

ダウン症候群の発症機序解明に向けた 21番染色体の全遺伝子構造の解明

● 渋谷 和憲

慶應義塾大学医学部

〈研究の目的と進め方〉

ダウン症候群は21番染色体のトリソミーがその原因となるが、その多様な臨床症状の発症に直接関わる遺伝子群の特定はほとんど進んでいない。我々はヒトゲノムプロジェクトの一環として国際協力により21番染色体の真正クロマチン領域約33.5 Mbの塩基配列を決定し、21番染色体に存在する遺伝子数を225個と2000年5月に発表した。その内訳は127個の確定遺伝子と98個の推定遺伝子から成っていた。その後も我々は21番染色体の遺伝子解析を進め、keratin-associated protein (KAP) 遺伝子クラスターの発見をはじめ、幾つかの遺伝子構造を明らかにしてきた。ダウン症候群のメカニズムを解き明かすためには21番染色体に存在する全ての遺伝子を完全に明らかにする必要がある。従って、本研究では21番染色体のゲノム配列の解析をあらためて徹底して行い、全遺伝子構造の解明を目指す。

〈研究開始時の研究計画〉

- 1) 我々がコンピュータ解析により同定した2つのKAP遺伝子クラスターについてもRT-PCRにより完全な遺伝子構造の決定を行う。
- 2) エキソン予測ソフトウェアで有力な情報がほとんど得られていない遺伝子低密度領域については、公表されているマウス全ゲノム配列 (working draft sequenceを含む) を利用し、21番染色体の配列と比較して保存された領域を抽出しPCRにより転写の有無を確認する。さらに増幅された転写物に対しては配列決定を行い全長の構造を決定する。

〈研究期間の成果〉

- 1) 2つのKAP遺伝子クラスターに関しては、21q22.3領域について21個のKAP遺伝子関連配列を見だし、16個のアクティブ遺伝子と5個の偽遺伝子を同定した。また21q22.11領域については50個のKAP遺伝子関連配列を見だし、32個のアクティブ遺伝子と18個の偽遺伝子を同定した。また、21q22.3領域に存在するKAP遺伝子は毛根細胞でのみその発現が確認されたが、21q22.11領域に存在するKAP遺伝子はファミリー毎に違いはあるものの、他の組織でも発現していることが確認された。

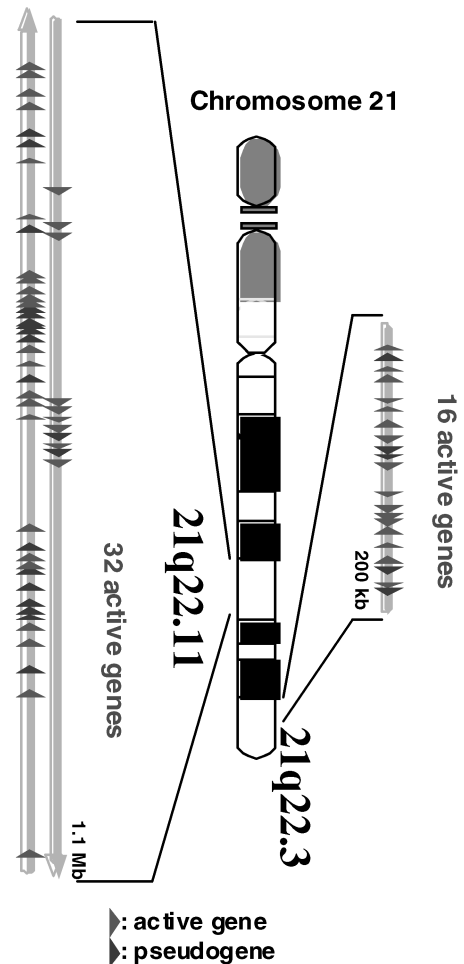


図1: 21番染色体上で同定した KAP 遺伝子の分布

- 2) これまでに5.1 Mbの領域 (AP001666-AP001680) に対してヒト・マウス保存領域の抽出作業を終え、5.1 Mbのうち約2.6%が保存領域として抽出できた。RT-PCRにより転写の有無を確認したが、新たなタンパクコード遺伝子は見いだされなかった。

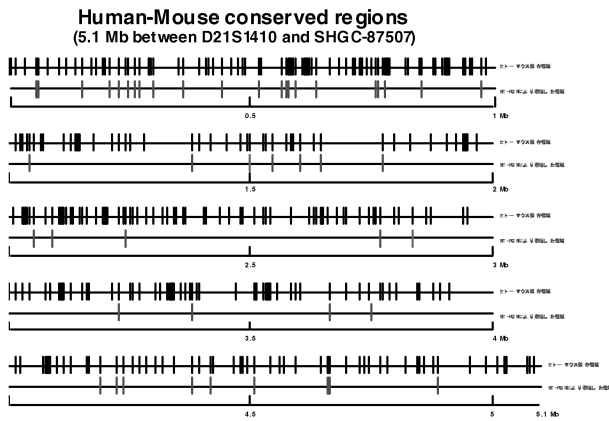


図 2 : 21 番染色体上の遺伝子砂漠 (D21S1410-SHGC-87507) 5.1 Mb 領域とマウス相同領域の間で保存されている領域(黒)と RT-PCR による増幅位置(赤)

〈国内外での成果の位置づけ〉

我々の研究成果に加え、他の研究グループの報告を合わせると21番染色体に存在する遺伝子の数は現在、当初の225個から約300個に達している。我々が同定したKAP遺伝子だけで48個あり、新たに見つかった遺伝子の約60%を占めている。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

当初の計画②) に関しては、まだ目的に到達出来ていない。理由としては、マウスゲノム配列との相同比較により抽出された保存配列が非常に多く存在し、その全て(保存領域間の組み合わせが莫大な数になってしまう)に対してRT-PCRを行えていないからである。

〈今後の課題〉

引き続きマウスゲノム配列との比較を行い、今回行っていない保存領域の抽出を完成させる。また、順次プライマーを設計し、RT-PCRによりそれら保存配列が遺伝子かどうかを判定する。RT-PCRにより増幅がみられた領域についてはさらにRACE法などを駆使して全長構造の決定を目指す。ただし、この方法によって単離される遺伝子は現在ESTデータベース等にも存在しないことが予想されるためRT-PCRによる判定で増幅がみられなかった場合、用いているリソースが組織・時期的に該当していない可能性がある。従って、マウスを用いた新たなリソースの整備も必要になってくると考えられる。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. 403301835
Shibuya, K., Obayashi, I., Asakawa, S., Minoshima, S., Kudoh, J., and Shimizu, N., A cluster of 21 keratin-associated protein genes within introns of another gene on human chromosome 21q22.3, *Genomics*, 83, 679-693 (2004).
2. 403301836
Shibuya, K., Kudoh, J., Obayashi, I., Shimizu, A., Sasaki, T., Minoshima, S., and Shimizu, N., Comparative genomics of the keratin-associated protein (KAP) gene clusters in human, chimpanzee, and baboon, *Mamm. Genome*, 15, 179-192 (2004).