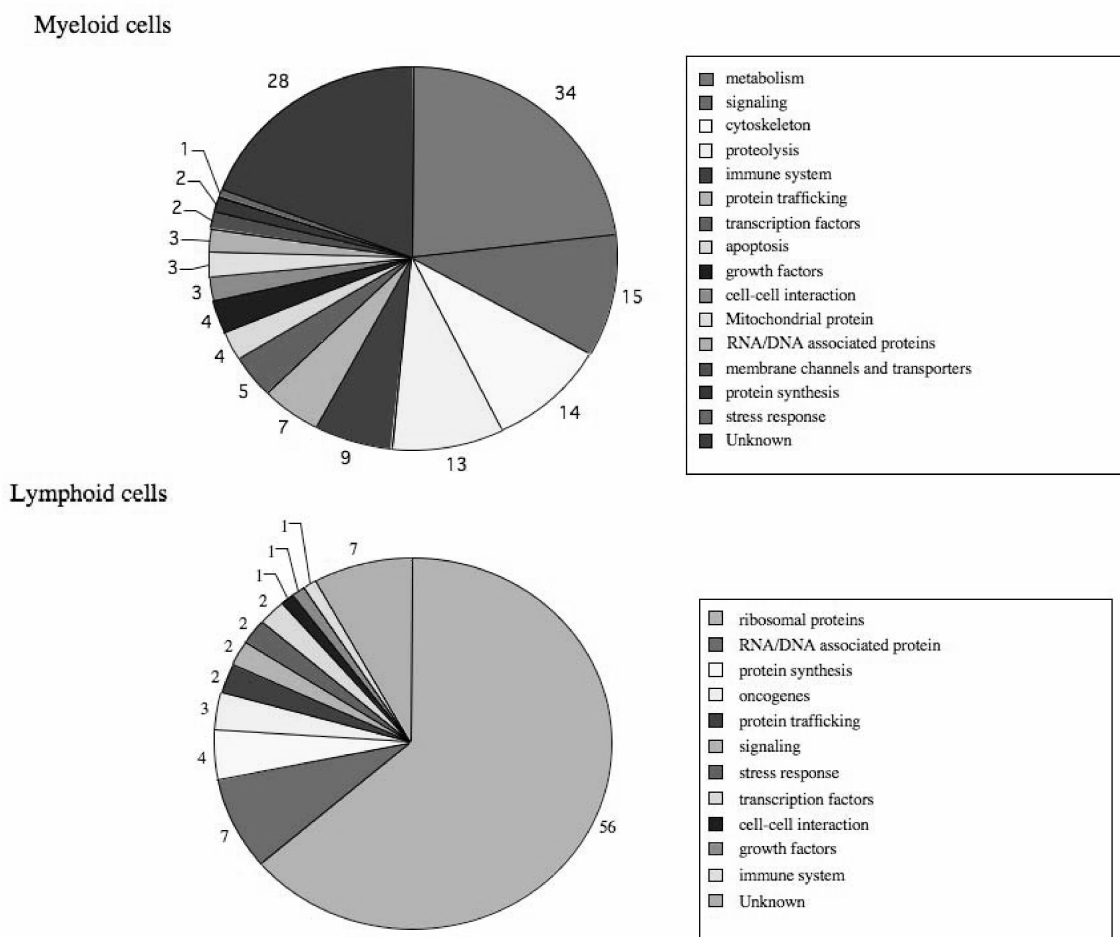


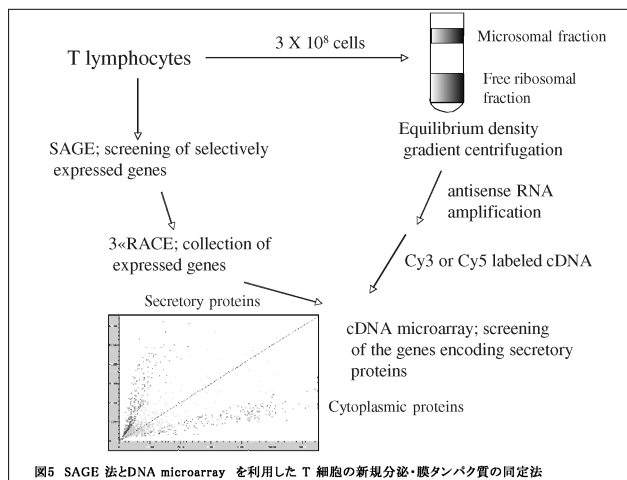
図4 骨髓系及びリンパ球系細胞で高頻度に発現している遺伝子

重要かもしれない。これらの分子は白血球特異的なマーカーと考えられ、組織への白血球細胞の浸潤などの解析に利用できるであろう。

結果を original SAGE と比較したところ非常によく相関していた。またこの結果長い遺伝子断片を用いてほとんどの遺伝子が同定可能になった。

## SAGEとDNA microarrayを利用したT細胞の新規分泌・膜蛋白の同定法の開発:

SAGE法により明らかにしたヒト刺激Th1細胞、刺激Th2細胞、刺激T細胞の遺伝子発現プロファイルからそれ



ぞれの細胞において選択的に発現し、かつその遺伝子産物が機能未知である遺伝子のDNAチップを作成し、次に平衡化密度遠心法により得た膜分画のmRNAを使いDNAチップにて分泌・膜蛋白候補遺伝子をスクリーニングした。その結果、ヒト刺激Th1、刺激Th2、刺激T細胞それぞれにおいて2個、1個、6個の遺伝子が新規の分泌・膜蛋白をコードしていると予想された。遺伝子の全長が報告されている6個のうち、4つの遺伝子については、signal sequenceまたは膜貫通部の存在が予測された。3個のESTのうちの1つの全長を決定したところ、その遺伝子産物は4回貫通膜蛋白であることが予測された。我々が開発した方法は、従来の方法と比較して効率的に新規の膜・分泌蛋白を同定することができる。多くの検体にこの方法を応用することにより、さらに多くの新規分泌・膜蛋白コード遺伝子の同定が可能となった。

## 5' SAGE法の開発

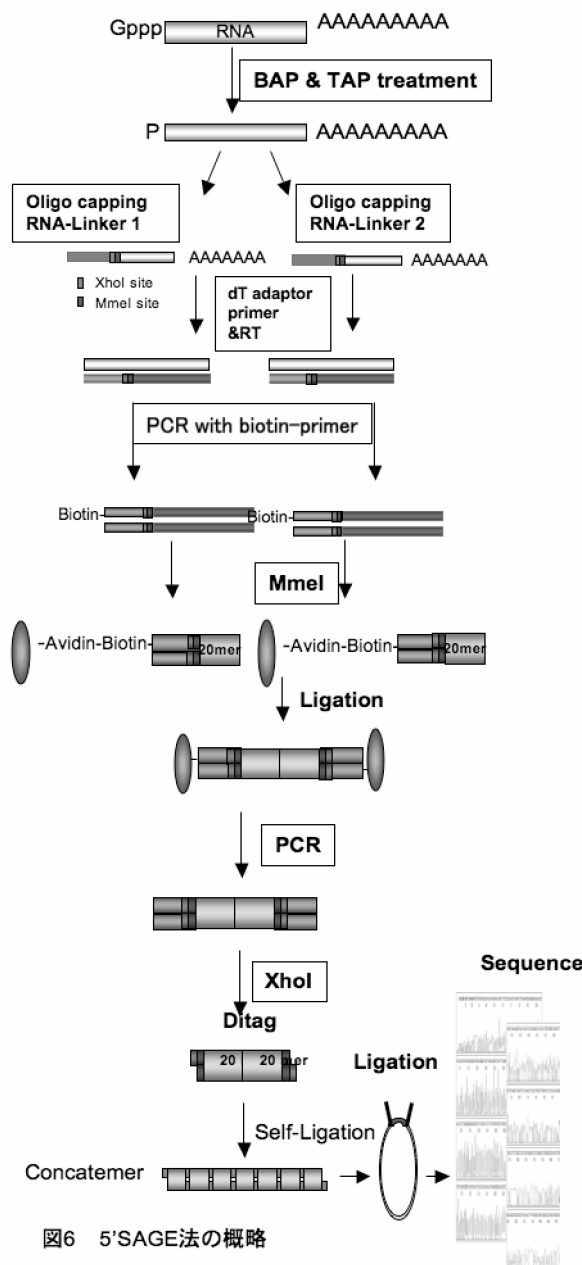
現在のSAGE法は3'側の特定の断片を用いて遺伝子を特定するものであり21bpの断片を用いることで遺伝子の

表1、各データベース上での mRNA転写開始点と5'SAGE tagの相対的な距離

| Distance from start site of each database (nt) | Tag number (%) |               |              |
|--|----------------|---------------|--------------|
|  | RefSeq         | Unigene       | DBTSS        |
| -500 ~ -201                                    | 349 (3.2)      | 310 (2.3)     | 147 (1.5)    |
| -200 ~ -51                                     | 887 (8.1)      | 562 (4.2)     | 260 (2.7)    |
| -50 ~ -1                                       | 4,172 (38.0)   | 4,894 (36.4)  | 2,035 (21.0) |
| 0 ~ +50  | 3,174 (28.9)   | 6,068 (45.1)  | 6,641 (68.6) |
| +51 ~ +200                                     | 847 (7.7)      | 523 (3.9)     | 221 (2.3)    |
| (-500 ~ +200)                                  | 9,429 (85.8)   | 12,357 (91.8) | 9,304 (96.1) |
| Total tags                                     | 10,990 (100)   | 13,461 (100)  | 9,685 (100)  |

ゲノム上の位置を決定することができる。しかしながら5'端の情報は正確でないものが多く、これらのデータから得た遺伝子の機能を明らかにする上で問題となることが明らかになった。それらの問題を克服し、さらに詳細

な解析を行う為、転写開始点及び遺伝子発現頻度を観察できる5' -end serial analysis of gene expression (5' SAGE法)の開発を行った。ヒトゲノムプロジェクトでは遺伝子がEST、完全長cDNAおよび計算上の分析(Genscan、FGENESおよび他のプログラム)から得られた情報に基づいて推定されている。しかしながら、計算上の分析には限界があり、推定された遺伝子が現実に発現したという決定的な証拠はない。mRNA転写開始点の検索は、遺伝子の完全長cDNAの単離だけでなくプロモータ領域の分析において不可欠であり、5'SAGE法はこれらを特定するのに非常に有用な方法である。その結果、私はSAGE法とオリゴキャップ法を組み合わせた方法を用



いて包括的な転写開始点のtagの取得に成功し、その概略を図6に示す。

HEK293ヒト細胞ライブラリーの5' SAGEタグ25,684個のうち、19,893個がヒトゲノムに一致し、RefSeq、UniGene、およびDBTSSデータベースを用いて評価したところ、このゲノムに1ヶ所マッチした15,448個のタグの中で、5' SAGEタグの85.8~96.1%が既存のmRNA開始



部位の-500~+200bp内にマッチした。この結果からほとんどのタグが転写開始点を示していることが示唆された。一方、遺伝子の多くは複数の転写開始点が存在することが知られている。その代表的な例として5' SAGE法で明らかにしたNeurofilament 3の転写開始点と発現頻度を図7に示した。この図を見てわかる通り転写開始点が複数存在し、さらにその発現頻度は異なっている。また、転写開始点と多様なmRNA(alternative splicing)の関連を示す

様性を明らかにできると考えられる。特に癌、免疫系遺伝子の数多くにスプライシング型が存在することが知られ、そのスプライシング型を測定することは複雑な癌化、免疫システムを理解する上で非常に重要となる。以上の点から5' SAGE法により様々な生物の細胞および組織の詳細なトランスクリプトーム解析が促進されると予想される。HEK293, Ramosのデータに関しては<http://5sage.gi.k.u-tokyo.ac.jp/>にて公開している。

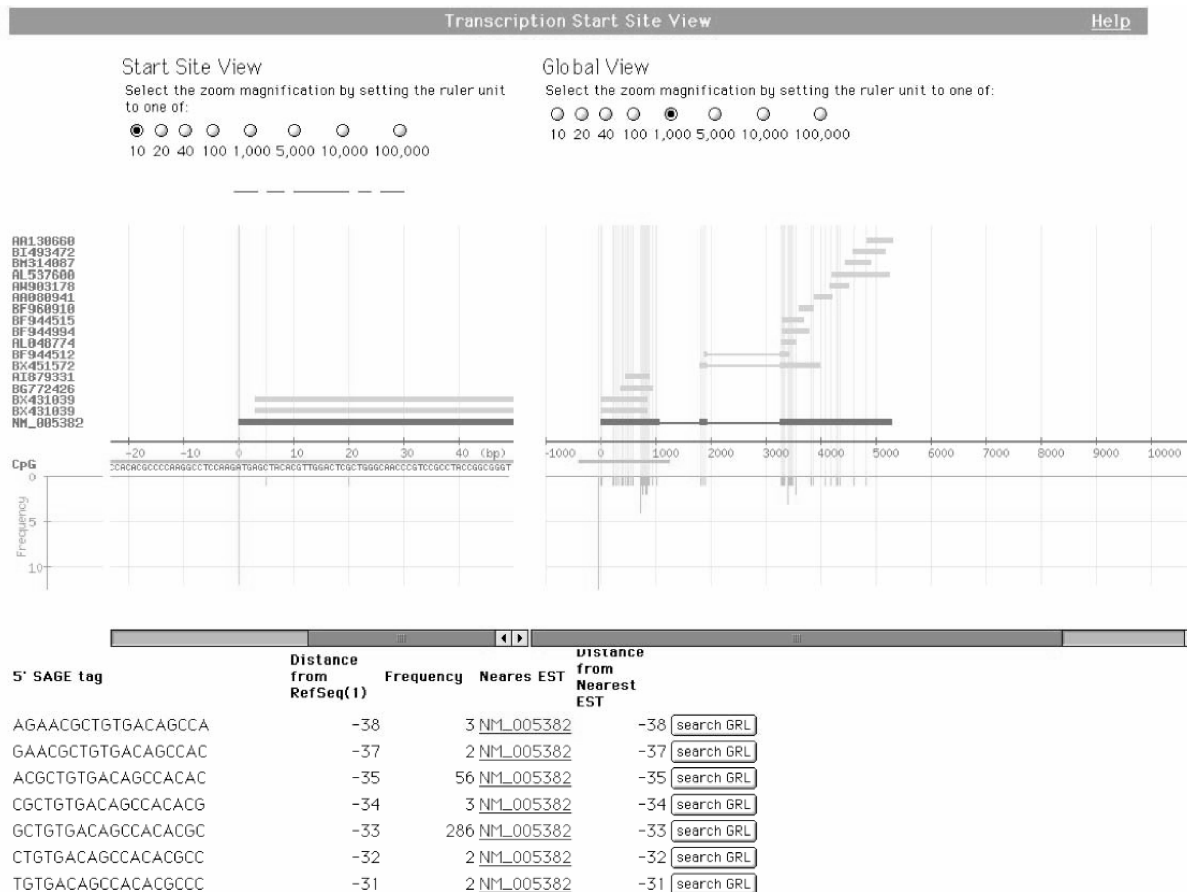


図7、Neurofilament 3の転写開始点と発現頻度

為、それぞれのタグが一番近いESTを示してある。また、Ramos(Burkitt's lymphoma)を用いて5' SAGEライブラリーを作製しHEK293同様、既存のデータベースを用いて評価したところmRNA開始部位の-500~+200bp内に94~99%マッチした。このことから5' SAGE法は遺伝子の完全長cDNAの完成および遺伝子発現を調節するプロモータ領域の解析に有用であると考えられた。最近、転写産物の中にはmiRNAを始めとしてタンパク質をコードしていないnon-coding RNAが数多く報告されている。このような転写産物の一部はRNA polymeraseIIによって転写されcap構造やpoly(A)配列が付加されていることから5' SAGE法を利用することで未知のnon-coding RNAの同定が可能であり、最近明らかになってきた複雑な遺伝子発現制御機構を理解する上でも非常に有用と思われる。また、これまでに転写開始点とmRNAのスプライシングに関連があることが幾つか報告されている。mRNAのスプライシングにより、同一の遺伝子領域から発現してくる遺伝子が異なった機能を持ったタンパク質に翻訳されると考えられ、転写開始点を調べることでタンパク質の多

#### 〈国内外での成果の位置づけ〉

ヒト血液細胞の遺伝子発現パターン情報としては内外で随一であり、今後の免疫学の進歩に多大な貢献をする と期待される。また、DNA アレイやSAGE法を用いた包括的な遺伝子発現解析がなされているが、転写開始点からの遺伝子の発現パターンを調べたという報告はなく、我々が世界で初めて転写開始点とその遺伝子発現を何万 という単位で測定できる方法を確立した。この方法を最近のNature Biotech(Vol.22, 1146-1149, 2004)に報告し、その意義についてNature Methods(Vol.1, 3, 2004)にも research highlightsとして挙げられ国際的にも高い評価を受けている。

#### 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

樹状細胞に高頻度に発現している機能不明な遺伝子の機能解析が特許も含めて予想外に時間がかかっている。SAGE法のような包括的解析ではホモロジーから単離するような遺伝子と異なり機能が全くわからないものが多

い。解析をするために多くのスクリーニング、さらにトランスジェニックマウスなどの作成により機能を特定しようと試みていることで目的の達成が遅れている。さらに幾つかの遺伝子に関しては、研究遂行中に他のグループより報告されてしまった。

微量なサンプルすなわち1-1000細胞に対しての包括的遺伝子発現解析を可能にするSAGE法の確立に関する目標は、現在まだ達成されていない。現在までの経過は以下の通りである。通常のRNA増幅法であるT7 RNA polymerase増幅法により10-1000細胞のRNAを増幅し、SAGE法を行った。この結果を1X10<sup>8</sup>個の細胞で行ったSAGEと比較したところ相関係数は約0.7程度であり、遺伝子発現の増減は再現できるが、SAGE法の特徴である発現頻度を正確にだすところまでには至っていない。原因として遺伝子の長さなどによりRNAが増幅されにくくなっている可能性もあり、現在、完全長DNAでなく制限酵素NlaIIIで切断したDNAでRNA増幅を検討している。(通常RNA増幅は、完全長DNAを用いて行われる) SAGE法はもともと遺伝子断片を解析する技術であり、切断後の短い遺伝子を使い増幅することで、より遺伝子増幅の効率(遺伝子間の増幅のばらつき及び増幅速度)を上げることが期待される。

#### 〈今後の課題〉

- 1) 単球からの樹状細胞の分化に伴う遺伝子発現を SAGE法により検討を進めてきた。これらの結果から、単球から樹状細胞への分化の際に発現が上昇する遺伝子及び減少する遺伝子の情報を得た。この結果から得た機能不明の遺伝子に関しては現在もクローニング中、トランスジェニック作成中または、抗体作成中であり機能を特定するに至っていないのが現状である。今後これらの遺伝子についての解析を継続させ免疫に中心的な機能を担う樹状細胞の新たな機能を分子生物学的に解析するとともに癌ワクチンへの応用に発展させていきたい。
- 2) 各血液細胞特有の遺伝子発現解析をしたわけであるが、この解析では発現している遺伝子中の発現量の高いものが検出されているだけで今後さらに解析数を5' SAGE法も用いながら増やし詳細な遺伝子発現解析を行う必要があると考えられる。さらにデータベースをもとにして炎症、免疫疾患の遺伝的要因の同定と分子レベルでの解明を行う為、解析する疾患の絞り込みならびに疾患サンプルの取得に関しての多くの問題を解決していく必要があると考えられる。
- 3) ゲノム研究関連特定研究領域で解析の対象となる真核生物から5' SAGEライブラリーを作製し、それらのcDNAライブラリーからのクローンの5' 端EST配列を決定することで、遺伝子の転写開始点の詳細とそのコアプロモータ領域を同定する。さらに現在までのゲノムプロジェクトで利用していたESTならびに完全長cDNAの代わりにこの方法を用い安価で短時間で遺伝子発現領域を特定し今後行われる生物のゲノムプロジェクトに役立てる。
- 4) 5' SAGEライブラリー作製法の効率化(コスト、時間など)を進める。
- 5) 5' SAGE法に使用するRNAの微量化(T7 RNA polymeraseによるRNA増幅を利用し、ngレベルのtotal RNAからライブラリーを作製する。臨床サンプルや発生初期の細胞は非常に得られる数が限られているためこれを積極的に行う。
- 6) 5' SAGE法を利用したnon-coding RNAの同定及び定量化の開発: polymerase IIで転写されたnon-coding RNAは5' SAGE法で同定可能である。そこでデータ数を大規模

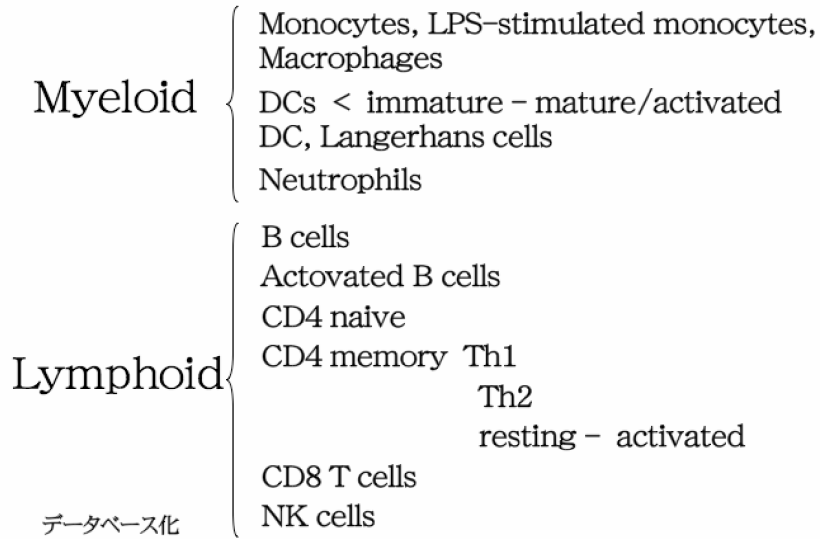
にし未解析な転写産物の生物学的意義を明らかにする。

#### 〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 1) 0409091457  
Hashimoto, S.-i., Y. Suzuki, Y. Kasai, K. Morohoshi, T. Yamada, J. Sese, S. Morishita, S. Sugano, and K. Matsushima. 2004. 5'-end SAGE for the analysis of transcriptional start sites. *Nat Biotechnol* 22:1146-1149.
  - 2) 404031449  
Hashimoto, S.-i., K. Morohoshi, T. Suzuki, and K. Matsushima. 2003. LPS-inducible gene expression profile in human monocytes. *Scand J Infect Dis.* 35:619.
  - 3) 308072012  
Toyoda, N., S. Nagai, Y. Terashima, K. Motomura, M. Haino, S.-i. Hashimoto, H. Takizawa, and K. Matsushima. 2003. Analysis of mRNA with microsomal fraction using a SAGE-based DNA microarray system facilitates identification of the genes encoding secretory proteins. *Genome Research.* 13: 1728-1736.
  - 4) 308071922  
Hashimoto, S. I., S. Nagai, J. Sese, T. Suzuki, A. Obata, T. Sato, N. Toyoda, H. Y. Dong, M. Kurachi, T. Nagahata, K. I. Shizuno, S. Morishita, and K. Matsushima. 2003. Gene expression profile in human leukocytes. *Blood* 101:3509.
  - 5) 0301092238  
Obata-Onai, A., S.-i. Hashimoto, N. Onai, M. Kurachi, S. Nagai, K.-i. Shizuno, T. Nagahata, and K. Mathushima. 2002. Comprehensive gene expression analysis of human natural killer cells and CD8+ T lymphocytes. *Int. Immunol.* 14:1085-1098.
- 2) データベース: 0301092249: Blood SAGE (<http://bloodsage.gi.k.u-tokyo.ac.jp/>)

## 研究成果

ヒト血球細胞の遺伝子発現プロファイル SAGE法



<http://bloodsage.gi.k.u-tokyo.ac.jp>にて公開

血液細胞の遺伝子発現の測定及び方法の開発

- 1) LongSAGE法の確立  
新規遺伝子の同定及びオリジナルSAGEで同定できない遺伝子同定
- 2) 5'-ends SAGE法の開発  
転写開始点及び新規遺伝子の同定と発現量の測定
- 3) DNA Arrayを利用した新規分泌・膜蛋白の同定法の開発

↓  
免疫疾患での遺伝子発現変化

↓  
樹状細胞ワクチンへの応用